

Original Article

Effects of 10 week continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer

Morteza Ahmadian¹, Kamal Azizbeigi^{2*}, Maryam Delfan³, Sirvan Atashak⁴

¹PhD candidate in Exercise Physiology, Exercise Physiology Department, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

²Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

³Department of Exercise Physiology, Alzahra University, Tehran, Iran

⁴Department of Exercise Physiology, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran

*Corresponding author; E-mail: kazizbeigi@gmail.com

Received: 22 April 2017 Accepted: 6 July 2017 First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):7-13

Abstract

Background: Angiogenesis plays a critical role in tumor growth; on the other hand, regular exercise training plays an important role in tumor growth inhibition in breast cancer patients. Due to the key role of angiotensin-1 and tie2 protein in the angiogenesis of tumor, the aim of the present study was to investigate the effects of continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer.

Methods: Twelve BALB/c mice were cancerous (subcutaneous injection of MC4-L2 to right side), and randomly were assigned into two control without activity (n=6) and continuous endurance training (n=6) groups. Each exercise session consisted of 60 minutes of running at 60-65% VO₂max intensity, which was performed five days a week for 10 weeks. 24 hours after the last training session, mice were killed and tumor tissue was separated, and then angiotensin-1 gene expression was measured by Real-Time PCR method. Also tie2 protein was measured by western blot method.

Results: Continuous endurance training significantly decreased angiotensin-1 gene expression (p=0.001) and protein tie2 (p=0.001) than to control group. Also, tumor size significantly was lesser in the endurance training than control group after 10 week exercise training (p=0.011).

Conclusion: Continuous endurance training in mice with breast cancer can inhibit some of the factors angiogenesis and indirectly have positive impact on the breast cancer inhibition, and this type of training can be used as a method therapeutic for breast cancer.

Keyword: Angiogenesis, Angiotensin-1, Exercise training, Tie2.

How to cite this article: Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan M, Atashak S. [Effects of 10 week continuous endurance training on angiotensin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):7-13. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و پروتئین tie-2 در موش های مبتلا به سرطان پستان

مرتضی احمدیان^۱، کمال عزیزیگی^{۲*}، مریم دلفان^۳، سیروان آتشک^۴

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
^۲ گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
^۳ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
^۴ گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

* نویسنده مسوول: ایمیل: kazizbeigi@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۷-۱۳

چکیده

زمینه: آنژیوژنز نقشی اساسی در رشد تومور دارد، از سوی دیگر انجام تمرینات ورزشی منظم نقش مهمی در مهار رشد تومور در بیماران سرطان پستان دارد. با توجه به نقش کلیدی آنژیوپوئیتین-۱ و پروتئین tie-2 در آنژیوژنز تومور، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و میزان پروتئین tie2 در موش های مبتلا به سرطان پستان بود.

روش کار: ۱۲ سر موش آزمایشگاهی نژاد BALB/C پس از القای سرطان (تزریق MC4-L2 زیر پوستی به پهلوی راست موش ها) به شکل تصادفی در گروه تمرینات تداومی استقامتی ($n=6$) و گروه بدون فعالیت ($n=6$) قرار داده شدند. هر جلسه تمرین شامل ۶۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۶۰ درصد VO_{2max} بود که پنج روز در هفته و به مدت ده هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات کشته شدند و بافت تومور جدا شد. سپس بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ به روش Real-Time PCR و میزان پروتئین tie2 به روش وسترن بلات اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان داد تمرین تداومی استقامتی به طور معنی داری پروتئین tie2 ($p=0/001$) و بیان ژن آنژیوپوئیتین ۱ ($p=0/001$) را نسبت به گروه کنترل کاهش داد. همچنین اندازه تومور در گروه تمرینات تداومی استقامتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کوچکتر بود ($p=0/011$).

نتیجه گیری: در نهایت می توان گفت تمرین تداومی استقامتی در موش های مبتلا به سرطان پستان می تواند برخی از عوامل آنژیوژنز را مهار نماید و به طور غیر مستقیم تاثیر مثبتی بر مهار سرطان پستان داشته باشد و می تواند به عنوان یک روش درمانی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها: آنژیوژنز، آنژیوپوئیتین-۱، تمرین ورزشی، tie-2

نحوه استناد به این مقاله: احمدیان م، عزیزیگی ک، دلفان م، آتشک س. تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و پروتئین tie-2 در موش های مبتلا به سرطان پستان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۷-۱۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

کینازی می باشد دارای اثر آگونیست و فعال کننده می باشند (۱۱). در هر حال سیستم سیگنالینگ آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 برای توسعه عروق و پدیده آنژیوژنز ضروری است هر چند این مسیر طی تحقیقات ورزشی نیز مورد بررسی قرار نگرفته است و با وجود اهمیت این مسیر در پدیده آنژیوژنز خصوصا در موارد پاتولوژیکی مانند سرطان ها هنوز تاثیر تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات تداومی استقامتی بر میزان فعالیت این مسیر مشخص نیست و در صورتیکه بتوان از اثرات اینگونه تمرینات ورزشی در کاهش عوامل موثر بر رشد تومور از جمله پدیده آنژیوژنز نتایج مطلوبی کسب شود می توان از آن حداقل در کاهش سرعت رشد تومورها سود جست. در هر حال با توجه عدم وجود پژوهش در مورد تاثیر ورزش بر آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 به عنوان یک مکانیزم پیش برنده آنژیوژنز، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره تمرین تداومی استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و میزان پروتئین tie2 در موشهای مبتلا به سرطان پستان بود و به این پرسش پاسخ می دهد که آیا تمرینات تداومی استقامتی در موشهای مبتلا به سرطان پستان می تواند فعالیت مسیر آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 را کاهش دهد و همسو با آن موجب کاهش حجم تومور شود یا خیر؟

روش کار
حیوانات

تعداد ۱۲ سر موش ماده BALB/c (۸-۶ هفته، وزن ۲۰-۱۸ گرم) بعد از تهیه از انیستیتو پاستور ایران به حیوانخانه دانشگاه تربیت مدرس انتقال شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد؛ رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. کلیه اصول اخلاقی تحقیق حاضر مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران رعایت گردید.

تزریق سلول و نحوه ایجاد تومور

سلول های MC4L2 در فلاسک T75 در محیط DMEM/F-12 با ۱۵ میلی مول بافر HEPES، گلوتامین، پنی سیلین ۱۰۰ mg/ml، استراپتومایسین ۱۰۰ mg/ml و ۱۰% FBS کشت داده شدند. پس از کشت رده سلولی MC4-L2 در محیط کشت و تهیه سوسپانسیون سلولی، تعداد یک میلیون سلول سوسپانسیون شده در بافر PBS به صورت زیر پوستی به پهلوی راست موش ها تزریق شد تا پس از طی ۱۲-۸ روز تومور پستان پدیدار شود. یک هفته پس از ایجاد تومور، موش ها به شکل تصادفی در دو گروه شش تایی شامل موشهای سرطانی گروه کنترل بدون تمرین (n=۶) و گروه تمرینات تداومی استقامتی (n=۶) قرار داده شدند.

امروزه سرطان پستان یکی از مهم ترین مشکلات بهداشتی- درمانی در میان زنان است که از تکثیر بدخیم و بی رویه سلول های اپیتلیال پوشاننده لوبول های موجود در پستان به وجود می آید (۱) به طوریکه گفته می شود این بیماری تهدید جدی برای سلامتی زنان به شمار می رود. از مهمترین عوامل در ایجاد سرطان پستان می توان سابقه خانوادگی، هورمون درمانی های پیاپی، چاقی و افزایش سن اشاره نمود. از نظر پاتولوژیکی گزارش شده است که توسعه و رشد تومور نیازمند رشد و تکثیر سلول ها می باشد (۲)، این در حالی است که تکثیر و رشد تومورها مستلزم دریافت خون کافی از طریق ایجاد پدیده آنژیوژنز مداوم خواهد بود (۲). آنژیوژنز به ایجاد بستر عروق مویرگی جدید گفته می شود که باعث ازدیاد و تامین خون بافت در حال رشد شده و در نتیجه موجب رشد تومور خواهد شد (۳). با وجود این در سطح ملکولی، آنژیوژنز فرایند چند مرحله ای پیچیده ای است که توسط مسیرهای سیگنالینگ ویژه ای تنظیم می شود و عواملی همچون فاکتور رشد اندوتلیال عروق، خانواده آنژیوپوئیتین ها و فعال شدن آنزیم های متالوپروتئینازها پیش برنده آنژیوژنز هستند که در مقابل عوامل مهار کننده مانند کانستاتین، وازواستاتین و اندواستاتین قرار می گیرند (۴). در هر حال به نظر می رسد بر هم خوردن تعادل میان عوامل مهار کننده و پیش برنده آنژیوژنز یکی از مهم ترین دلایل آنژیوژنز گسترده در سلول های تومور و رشد تومور باشد (۴). عوامل زیادی مانند تمرین ورزشی و فعالیت جسمانی ممکن است بر پدیده آنژیوژنز و نهایتا رشد تومور و پیشرفت سرطانها تاثیر گذار باشند به طوریکه گزارش شده است تمرینات منظم ورزشی با کاهش هورمون های جنسی، کاهش مقاومت انسولین، شاخص های التهابی و همچنین کاهش بافت چربی خطر ابتلا به سرطان را کاهش خواهد داد (۵و۶)، Kazemi و همکاران کاهش بیان STAT3 و پروتئین IL-6 در اثر یک دوره تمرین استقامتی در بافت تومور را گزارش کردند (۷). همچنین گزارش شده است که کاهش سایتوکاین های التهابی مانند اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ ناشی از اثر تمرینات استقامتی بر کاهش حجم تومور موثر است (۸و۹). از طرفی دیگر برخی از پژوهشگران از منظر دیگری تاثیر تمرینات ورزشی را بر رشد تومورها مورد بررسی قرار داده و تعادل عوامل مهار کننده و پیش برنده آنژیوژنز را مورد مطالعه قرار داده اند. با وجود تمامی این پژوهش ها تاکنون مسیر سیگنالینگ آنژیوپوئیتین-۱-Tie2 کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۰). آنژیوپوئیتین-۱ یک فاکتور رشد پروتئین بوده و جزء خانواده آنژیوپوئیتین ها می باشد که باعث افزایش آنژیوژنز و تشکیل عروق جدید می شوند. این خانواده چهار عضو به نام های آنژیوپوئیتین-۱، آنژیوپوئیتین-۲، آنژیوپوئیتین-۳ و آنژیوپوئیتین-۴ دارد به طوریکه آنژیوپوئیتین ۱ و ۴ برای گیرنده Tie2 که یک گیرنده تیروزین

ارزیابی توان هوازی موش ها و پروتکل تمرینات استقامتی

توان هوازی حیوانات بر روی نوارگردان و مطابق پروتکل حاضر ارزیابی گردید. به این صورت ابتدا بعد از پنج دقیقه گرم کردن بر روی نوار گردان با سرعت 0.3 m/s یا $1/8$ متر در دقیقه، سرعت نوارگردان هر سه دقیقه یک بار به میزان $1/8$ متر در دقیقه افزایش می یافت. حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موشها حداقل $1/3$ دقیقه نتوانند با یک سرعت ثابت بدونند یا بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند (۱۲).

پروتکل تمرینات استقامتی

به منظور آشناسازی حیوانات با نوارگردان، بعد از تعیین گروه ها، موش ها به مدت یک هفته با نحوه دویدن بر روی تردمیل آشنا شدند. سپس گروه تمرین استقامتی تداومی به مدت ۱۰ هفته تمرینات استقامتی را انجام دادند. هر جلسه برنامه تمرین استقامتی تداومی شامل ۷۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بود که شامل پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، سپس ۶۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود که نهایتاً در آخر جلسه تمرینی پنج دقیقه برنامه سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی گنجانده شده بود. لازم به توضیح است در طول دوره تمرینات گروه کنترل هیچ گونه برنامه تمرینی ورزشی نداشتند. با وجود این برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان حیوانات گروه کنترل پنج بار در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در هر جلسه بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند. پروتکل تمرینات استقامتی تداومی در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرینات استقامتی تداومی بر روی نوارگردان

دوره تمرین	سرعت (درصد vo_{2max})	مدت تمرین (دقیقه)	جلسه در هفته
گرم کردن	۳۰-۴۰	۵	۵
تمرین اصلی	۶۰-۶۵	۶۰	۵
سرد کردن	۳۰-۴۰	۵	۵

اندازه گیری حجم تومور

هر هفته حجم تومور با استفاده از کالیپر دیجیتال (Thermo Fisher Scientific, CAT NO 14-648-17, USA) در دو بعد اندازه گیری می گردید. بزرگترین بعد تومور به عنوان طول تومور و بعد دیگر (با زاویه ۹۰ درجه) به عنوان عرض تومور در نظر گرفته شده و اندازه گیری می شد. لازم به ذکر است حجم تومور با فرمول $\pi/6 \times \text{طول} \times \text{عرض}$ (فرمول استاندارد برای محاسبه حجم تومور در مدل های موش سرطان پستان) محاسبه می گردید. نتایج بر حسب میلی متر مکعب بیان گردید (۱۳).

هموژنایز بافت تومور

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موشها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین (90 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg) بی هوش شده سپس بافت تومور بلافاصله استخراج و در نیتروژن -80°C درجه سانتیگراد منجمد نگهداری شد. در آزمایشگاه حدود $100-50$ میلیگرم بافت تومور به همراه 700 لاندرایزول در لوله هموژن دستی ریخته شد و بافت هموژن گردید. سپس مایع رویی برای استخراج RNA به لوله جدید منتقل شد. استخراج RNA به وسیله کیت miRNeasy Mini Kit (50°C) و طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. نسبت جذبی $280/260$ نانومتر برای تمامی نمونه های استخراج شده بین $1/8$ تا 2 بود. سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. قبل از سنتز cDNA برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه استخراج شده DNAs treatment انجام شد. برای سنتز cDNA ژن آنژیوپوپیتین-۱ از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit و طبق دستورالعمل کیت مذکور استفاده شد.

Real-Time PCR و کمی سازی میزان بیان آنژیوپوپیتین-۱

Real-Time PCR با استفاده از دستگاه Rotor Gene 6000

(Real-Time PCR) انجام شد. برنامه Real-Time برای بررسی میزان بیان آنژیوپوپیتین-۱ براساس SYBR Green Real-Time (Ampliqon, دانمارک) و شامل یک چرخه با 95°C درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن 40 چرخه با 95°C درجه سانتی گراد برای 15 ثانیه و 60°C درجه سانتی گراد برای 60 ثانیه انجام شد. تغییرات بیان در گروه تداومی استقامتی نسبت به گروه کنترل برای ژن آنژیوپوپیتین-۱ با ژن مرجع GAPDH، با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. همچنین برای سنجش میزان پروتئین Tie-2 از روش وسترن بلات استفاده شد. برای تبدیل تصاویر وسترن بلات به داده های کمی از نرم افزار Image J استفاده شد.

روش های آماری

ابتدا جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (K-S) استفاده گردید. بعد از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده ها، جهت تعیین اختلاف میانگین متغیرهای مورد مطالعه بین دو گروه از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد. تمامی تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. سطح معنی داری، $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

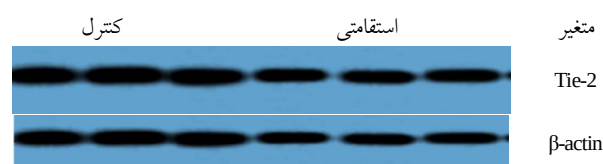
یافته ها

نتایج نشان داد که افزایش حجم تومور (نسبت حجم تومور هفته دهم به هفته اول) در گروه تمرین تداومی استقامتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کمتر بود ($p=0/011$). به طوری که در گروه تمرینات تداومی استقامتی نسبت هفته دهم به اول $10/33$ برابر بود در حالی که این نسبت در گروه کنترل $12/13$ برابر بود؛ به این معنی میزان افزایش در گروه تداومی استقامتی تقریباً 93% بود درحالیکه در گروه کنترل 113% حجم تومور پستان افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو گروه تداومی استقامتی و گروه کنترل در متغیر پروتئین tie2 ($p=0/001$) و همچنین آنژیوپوئیتین ۱ ($p=0/001$) بعد از ۱۰ هفته تمرینات تداومی استقامتی وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر متغیرها در گروه تمرینات استقامتی ممتد و کنترل

گروه	پروتئین Tie-2	آنژیوپوئیتین ۱
استقامتی	$0/87 \pm 0/17$	$0/43 \pm 0/22$
کنترل	$1/02 \pm 0/02$	۱
P	0/001	0/001

$P \leq 0.05$ سطح معنی داری حاصل از تحلیل آزمون تی مستقل



شکل ۱: الکتروفورز ژن های tie2 و β -actin در گروه تمرینات تداومی استقامتی و کنترل

بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر ده هفته تمرین تداومی استقامتی بر تغییرات بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و میزان پروتئین tie2 به عنوان عوامل درگیر در آنژیوژنز در موشهای مبتلا به سرطان پستان بود. نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل که هیچگونه فعالیت بدنی نداشتند میزان پروتئین tie2 در گروه تمرین تداومی استقامتی به طور معنی داری کاهش یافت. این بدین معنی است تمرینات تداومی استقامتی توانسته است میزان پروتئین گیرنده tie2 را کاهش دهد و در نهایت موجب کاهش آنژیوژنز از طریق سیستم آنژیوپوئیتین-۱ - tie2 شود که خود از نظر بالینی حائز اهمیت است. رسپتور تیروزین کینازی Tie2 در سلولهای اندوتلیال و برخی از سلولهای خون ساز در طی رشد بیان می گردد (۱۴). این رسپتور برای آنژیوژنز نرمال ضروری است. این رسپتور با سه لیگاند متفاوت اتصال می یابد که با جایگاههای یکسانی بر این رسپتور بر هم کنش می کنند. آنژیوپوئیتین-۱ به عنوان لیگاند محرک باعث فسفریلاسیون رسپتور شده و تشکیل مویرگها را القا و از طریق کنش با سلولهای اندوتلیال و سلولهای پشתיبان آنها را

پایدار می کند. این لیگاند توسط سلولهای فیبروبلاستی و سلولهای حمایت کننده عروق همچنین توسط سلولهای سرطانی بیان می - شود (۱۴و۱۵). درهرحال با آنکه آنژیوژنز یک پدیده کاملاً پیچیده است در بسیاری از سلولها رخ داده و دارای مسیرهای سیگنالینگ پیچیده است همچنین عوامل بسیاری مانند فاکتورهای رشد و گیرنده های آنها در آنژیوژنز نقش دارند (۱۶) و با وجود تحقیقات نسبتاً گسترده در زمینه تاثیر ورزش و فعالیت بدنی بر بسیاری از عوامل پیش برنده آنژیوژنز و مهار کننده آنژیوژنز، مسیرسیستم آنژیوپوئیتین-۱ - tie2 مورد مطالعه قرار نگرفته است. به طور مثال Kordi و همکاران در بررسی تاثیر تمرین هوازی و ایتروال شدید بر بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی در عضله نعلی رت های نر سالم گزارش دادند که هشت هفته تمرینات هوازی و ایتروال شدید به صورت ۵ روز در هفته می تواند بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروق را افزایش دهد (۱۷). هر چند گزارش شده است که تغییرات فاکتور رشد اندوتلیال عروق عامل محدود کننده آنژیوژنز می باشد (۱۸). با وجود این گزارش شده است که آنژیوپوئیتینها از جمله آنژیوپوئیتین-۱ اثرات فیزیولوژیکی فاکتور رشد اندوتلیال عروق را تعدیل می کنند (۱۹و۱۶). پس در صورتی که پذیریم فاکتور رشد اندوتلیال عروق تحت تاثیر آنژیوپوئیتین-۱ تعدیل می شود نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Kordi و همکاران متناقض خواهد بود. به نظر می رسد شرایط موجود موجب این اختلافات شده باشد چرا که در تحقیق حاضر آنژیوژنز در شرایط پاتولوژیکی مهار شد و این می تواند در جهت بهبود شرایط باشد در حالیکه در تحقیق مذکور آنژیوژنز فیزیولوژیک بوده و در جهت سازگاری در تامین اکسیژن و مواد غذایی برای عضلات فعال می باشد (۲۰).

در پژوهش حاضر مشاهده شد آنژیوپوئیتین-۱ تحت تاثیر تمرینات تداومی استقامتی قرار گرفت و به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. آنژیوپوئیتین -۱ به عنوان یک لیگاند برای گیرنده tie2 عمل می کند. باید اذعان کرد که تحقیقات در زمینه تغییرات بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ و همچنین پروتئین آن در نمونه های توموری و مبتلا به سرطان در شرایط پاتولوژیکی نسبت تمرینات ورزشی بسیار محدود بوده و تفسیر نتایج را در این زمینه مشکل می سازد. در هر حال مخالف داده های تحقیق حاضر Gustafsson و همکاران در بررسی تاثیر فعالیت بر سیستم آنژیوپوئیتین و فاکتور رشد اندوتلیال عروق گزارش دادند که پنج هفته تمرین به صورت چهار جلسه در هفته موجب افزایش بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ گردید (۲۱). با وجود این برخی از گزارشات بیان کرده اند که هرچند سیستم آنژیوپوئیتین-۱ - tie2 یک عامل پیشبرنده در وضعیت فیزیولوژیک می باشد با وجود این ممکن است در شرایط پاتولوژیک آنژیوپوئیتین-۱ عامل آنژیوژنز نباشد و حتی ممکن است به عنوان یک عامل مهار کننده عمل نماید.

مقایسه با گروه کنترل بدون فعالیت می توان گفت که تمرینات تداومی استقامتی در موشهای مبتلا به سرطان پستان می تواند موجب کاهش بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و غلظت tie2 گردد و کاهش فعالیت این سیستم نهایتاً آنژیوژنز را مهار کرده و به طور غیر مستقیم تأثیر مثبتی بر روند تغییرات تومور پستان خواهد داشت. می تواند به عنوان یک روش درمانی از این نوع تمرینات حداقل برای کاهش پیشرفت تومور پستان استفاده نمود.

قدرانی

بدینوسیله از مسئول محترم و همچنین همکاران گرامی بخش آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تربیت مدرس که زمینه انجام پژوهش حاضر را فراهم کردند تشکر و قدرانی می شود.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر شامل ملاحظات اخلاقی نمی شود.

منافع متقابل

مولفین هیچگونه منافع متقابلی از انتشار مقاله حاضر ندارند.

منابع مالی

کلیه هزینه های انجام پژوهش حاضر توسط محققین تامین شده است.

مشارکت مولفان

احمدیان م طراحی تحقیق و انجام پروتکل تمرینات ورزشی، عزیزبگی ک طراحی تحقیق و نگارش و تدوین مقاله، دلفان م طراحی تحقیق، ویرایش مقاله، انجام آنالیزهای بیوشیمیایی، آتشک س تحلیل های آماری و بررسی متون را بر عهده داشته اند. همچنین تمامی نویسندگان نسخه نهائی مقاله ارسالی به مجله را مطالعه و تایید کرده اند.

(۲۲). این مساله نشان می دهد که فرایندهای آنژیوژنز در شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیک کاملاً دارای مکانیزمهای متفاوت می باشند (۲۲). در همین راستا و در تناقض با نتایج تحقیق حاضر، Zheng و همکاران در بررسی تأثیر تمرینات هوازی بر میزان ریکاوری در موش های مبتلا به آسیب ناشی از ایسکمی مغزی گزارش دادند که دو هفته تمرینات هوازی به صورت ۳۰ دقیقه در روز و با شدت ۱۲ متر در دقیقه موجب افزایش بیان ژن آنژیوپوئین-۱ و tie2 گردید و این مکانیزم توانست سرعت ریکاوری را بهبود بخشد. به نظر می رسد مکانیزم اثر ورزش بر سیستم آنژیوپوئین-۱ - tie2 وابسته به نوع بافت و وضعیت سلامتی و پاتولوژیک متفاوت است و این تناقضات ناشی از همین مساله باشد (۲۳). در هر حال برای حصول اطمینان در مورد تأثیرات مثبت تمرینات تداومی استقامتی بر کاهش فرایند آنژیوژنز لازم است اشاره شود که کاهش حجم تومور در گروه تمرین تداومی استقامتی به دنبال تمرینات نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد به طوریکه مشاهده شد میزان رشد و تومور در هفته دهم نسبت به هفته اول در گروه تجربی به طورمعنی داری در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود به طوری که در گروه تمرینات تداومی استقامتی نسبت هفته دهم به اول ۱۰/۳۳ برابر بود در حالی که این نسبت در گروه کنترل ۱۲/۱۳ برابر بود، این مساله نشان می دهد که سازو کارهایی مانند کاهش خون رسانی (مهار آنژیوژنز) به سلولهای توموری ممکن است در این امر دخیل باشند. با وجود این لازم به یادآوری است که عوامل مهاري و پیش برنده آنژیوژنز زیاد بوده و فاکتورهای بیوشیمیایی زیادی ممکن است در این امر دخیل باشند و با این قطعیت نمی توان اختلاف حجم تومورها را صرفاً ناشی از دو متغیر تحقیق حاضر دانست و بهتر بود فاکتورهای بیوشیمیایی دیگری نیز مورد سنجش قرار می گرفت. بر همین اساس توصیه می شود که فاکتورهای بیوشیمیایی دیگر در کنار متغیرهای تحقیق حاضر با حجم نمونه های بیشتری مورد مطالعه قرار گیرد تا نتایج و همچنین مکانیزمهای درگیر در کاهش حجم تومور و پدیده آنژیوژنز شفاف تر مشخص و تفسیر گردد.

نتیجه گیری

در یک نتیجه گیری کلی و با توجه به رشد و توسعه کمتر تومور پستان در موش های گروه تمرینات تداومی استقامتی در

References

- McPherson K, Steel C M. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000; **321**(7261): 624-628. doi: 10.1136/bmj.321.7261.624.
- Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; **100**(1): 57-70. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- Thompson H J, Jiang W, Zhu Z. Candidate mechanisms accounting for effects of physical activity on breast carcinogenesis. *IUBMB Life* 2009; **61**(9): 895-901. doi: 10.1002/iub.233.
- Mentzer S J, Konerding M A. Intussusceptive Angiogenesis: expansion and remodeling of

- microvascular networks. *Angiogenesis* 2014; **17**(3): 499-509. doi: 10.1007/s10456-014-9428-3.
5. Xi Y, Ma W H, Tian Z J. Research advance on angiogenesis in ischemic heart induced by aerobic exercise and stem cell mobilization. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* 2014; **45**(5): 343-348. doi: 10.3724/sp.j.1206.2009.00727.
 6. Murphy E A, Davis J M, Barrilleaux T, McClellan J, Steiner J, Carmichael M. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3 (1) SV40Tag mice. *Cytokine* 2011; **55**(2): 274-279. doi: 10.1016/j.cyto.2011.04.007.
 7. Kazemi A, Agha-Alinejad H, Alizadeh Sh, Shahbazi Sh, Amani-Shalamzari S. The Effect of Endurance Training on MiR-155 Expression, STAT3 Gene Expression, and Interleukin 6 Protein in Mice with Breast Cancer. *J Kerman Univ Med Sci* 2015; **22**(1): 53-62.
 8. Anoosheh L, Kordi M R, Gaeini A, Mahdian R, Mirakhori Z, Amani Shalamzari S, et al. The effects of aerobic training on microRNA let-7a expression and levels of tumor tissue IL-6 in mice with breast cancer. *Iran J Breast Dis* 2014; **7**(3): 12-19.
 9. Agha-Alinejad H, Haftchenari S, Matin Homaei H. Effect of a Period of Endurance Training on Serum IL-8 Concentration and Tumor Volume in Breast Cancer Bearing Mice. *Iran J Endocrinol Metab* 2014; **16**(1): 26-32.
 10. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become antigenic. *Adv Cancer Res* 1996; **69**: 74-135. doi: 10.30699/acadpub.ijbd.11.3.32
 11. Staton C A, Hoh L, Baldwin A, Shaw L, Globe J, Cross S S, et al. Angiopoietins 1 and 2 and Tie-2 receptor expression in human ductal breast disease. *Histopathology* 2011; **59**: 256-263.
 12. Leandro C G, Levada A C, Hirabara S M, Manhañes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; **21**(3): 751-756. doi: 10.1519/r-20155.1
 13. Jones L W, Viglianti B L, Tashjian J A, Kothadia S M, Keir S T, Freedland S J, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *J Appl Physiol* 2010; **108**(2): 343-348. doi: 10.1152/jappphysiol.00424.2009.
 14. Plate K, Scholz S, Dumont D. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited. *Acta Neuropathology* 2012; **124**: 763-775. doi: 10.1007/s00401-012-1066-5.
 15. Cascone T V, Heymach J. Targeting the Angiopoietin/Tie2 Pathway: Cutting Tumor Vessels with a Double-Edged Sword. *J Clin Oncol* 2012; **30**(4): 441-444. doi: 10.1200/jco.2011.38.7621
 16. Olsson A K, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signaling-in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; **7**: 359-371.
 17. Kordi M R, Nekouei A, Shafiee A, Hadidi V. The Effect of Eight Weeks High Intensity Aerobic Continuous and Interval Training on Gene Expression of Vascular Endothelial Growth Factor In Soleus Muscle of Healthy Male Rats. *AMUJ* 2015; **18**(101): 53-62.
 18. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; **9**: 653-660. doi: 10.1038/nm0603-653.
 19. Lobov I B, Brooks P C, Lang R A. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 11205-11210. doi: 10.1073/pnas.172161899.
 20. Bloor C M. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005; **8**(3): 263-271. doi: 10.1007/s10456-005-9013-x.
 21. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg C J. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; **103**(3): 1012-1020. doi: 10.1152/jappphysiol.01103.2006.
 22. Hayes A J, Huang W Q, Yu J, Maisonnier P C, Liu A, Kern F G, et al. Expression and function of angiopoietin-1 in breast cancer. *Br J Cancer* 2000; **83**(9): 1154-1160. doi: 10.1054/bjoc.2000.1437.
 23. Zheng Q, Zhu D, Bai Y, Wu Y, Jia J, Hu Y. Exercise improves recovery after ischemic brain injury by inducing the expression of angiopoietin-1 and Tie-2 in rats. *Tohoku J Exp Med* 2011; **224**(3): 221-228. doi: 10.1620/tjem.224.221.

Original Article

The effect of eight -week aerobic exercise and consumption of curcumin on TNF- α and medium-term memory in 60-65 years old women with syndrome metabolic

Ali Osali 

Department of Exercise Physiology, Physical Education and Sport Sciences, University of Bonab, Bonab, Iran

*Corresponding author; E-mail: osalialiphd@gmail.com

Received: 31 December 2016 Accepted: 9 March 2017 First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):14-20

Abstract

Background: The aim of this research was to investigate the effect of eight-week aerobic exercise with moderate intensity and consumption of curcumin on TNF- α and Medium-term memory in 60-65 years old women with syndrome metabolic.

Methods: 44 women with metabolic syndrome (MetS) voluntarily took part in the present study. Participants were randomly divided in 4 groups of MetS exercise+ Curcumin (MECU), MetS exercise (ME), MetS Curcumin (MCU), MetS control (MC). During the first week MECU group and ME participated in three sets of ten-minute aerobic exercise training with treadmill (AT) also they have 5 minute rest part between the sets. One minute was added to the duration of exercise sets weekly basis. Blood samples and memory test were conducted before and after eight -week. TNF- α level was measured by ELISA method and memory test were conduct with Picture recall test. To analyze the data, researcher made use of One-Way ANOVA, paired-sample t-test with the significance level of ($P \leq 0.05$).

Results: After eight -week interventions TNF- α significantly decreased ($P \leq 0.05$). Also Medium-term memory significantly increased ($P \leq 0.05$).

Conclusion: These findings indicate eight -week interventions induce to increase Medium-term memory and maybe this increasing relative to decreasing in TNF- α level and ameliorate in metabolic syndromes factors.

Keyword: Aerobic exercise, TNF- α , Medium-term memory, Metabolic syndrome, Curcumin.

How to cite this article: Osali A. [The effect of eight -week aerobic exercise and consumption of curcumin on tnf- α and medium-term memory in 60-65 years old women with syndrome metabolic]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):14-20. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر سطوح $TNF-\alpha$ و حافظه‌ی میان‌مدت زنان ۶۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیکعلی اوصالی^{id}گروه فیزیولوژی ورزشی، تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بناب، بناب، ایران
*نویسنده مسئول: ایمیل osalialiphd@gmail.comدریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۱ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۴-۲۰

چکیده

زمینه: افزایش سن، عوامل التهابی و سندرم متابولیک از عوامل موثر در کاهش عملکرد شناختی می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثرگذاری ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط و مصرف کورکومین بر سطوح $TNF-\alpha$ و حافظه میان‌مدت زنان ۶۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیک می‌باشد.

روش کار: ۴۴ زن مبتلا به سندرم متابولیک به طور داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. آزمودنی‌ها به طور تصادفی به گروه مکمل+تمرین، تمرین، مکمل و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرین+مکمل و گروه تمرین، هفته اول سه ست ۱۰ دقیقه‌ای با فواصل استراحت پنج دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای تمرینات خود را توسط تردمیل انجام دادند. با سپری شدن هر هفته، یک دقیقه به مدت زمان ست‌های تمرین افزوده می‌شد. در دو مرحله از آزمودنی‌ها خونگیری و تست حافظه انجام شد. سطوح $TNF-\alpha$ به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت و میزان حافظه‌ی میان‌مدت توسط آزمون یادداری تصویری مشخص شد. برای تجزیه تحلیل داده‌ها از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه، تی جفتی استفاده گردید سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: حافظه میان‌مدت پس از هشت هفته تمرین هوازی در سه گروه تجربی نسبت به پیش آزمون بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$) همچنین کاهش معنی‌داری در $TNF-\alpha$ هر سه گروه تجربی مشاهده گردید ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: در اثر هشت هفته اعمال مداخله حافظه میان‌مدت افزایش یافت این تغییرات به احتمال در ارتباط با کاهش $TNF-\alpha$ و بهبودی سندرم متابولیک می‌باشد.

کلید واژه‌ها: تمرین هوازی، $TNF-\alpha$ ، کورکومین، حافظه میان‌مدت، سندرم متابولیک.

نحوه استناد به این مقاله: اوصالی ع. تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر سطوح $TNF-\alpha$ و حافظه‌ی میان‌مدت زنان ۶۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیک. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۴-۲۰

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد

مقدمه

عملکرد شناختی با افزایش سن کاهش می‌یابد. از دلایل این کاهش افزایش عوامل التهابی و کاهش بیان BDNF, Brain-derived neurotrophic factor را می‌توان نام برد. افزایش سن همراه با التهاب خفیف می‌باشد. سندرم متابولیک در افراد پیر و مسن مقدار و شدت این التهاب را بیشتر می‌نماید (۱). با افزایش التهاب میزان بیان BDNF کاهش و تخریب سلول‌های نرونی افزایش می‌یابد (۲-۴). BDNF عامل نروتروفیکی است که موجب افزایش نروژنز و نروپلاستیسیته می‌گردد که این دو عامل موثر در عملکرد شناختی می‌باشد (۲,۴). لازم بذکر است که عوامل التهابی و BDNF قابلیت عبور از سد خونی و مغزی را دارند (۵). ورزش از مواردی است که موجب کاهش التهاب، افزایش BDNF و بهبودی سندرم متابولیک می‌گردد (۱,۶). همچنین مصرف زردچوبه (کورکومین) نیز موجب کاهش عوامل التهابی و قند خون می‌گردد (۷). سطوح گلوکز خون در ارتباط با سطوح BDNF می‌باشد. کاهش گلوکز خون موجب افزایش بیان BDNF می‌شود (۸,۹). لذا با کاهش عوامل التهابی بیان NF- κ B, Nuclear factor- κ B کاهش می‌یابد که با کاهش بیان NF- κ B بیان BDNF افزایش می‌یابد (۱۰). مطالب فوق الذکر نشان از تاثیر انجام فعالیت بدنی و مصرف کورکومین بر عملکرد شناختی می‌باشد که در این خصوص می‌بایست تحقیقات بسیاری انجام گیرد چرا که شدت، مدت و نوع تمرین و همچنین مقدار مصرف کورکومین هنوز جهت کاهش عوامل التهابی و بهبود حافظه مشخص نشده است. این موضوع از این نظر اهمیت دارد که تا کنون در هیچ تحقیقی به تاثیر همزمان انجام تمرین ورزشی و مصرف کورکومین در کاهش عوامل التهابی و حافظه‌ی میان مدت پرداخته نشده است. تصور بر این است اعمال همزمان این دو، موجب بهبودی چشمگیر عملکرد شناختی زنان مسن مبتلا به سندرم متابولیک شود. بطور مثال Babaei و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود به تاثیر انجام شش هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای بر حافظه‌ی میان‌مدت و کوتاه مدت مردان میان سال مبتلا به سندرم متابولیک پرداختند نتایج حاکی از عدم تاثیر تمرین ورزشی بر عملکرد شناختی بود لازم بذکر است پروتکل تمرین Babaei و همکاران با پروتکل تمرین تحقیق حاضر به غیر از شدت و مدت تمرین یکسان می‌باشد (۱۱). Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیق خود به تاثیر انجام هشت هفته تمرین مقاومتی بر سطوح BDNF و حافظه‌ی زنان میان سال مبتلا به سندرم متابولیک پرداختند؛ نتایج نشان از عدم تاثیر تمرینات مقاومتی بر حافظه‌ی زنان میان سال مبتلا به سندرم متابولیک می‌باشد (۱۲). همچنین Osali و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقات خود به تاثیر انجام سه ماه و شش ماه تمرین هوازی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای بر عملکرد شناختی زنان ۵۰-۶۵ ساله‌ی

مبتلا به سندرم متابولیک پرداختند؛ در این تحقیق افزایش عملکرد شناختی معنی‌دار بود. همچنین روش تمرین آن‌ها بغیر از شدت و مدت تمرین با تحقیق حاضر یکسان می‌باشد (۶,۱۳). در تحقیق دیگر Lim و همکاران (۲۰۰۱) تاثیر مصرف کورکومین بر کاهش عوامل التهابی را مورد بررسی قرار دادند (۱۴). در تحقیق حاضر در نظر داریم تاثیر مصرف ۸ هفته کورکومین و تمرین ورزشی با شدت ۶۵-۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای را بر حافظه‌ی میان-مدت و TNF- α , Tumour Necrosis Factor alpha (زنان) ۶۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیک را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

روش بررسی نیمه تجربی، از نوع بررسی‌های کاربردی می‌باشد که طرح پژوهشی شامل پیش آزمون و پس آزمون با یک گروه شاهد و سه گروه تجربی بود. جامعه آماری پژوهش حاضر ۲۷۷ نفر همسر شهید ۶۰ تا ۶۵ ساله‌ی شهرستان زنجان بود. نمونه‌گیری به صورت هدفمند می‌باشد. پس از پخش آگهی در اداره کل بنیاد شهید و امور ایثارگران استان زنجان و ارسال دعوت‌نامه به جامعه آماری، در آغاز تحقیق ۷۰ نفر به صورت داوطلبانه برای اخذ مجوز حضور در فعالیت جسمانی مد نظر پژوهش حاضر شدند. آزمودنی‌ها توسط پزشک از لحاظ سوابق بیماری و ناراحتی‌های جسمانی، مشکلات روانشناختی، خواب و فشارخون معاینه شدند و در صورت نیاز از برخی از آنها تست سلامت قلب به عمل آمد. هیچ یک از آزمودنی‌ها در طی یک سال گذشته، سابقه شرکت در فعالیت بدنی منظم نداشتند. لازم به ذکر است که در این تحقیق از ملاک ATPIII (Adult treatment panel iii) برای شناسایی شاخص‌های خطر متابولیک استفاده شد. افراد داوطلب در صورت دارا بودن سه و یا بیش از سه شاخص خطر متابولیک بر اساس ملاک ATPIII، به عنوان آزمودنی دارای سندرم متابولیک لحاظ شدند. شاخص‌های خطر عبارتند از: دور کمر بیش از ۹۴ سانتی‌متر، تری‌گلیسرید خون بیش از ۱۵۰ میلی‌گرم بر دسی-لیتر، HDL خون کمتر از ۴۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، فشار خون بیش از ۱۳۰/۸۵ میلی‌متر جیوه و گلوکز خون ناشتای بالاتر از ۱۱۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر. در پایان ۴۴ نفر از آن‌ها دارای عارضه‌ی متابولیکی بودند. آزمودنی‌ها به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه کورکومین و تمرین ۱۲ نفر، گروه تمرین ۱۲ نفر، گروه کورکومین ۱۱ و گروه کنترل ۱۱ نفر بودند. آزمودنی‌ها مجاز بودند تمرینات خود را ساعت ۹ تا ۱۲ صبح توسط تردمیل انجام دهند. طول دوره تمرین هشت هفته بود. آزمودنی‌های گروه کورکومین + تمرین و گروه تمرین هر هفته ۳ روز به تمرین می‌پرداختند. هر جلسه، تمرینات در قالب سه ست متوالی با فاصله

مطالعه مقدماتی بر روی ۱۳ نفر آزمودنی میانسال توسط Babaei و همکاران انجام شد و ضریب همبستگی درونی (ICC, interclass coefficient correlation) برای آزمون یادداری تصویری برابر $r=0/83$ محاسبه شد. در این آزمون، ۱۲ تصویر (هر کدام ۱۰ ثانیه) به آزمودنی‌ها نمایش داده می‌شود و بعد از ۳۰ دقیقه، آزمودنی‌ها لیستی از تصاویر مشاهده شده را در یک برگه با ترتیب دلخواه می‌نویسند. هر تصویر در اسلایدهای با اندازه ۲۵ در ۳۰ سانتی‌متر و حاوی نام شکل در بالای آن با فونت B Nazanin 20 پررنگ از فاصله یک متری به آزمودنی‌ها نمایش داده شد. لازم بذکر است در این تست از نسخه‌های متفاوت آزمون برای آزمودنی‌های مختلف استفاده شد (۱۱). درصد چربی بدن آزمودنی‌ها توسط دستگاه بادی کامپوزیشن مدل BF500 OMRON ساخت کشور آلمان محاسبه گردید. آزمودنی‌ها قبل از شروع پروتکل تمرینی (ابتدا، اواسط و انتهای هفته) مواد غذایی مصرفی روزانه را در برگه یادداشت ثبت نمودند و سپس کالری مواد غذایی مصرف شده در صبحانه، میان وعده‌ها، نهار و شام توسط نرم افزار N4 محاسبه گردید (۱۶). برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروهی از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و برای مقایسه درون گروهی از آزمون آماری تی جفتی استفاده گردید. سطح معنی‌داری ($P \leq 0/05$) در نظر گرفته شد. لازم بذکر است برای مقایسه بین گروهی ابتدا اختلاف پیش آزمون و پس آزمون را محاسبه کردیم و سپس توسط آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند و در صورت معنی‌داری نیز از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج مقایسه درون گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن، درصد چربی بدن، $TNF-\alpha$ در (جدول ۱) قابل مشاهده می‌باشد. در جدول ۱ به نتایج مقایسه درون گروهی مقادیر شاخص سندرم متابولیک، وزن، درصد چربی بدن، $TNF-\alpha$ و حافظه‌ی میان مدت اشاره شده است. نتایج آزمون آماری تی جفتی نشان داد که اعمال مداخله در هر سه گروه تجربی منجر به کاهش معنی‌دار فشارخون، تری‌گلیسرید، سایز دور کمر، BMI، وزن، درصد چربی بدن، $TNF-\alpha$ و افزایش معنی‌دار حافظه‌ی میان مدت می‌شود؛ البته مقدار کاهش فشارخون در گروهی که فقط کورکومین مصرف نموده بود معنی‌دار نبود (جدول ۱).

در مقایسه بین گروهی میزان کاهش فشارخون، دور کمر، تری‌گلیسرید، BMI، وزن، درصد چربی بدن و $TNF-\alpha$ همچنین میزان افزایش حافظه‌ی میان مدت گروه تمرین+مکمل نسبت به گروه تمرین و مکمل بیشتر می‌باشد و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳).

استراحت ۵ دقیقه در بین ست‌ها انجام می‌شد. زمان ست‌های تمرینی در هفته اول، ۱۰ دقیقه بود و با سپری شدن هر هفته، یک دقیقه به مدت زماست‌های تمرین افزوده می‌شد، به طوری که در هفته هشتم تمرین به سه ست ۱۷ دقیقه‌ای رسید. تمرین با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای انجام می‌گرفت. لازم به ذکر است که ضربان قلب استراحتی، هر هفته چک می‌شد و شدت برنامه تمرین از روی آن با استفاده از دستگاه ضربان سنج پلار (Polar: Finland) تنظیم می‌شد. کل جلسات تمرین با ۵ دقیقه گرم کردن (نرمش و تمرینات کششی) آغاز می‌شد و در پایان نیز ۵ دقیقه سرد کردن وجود داشت. گروه کنترل در این مدت هشت هفته‌ای، از انجام فعالیت بدنی غیرمعمول منظم اجتناب کردند. ضربان قلب ذخیره از طریق فرمول کاروونن محاسبه گردید (۱۱).

ضربان قلب استراحت + [(۶۵ تا ۷۵)٪ * (ضربان قلب استراحت - حداکثر

ضربان قلب)] = ۶۵ تا ۷۵٪ ضربان قلب ذخیره‌ای

ضربان قلب زمان بیدار شدن از خواب و قبل از برخاستن از رختخواب به حالت دراز کشیده = ضربان قلب استراحت

مصرف مکمل کورکومین روزانه ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود. لازم بذکر است مکمل همراه با وعده‌های اصلی غذایی دریافت می‌شد. آزمودنی‌ها مجاز بودند مکمل خود را یا به صورت محلول قبل از وعده‌های اصلی و یا به هنگام پخت غذا به غذا اضافه نموده و مصرف نمایند (۱۵). از تمام آزمودنی‌ها در دو مرحله شامل پیش آزمون و پس آزمون (بعد از هشت هفته)، خون-گیری به صورت ناشتا در ساعت ۹ صبح (برای اندازه‌گیری سطوح پلاسمایی $TNF-\alpha$ و سطوح سرمی گلوکز، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین پرچگال) به عمل آمد. البته لازم به ذکر می‌باشد جهت حذف تاثیرات حاد ورزش از جمله کوفتگی تاخیری و آسیب‌های احتمالی کوچک در ساختار عضله بر سطوح پلاسمایی $TNF-\alpha$ ، خونگیری در مرحله پس آزمون چهار روز پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی انجام شد (۶). در هر بار خون‌گیری، بخشی از نمونه‌های خونی (۲ سی‌سی) سیاهرگ بازویی در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شدند و پس از سانتریفوژ (۱۲ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و جداسازی پلاسما سطوح پلاسمایی $TNF-\alpha$ به روش الایزا توسط کیت ویژه سنجش مقدار $TNF-\alpha$ (eBioscience, Vienna, Austria) با حساسیت $0/13 \text{ pg/ml}$ اندازه‌گیری شد. مقدار گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز و سطوح چربی به روش آنزیماتیک استاندارد (کیت پارس آزمون، کرج، ایران) با استفاده از دستگاه اتوانالایزر بیوشیمی مدل کوباس میرا اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات این کیت در هر سنجش و بین سنجش‌های مختلف (inter-assay variation) به ترتیب برای تری‌گلیسرید برابر با $1/82\%$ و $1/6\%$ ، برای قند خون برابر با $1/74\%$ و $1/19\%$ و برای HDL برابر با $2/15\%$ و $1/28\%$ بود (۱). اندازه-گیری عملکرد حافظه‌ی میان مدت با استفاده از آزمون یادداری تصویری (Picture recall test) انجام شد. پایایی این آزمون در یک

جدول ۱: مقایسه درون گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن و درصد چربی بدن، TNF- α و حافظه‌ی میان‌مدت

متغیر	زمان	تمرین + مکمل	sig	تمرین	sig	مکمل	sig	کنترل	sig
فشارخون (mmHg)	پیش‌آزمون	۱۴۲/۸۳ ± ۱۲/۸۸	۰/۰۰	۱۴۲/۴۱ ± ۱۵/۵۲	۰/۰۰	۱۴۵/۷۰ ± ۱۲/۶۵	۰/۲۱	۱۴۹/۹۰ ± ۱۶/۴۹	۰/۳۸
دور کمر (cm)	۸ هفته بعد	۱۲۳/۵۰ ± ۳/۷۲	۰/۰۰	۱۳۲/۲۵ ± ۷/۰۷	۰/۰۰	۱۴۴/۰۰ ± ۱۲/۰۰	۰/۰۰	۱۵۱/۵۰ ± ۱۲/۹۱	۰/۳۸
گلوکز (mg/dl)	پیش‌آزمون	۱۰۴/۶۶ ± ۷/۱۳	۰/۰۰	۱۰۴/۵۸ ± ۶/۲۸	۰/۰۰	۱۰۵/۱۰ ± ۷/۶۳	۰/۰۳	۱۰۵/۵۰ ± ۷/۶۴	۰/۸۲
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۸ هفته بعد	۹۶/۰۸ ± ۵/۳۵	۰/۰۰	۱۰۱/۰۸ ± ۵/۶۱	۰/۰۰	۱۰۳/۹۰ ± ۶/۸۷	۰/۰۰	۱۰۵/۸۳ ± ۷/۲۴	۰/۸۲
HDL (mg/dl)	پیش‌آزمون	۱۴۵/۸۳ ± ۵۷/۵۹	۰/۰۱	۱۵۳/۰۰ ± ۵۵/۸۹	۰/۰۱	۱۷۴/۶۰ ± ۵۵/۶۱	۰/۰۱	۱۷۶/۹۰ ± ۵۲/۸۷	۰/۰۸
BMI (kg/m ²)	۸ هفته بعد	۱۰۴/۵۸ ± ۹/۰۱	۰/۰۱	۱۳۵/۸۳ ± ۵۴/۹۲	۰/۰۱	۱۴۲/۹۰ ± ۳۱/۰۸	۰/۰۱	۱۷۸/۸۰ ± ۵۴/۰۵	۰/۰۸
وزن (Kg)	پیش‌آزمون	۲۲۳/۲۵ ± ۶۶/۸۵	۰/۰۰	۲۱۲/۰۸ ± ۷۶/۹۴	۰/۰۰	۲۱۰/۲۵ ± ۵۵/۴۱	۰/۰۰	۱۹۸/۶۰ ± ۵۶/۹۶	۰/۴۵
درصد چربی بدن	۸ هفته بعد	۱۵۶/۸۳ ± ۴۲/۴۸	۰/۰۰	۱۹۹/۰۸ ± ۷۱/۰۱	۰/۰۰	۱۷۷/۹۰ ± ۳۵/۲۷	۰/۰۰	۱۹۴/۴۰ ± ۵۰/۳۱	۰/۴۵
TNF- α (pg/mL)	پیش‌آزمون	۴۷/۵۰ ± ۷/۸۵	۰/۰۰	۴۶/۵۸ ± ۷/۳۶	۰/۰۰	۴۶/۰۰ ± ۳/۹۱	۰/۰۰	۴۴/۱۰ ± ۳/۸۴	۰/۱۲
حافظه‌ی میان‌مدت	۸ هفته بعد	۶۱/۱۶ ± ۱۱/۸۴	۰/۰۰	۵۳/۶۶ ± ۶/۹۷	۰/۰۰	۵۳/۰۰ ± ۳/۹۷	۰/۰۰	۴۲/۹۰ ± ۳/۱۰	۰/۱۲
	پیش‌آزمون	۳۱/۰۷ ± ۲/۷۵	۰/۰۰	۳۰/۸۱ ± ۲/۱۰	۰/۰۰	۲۹/۲۷ ± ۱/۶۷	۰/۰۰	۲۹/۳۱ ± ۱/۴۹	۰/۱۲
	۸ هفته بعد	۲۸/۸۸ ± ۲/۵۱	۰/۰۰	۲۹/۸۷ ± ۲/۰۶	۰/۰۰	۲۸/۶۳ ± ۱/۶۳	۰/۰۰	۲۹/۴۱ ± ۱/۵۳	۰/۱۲
	پیش‌آزمون	۷۴/۸۶ ± ۵/۳۵	۰/۰۰	۷۴/۲۶ ± ۵/۸۸	۰/۰۰	۷۴/۰۲ ± ۶/۸۴	۰/۰۰	۷۴/۷۲ ± ۵/۳۳	۰/۱۱
	۸ هفته بعد	۶۹/۶۰ ± ۴/۸۳	۰/۰۰	۷۲/۲۰ ± ۵/۵۲	۰/۰۰	۷۲/۴۱ ± ۶/۸۴	۰/۰۰	۷۴/۹۷ ± ۵/۳۳	۰/۱۱
	پیش‌آزمون	۳۹/۰۹ ± ۴/۴۶	۰/۰۰	۳۸/۹۶ ± ۵/۱۳	۰/۰۰	۳۷/۴۰ ± ۴/۸۳	۰/۰۰	۳۵/۷۰ ± ۶/۸۴	۰/۰۰
	۸ هفته بعد	۳۱/۶۶ ± ۳/۵۷	۰/۰۰	۳۵/۷۵ ± ۳/۹۵	۰/۰۰	۳۵/۰۰ ± ۴/۱۴	۰/۰۰	۳۶/۴۰ ± ۶/۹۴	۰/۰۰
	پیش‌آزمون	۵/۷۵ ± ۰/۶۶	۰/۰۰	۵/۹۳ ± ۰/۸۰	۰/۰۰	۵/۷۹ ± ۰/۶۵	۰/۰۰	۵/۷۶ ± ۰/۷۰	۰/۹۱
	۸ هفته بعد	۳/۸۳ ± ۰/۸۴	۰/۰۰	۴/۵۰ ± ۰/۶۱	۰/۰۰	۵/۲۸ ± ۰/۵۷	۰/۰۰	۵/۷۷ ± ۰/۶۴	۰/۹۱
	پیش‌آزمون	۷/۸۳ ± ۰/۹۳	۰/۰۰	۸/۰۰ ± ۱/۱۲	۰/۰۰	۸/۱۰ ± ۱/۱۹	۰/۰۲	۷/۸۸ ± ۱/۰۳	۱/۰۰
	۸ هفته بعد	۹/۸۳ ± ۰/۹۳	۰/۰۰	۸/۸۳ ± ۰/۹۳	۰/۰۰	۸/۷۰ ± ۰/۶۷	۰/۰۲	۷/۸۸ ± ۰/۷۸	۱/۰۰

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

جدول ۲: مقایسه بین گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن، درصد چربی بدن، TNF- α و حافظه‌ی میان‌مدت در مرحله‌ی پیش‌آزمون

متغیر	F	sig
فشارخون (mmHg)	۰/۶۰	۰/۶۱
دور کمر (cm)	۰/۰۳۸	۰/۹۹
گلوکز (mg/dl)	۰/۸۵	۰/۴۷
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۰/۲۶	۰/۸۵
HDL (mg/dl)	۰/۵۷	۰/۶۳
BMI (kg/m ²)	۲/۱۵	۰/۱۰
وزن (Kg)	۰/۰۴۹	۰/۹۸
درصد چربی بدن	۰/۸۸	۰/۴۵
TNF- α (pg/mL)	۰/۱۵	۰/۹۲
حافظه‌ی میان‌مدت	۰/۱۸	۰/۹۰

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

جدول ۳: مقایسه بین گروهی شاخص‌های سندرم متابولیک، BMI، وزن و درصد چربی بدن، TNF- α و حافظه‌ی میان‌مدت پس از ۸ هفته اعمال مداخله

متغیر	گروه	sig	گروه	sig	گروه	sig	گروه	sig
فشارخون	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۱	مکمل	۰/۰۳	کنترل	۰/۴۱
دور کمر	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۱	کنترل	۰/۲۷
گلوکز	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۱	کنترل	۰/۰۲
تری‌گلیسرید	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۹	کنترل	۰/۰۲
HDL	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۹۵	کنترل	۰/۰۰
BMI (kg/m ²)	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۶	کنترل	۰/۰۰
وزن (Kg)	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۸	کنترل	۰/۰۰
درصد چربی بدن	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۷	کنترل	۰/۰۰
TNF- α (pg/mL)	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۰۰	کنترل	۰/۰۰
حافظه‌ی میان‌مدت	تمرین + مکمل	۰/۰۰	تمرین	۰/۰۰	مکمل	۰/۴۸	کنترل	۰/۰۹

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معناداری در سطح $P \leq 0.05$

بحث

در این تحقیق، هشت هفته مصرف کورکومین و انجام تمرین هوازی با ۶۵ تا ۷۵ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای در گروه مکمل + تمرین موجب کاهش معنی‌دار $TNF-\alpha$ و افزایش معنی‌دار حافظه‌ی میان مدت شد. نتایج تحقیق حاضر همسو با نتایج Osali و همکاران (۲۰۱۶)، Erickson و همکاران (۲۰۱۱) می‌باشد (۶، ۱۳، ۱۷، ۱۸). Osali و همکاران (۲۰۱۶) سه و شش ماه تمرین هوازی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای که هر هفته سه جلسه برگزار می‌شد را موثر بر حافظه‌ی زنان ۵۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیک گزارش کردند. Osali و همکاران (۲۰۱۶) علت بهبود عملکرد حافظه را کاهش درصد چربی، سبزی دورکمر، BMI، گلوکز خون و افزایش HDL گزارش نمودند. نوع تمرین در تحقیق Osali و همکاران از نوع تمرین هوازی با شدت متوسط بود. آزمودنی‌ها هفته‌ای سه جلسه با ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای روی تردمیل می‌دویدند. Erickson و همکاران (۲۰۱۱) یک سال تمرین هوازی با شدت متوسط را موثر بر عملکرد شناختی گزارش کردند. Erickson و همکاران (۲۰۱۱) اظهار کردند که علت بهبود حافظه، افزایش معنی‌دار حجم مغز و BDNF در اثر یکسال پیاده روی با شدت متوسط می‌باشد. مقایسه نتایج تحقیقات فوق با نتایج تحقیق حاضر بیانگر این می‌باشد که با افزایش شدت تمرین و مصرف کورکومین می‌توان سریعتر به نتیجه مطلوب دست یافت. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۶) و Babaei و همکاران (۲۰۱۳) همسو نیست (۱۱، ۱۲). Babaei و همکاران (۲۰۱۳) عدم تاثیر شش هفته تمرین هوازی با شدت متوسط را بر حافظه گزارش کردند. علت عدم تاثیر شش هفته دوی هوازی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای بر عملکرد حافظه در تحقیق Babaei و همکاران شاید این باشد که در ابتدای تحقیق اثرات منفی سندرم متابولیک بر عملکرد حافظه‌ی آزمودنی‌ها هنوز به مرحله‌ی بحرانی نرسیده بود. شاید بالا بودن سطح BDNF در مرحله‌ی پیش آزمون تحقیق Babaei و همکاران به نوعی پاسخ جبرانی در راستای مقابله با کاهش ظرفیت شناختی پیش آزمون افراد مبتلا به سندرم متابولیک باشد. همچنین این احتمال وجود دارد که شش هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد از ضربان قلب ذخیره‌ای برای بهبود عملکرد حافظه کم باشد. Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۶) نیز هشت هفته تمرین مقاومتی را موثر بر بهبود حافظه گزارش نکردند. مقایسه نتایج تحقیقات فوق با نتایج تحقیق حاضر بیانگر این می‌باشد که نوع تمرین و طول دوره‌ی تمرینی و پیشرفته نبودن عارضه‌ی سندرم متابولیک در آزمودنی‌های Ebrahimi و همکاران می‌تواند از علل عدم همخوانی نتایج باشد. سندرم متابولیک زمانی پیشرفته محسوب می‌شود که مزمن باشد. آزمودنی‌های Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۶) و

Babaei و همکاران (۲۰۱۳) در مرحله ابتدایی عارضه‌ی سندرم متابولیک بودند. تاثیر زمان بر کاهش عملکرد شناختی افراد مبتلا به سندرم متابولیک را می‌توان اینگونه بیان نمود. با توجه به اینکه سندرم متابولیک همراه با التهاب می‌باشد و افزایش عوامل التهابی همچون $TNF-\alpha$ موجب افزایش بیان NF- κ B می‌گردد و افزایش بیان NF- κ B نیز موجب کاهش بیان BDNF را در پی دارد، می‌توان گفت هر چه طول دوره بیماری بیشتر باشد سلول‌های مغزی بیشتر تخریب خواهند شد و در نتیجه میزان کاهش عملکرد شناختی بیشتر خواهد بود. نتایج حاصله و قرارگیری آن‌ها در کنار هم موجب روشن شدن مکانیسم‌های تاثیر ورزش و مصرف کورکومین بر عملکرد حافظه می‌شود. با این تفسیر که کاهش معنی‌دار گلوکز خون، تری‌گلیسرید، سبزی دور کمر، فشار خون و درصد چربی پس از هشت هفته مداخله موجب کاهش $TNF-\alpha$ شد و کاهش عوامل التهابی ($TNF-\alpha$) در ارتباط با افزایش سطوح BDNF می‌باشد (۶). کاهش عوامل التهابی از طریق مکانیسم زیر موجب افزایش بیان BDNF می‌گردد. فعال شدن NF- κ B موجب جلوگیری از بیان BDNF می‌گردد. کاهش عوامل التهابی در سیتوپلاسم، فعالیت NF- κ B را در دو مرحله متوقف می‌کند: بوسیله توقف فعالیت IKK و بوسیله جلوگیری از اتصال NF- κ B به DNA (۱۰). لازم بذکر است مصرف کورکومین نیز موجب کاهش بیان عوامل التهابی ($TNF-\alpha$) و رونویسی NF- κ B می‌شود (۷، ۱۴). با کاهش بیان NF- κ B بیان BDNF افزایش می‌یابد. BDNF عامل نروتروفیکی است که موجب نورونز و نروپلاستیسیته می‌گردد که این دو عامل از عوامل موثر در بهبودی حافظه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در اثر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین حافظه‌ی میان مدت زنان ۶۰-۶۵ ساله‌ی مبتلا به سندرم متابولیک افزایش یافت، این تغییرات به احتمال در ارتباط با کاهش $TNF-\alpha$ و بهبودی سندرم متابولیک می‌باشد.

قدردانی

از تمام آزمودنی‌هایی که در مدت اجرای تحقیق ما را همراهی نمودند کمال تشکر را داریم.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره مرجع IR.SEMUMS.REC.1396.107 به تایید رسیده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

ع اوصالی طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید می نماید.

References

- Osali A. The Effect of Six-Months Aerobic Exercise with Moderate Intensity on IL1 β , TNF- α , and Brain volume in 50-65 Years Old Women with Syndrome Metabolic. *TUOMS*; 2018.
- Tanaka S, Ide M, Shibutani T, Ohtaki H, Numazawa S, Shioda S, et al. Lipopoly saccharide-induced microglial activation induces learning and memory deficits without neuronal cell death. *J Neurosci Res* 2006; **83**: 557-566. doi: 10.1002/jnr.20752
- Yaffe K, Lindquist K, Penninx B W, Simonsick E M, Pahor M, Kritchevsky S, et al. Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. *Neurology* 2003; **61**: 76-80. doi: 10.1212/01.wnl.00000736 20.42047.d7
- Patanella A K, Zinno M, Quaranta D, Nociti V, Frisullo G, Gainotti G, et al. Correlations Between Peripheral Blood Mononuclear Cell Production of BDNF, TNF-alpha, IL-6, IL-1 and Cognitive Performances in Multiple Sclerosis Patients. *Journal of Neuroscience Research* 2010; **88**: 1106-1112. doi: 10.1002/jnr.22276
- Phillips C, Baktir M A, Srivatsan M, Salehi A. Neuroprotective effects of physical activity on the brain: a closer look at trophic factor signaling. *Cellular Neuroscience* 2014; **8**. doi: 10.3389/fncel.2014.00170
- Osali A, Mostafavi H. The Effect of Six month aerobic exercise with moderate intensity on BDNF, IL-6, and Short-term memory in 50-65 years old women with syndrome metabolic. *YJMS*; 2017.
- Kulkarni S K, Dhir Ashish, Akula Kiran Kumar. Potentials of Curcumin as an Antidepressant. *SWJ* 2009; **9**: 1233-1241. doi: 10.1100/tsw.2009.137
- Meek T H, Wisse B E, Thaler J P, Guyenet S J, Matsen M E, Fischer J D, et al. BDNF action in the brain attenuates diabetic hyperglycemia via insulin-independent inhibition of hepatic glucose production. *Diabetes* 2013; **62**(5): 1512-1518.
- Krabbe K S, Nielsen A R, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007; **50**(2): 431-438. doi: 10.1007/s00125-007-07 06-0
- Schottelius A J, Mayo M W, Sartor R B, Baldwin A S. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding. *J Biol Chem* 1999; **274**(45): 31868-3174. doi: 10.1074/jbc.274.45.31868
- Babaei P, damirchi A, Azali Alamdari K. Effects of Endurance Training and Detraining on Serum BDNF and Memory Performance in Middle Aged Males with Metabolic Syndrome. *IJEM* 2013; **15**(2): 132-142.
- Ebrahimi M, Mirzaali P, Avandi M. Effect of 8 weeks resistance training on serum BDNF level and memory performance in middle-aged women with metabolic syndrome. *JEP&F*; 2016.
- Osali A, Choobineh S, Soori R, Ravasi A. A, Mostafavi H. The effect of twelve weeks aerobic exercise with moderate intensity on BDNF, and Short-term memory in 50-65 years old women with syndrome metabolic. *EPPA*; 2017.
- Lim G P, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy S A, Cole G M. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *Neurosci* 2001; **21**: 8370-8377. doi: 10.1523/jneurosci.21-21-08370.2001
- Xu Y, Ku B, Cui L, Li X, Barish P.A, Foster T.C, et al. Curcumin reverses impaired hippocampal neurogenesis and increases serotonin receptor 1A mRNA and brain-derived neurotrophic factor expression in chronically stressed rats. *Brain Res* 2007; **1162**: 9-18. doi: 10.1016/j.brainres. 2007. 05.071
- Osali A, Mostafavi H, Moaseri F. The Effect of Twelve-Week Aerobic Exercise on IL-6 and depression in 50-65 Years Old Women with Syndrome Metabolic. *TUOMS*; 2018.
- Erickson K I, Voss M W, Prakash R S, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; **108**(7): 3017-3022. doi: 10.1073/pnas. 1015950108
- Osali A, Choobineh S, Soori R, Ravasi A A, Mostafavi H. The Effect of three month aerobic exercise whit moderate intensity on IL-6, IL-10, and cognitive performance in 50-65 years old women with syndrome metabolic. *ZUMS* 2017; **25**(110): 96-110.

Original Article

Comparing the protective effect of ascorbic acid and sodium bicarbonate in the prevention of acute renal complication after cardiac surgery using cardiopulmonary bypass

Eissa Bilehjani¹, Solmaz Fakhari^{2*}, Fariba Mirzaee Babil³, Saeed Bakhshalizadeh⁴

¹Shahid Madani Heart Hospital, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Imam Reza Hospital, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³School of Medicine, Department of Physiology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴General Practitioner, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: solmaz_fakhari@yahoo.com

Received: 21 February 2017 Accepted: 18 June 2017 First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):21-29

Abstract

Background: Many methods have been used to prevent acute postoperative renal complication in cardiac surgery, with various results. The purpose of the present study was to compare ascorbic acid versus isotonic sodium bicarbonate in the prevention of acute postoperative renal complication in adult cardiac surgery using cardiopulmonary bypass (CPB).

Methods: In a clinical trial, 150 adult patients scheduled for elective cardiac surgery using CPB, enrolled to this study in three ascorbic acid, sodium bicarbonate and placebo groups (each group=50). During surgery, 1000 ml of normal saline was infused in a 2 hours period that contain ascorbic acid 500mg, sodium bicarbonate 8.4% 75 ml or saline alone, respectively. Invasive hemodynamic and urinary output monitoring was done intra and post-operatively. An increase more than 0.5mg/dl or more than 25% in basic plasma creatinine (Cr) or decrease more than 25% in basic glomerular filtration rate (GFR), was considered as acute kidney injury (AKI). An increase or decrease of more than 50% in basic Cr or GFR, respectively, was considered as acute renal failure (ARF). Data were analyzed using X2, student t-test and ANOVA tests.

Results: AKI and ARF were occurred in 36 and 9 patients, respectively ($P=0.043$ and $P=0.001$, respectively), those were lesser in ascorbic acid group. The renal protective effect of the ascorbic acid occurred for longer period than bicarbonate.

Conclusion: Comparing to sodium bicarbonate and placebo groups, ascorbic acid is more effective in prevention of the acute postoperative renal complication in adult cardiac surgery using CPB.

Keyword: Cardiac surgery, Cardiopulmonary bypass, Postoperative renal complication, Ascorbic acid, Sodium bicarbonate.

How to cite this article: Bilehjani E, Fakhari S, Mirzaee Babil F, Bakhshalizadeh S. [Comparing the protective Effect of Ascorbic Acid and Sodium Bicarbonate in the prevention of Acute Renal Complication after Cardiac Surgery Using Cardiopulmonary Bypass]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):21-29. Persian.

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر حفاظتی اسید اسکوریک با بی کربنات سدیم در پیشگیری از بروز عارضه حاد کلیوی بعد از جراحی قلب با بای پس قلبی ریوی

عیسی بیله جانی^۱، سولمان فخاری^{۲*}، فریبا میرزائی باویل^۳، سعید بخشعلی زاده^۴

^۱ بیمارستان قلب شهید مدنی، گروه بیهوشی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ بیمارستان امام الرضا (ع)، گروه بیهوشی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۳ دانشکده پزشکی تبریز، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۴ پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
نویسنده مسئول: ایمیل solmaz_fakhari@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۳ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۲۹-۲۱

چکیده

زمینه: روشهای پیشگیری زیادی برای کاهش عارضه شایع حاد کلیوی بعد از عمل با نتایج متفاوت استفاده شده اند. هدف مطالعه حاضر مقایسه اسید اسکوریک و بیکربنات سدیم ایزوتونیک در پیشگیری از عارضه حاد کلیوی بعد از جراحی قلب بالغین با بای پس قلبی ریوی بود.
روش کار: در یک مطالعه بالینی، ۱۵۰ بیمار بالغ کاندیدای جراحی اکثیو قلبی با بای پس قلبی ریوی در ۳ گروه ۵۰ نفره اسیداسکوریک، بیکربنات سدیم و پلاسبو بررسی شدند. حین عمل در سه گروه به ترتیب یک لیتر سالین نرمال حاوی ۵۰۰ میلی گرم اسیداسکوریک، ۷۵ میلی لیتر بیکربنات سدیم ۸/۴ درصد یا سرم خالص در عرض ۲ ساعت انفوزیون شد. مونیتورینگ تهاجمی همودینامیک و برونده ادراری حین و بعد از عمل انجام گرفت. افزایش بیش از ۰/۵ میلی گرم در دسی لیتر در کراتینین (Cr) یا کاهش بیش از ۲۵٪ در میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) پایه، آسیب حاد کلیوی و افزایش بیش از ۵۰٪ در Cr یا کاهش بیش از ۵۰٪ در GFR، نارسایی حاد کلیوی در نظر گرفته شد. داده های سه گروه با کمک آزمون های χ^2 student t-test و ANOVA مقایسه شدند.
یافته ها: پارامترهای دموگرافیک و همودینامیک حین و بعد از عمل در سه گروه یکسان بود. آسیب حاد کلیوی و نارسایی حاد کلیوی به ترتیب در ۳۶ و ۹ بیمار رخ داد که در گروه اسید اسکوریک کمتر از دو گروه دیگر بود (به ترتیب $P=0/043$ و $P=0/001$). اثرات حفاظت کلیوی اسید اسکوریک طولانی تر از بیکربنات بود.
نتیجه گیری: اسید اسکوریک در مقایسه با بیکربنات سدیم یا پلاسبو نقش موثرتری در پیشگیری از عوارض حاد کلیوی به دنبال جراحی قلب با بای پس قلبی ریوی دارد.

کلید واژه ها: جراحی قلب، بای پس قلبی ریوی، عارضه حاد کلیوی پس از عمل، اسید اسکوریک، بیکربنات سدیم

نحوه استناد به این مقاله: بیله جانی ع، فخاری س، میرزائی باویل ف، بخشعلی زاده س. مقایسه اثر حفاظتی اسید اسکوریک با بی کربنات سدیم در پیشگیری از بروز عارضه حاد کلیوی بعد از جراحی قلب با بای پس قلبی ریوی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۲۹-۲۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

امروزه بیماری‌های قلبی عروقی و به دنبال آن نیاز به عمل جراحی قلب آمار بالایی را در جهان به خود اختصاص داده است (۱ و ۲). یکی از عوارض شایع جراحی قلب، اختلال عملکرد کلیه و آسیب حاد کلیوی می‌باشد که در حدود ۲۵-۵۰ درصد موارد، بیماران را بعد از جراحی درگیر نموده و موجب افزایش میزان مورتالیت و موربیدیت، مدت زمان بستری و افزایش هزینه‌های درمانی می‌شود (۸-۲). پاتوفیزیولوژی آسیب حاد کلیه به درگیری عروقی و توبول‌های کلیه بستگی دارد (۶). از علل مختلفی که در جراحی قلب باعث درگیری کلیوی می‌گردد می‌توان به ایسکمی و آسیب پرفیوژن مجدد، آمبولی، نارسایی اولیه کلیه، همولیز، تشکیل رادیکال‌های آزاد، فعال شدن مدیاتورهای التهابی و سیستم کمپلمان اشاره نمود (۹ و ۵). آسیب به سیستم کلیوی می‌تواند به درجات مختلف تقسیم شود. البته هنوز در مورد مرز تفکیک میان نارسایی حاد کلیه (اکثر نیاز به حمایت همودیالیزی وجود دارد) و آسیب حاد کلیوی (درجات خفیف آسیب با بهبودی کامل) توافق جامعی وجود ندارد، برخی مطالعات بیان کرده‌اند که افزایش میزان کراتینین پایه بیش از ۰/۵ میلی‌گرم در دسی لیتر و یا کاهش بیش از ۲۵ درصد در میزان تخمینی فیلتراسیون گلومرولی پایه، در ۲-۵ روز بعد از عمل باید آسیب حاد کلیوی در نظر گرفته شود در صورتی که به افزایش بیش از ۱۰۰-۵۰ درصد در کراتینین پلاسما می‌باشد و یا نیاز به دیالیز، نارسایی حاد کلیوی اطلاق شود (۱۱-۱۰ و ۶). وجود برخی ریسک فاکتورهای قبل از عمل همچنین می‌تواند میزان بروز آسیب حاد کلیه بعد از عمل را افزایش دهد، از جمله نارسایی اولیه، سابقه جراحی دریچه قلبی، پایین بودن برون‌ده قلبی، بیماری عروقی محیطی، بالا بودن فشارخون، سن بالا، دیابت. بنابراین شناسایی این ریسک فاکتورها قبل عمل کمک می‌کند تا از بروز نارسایی حاد کلیوی در بیماران کاندید جراحی قلب جلوگیری نمود (۵ و ۶). برخی اقدامات که به عنوان اقدامات پروتکتیو شناخته شده و مورد توافق در جریان آسیب حاد کلیوی هستند عبارتند از: هیدراتاسیون ایزواسمولار یا ایزوتونیک، کنترل قند خون حین عمل، استفاده از آنتی اکسیدان‌ها نظیر ان-استیل -سیستئین و اسید اسکوربیک (ویتامین C)، دوپامین، دیورتیک‌های موثر بر قوس هنله، مانیتول، پپتید ناتریورتیک دهلیزی، بلوکرهای کانال کلسیم، سلنیوم، بیکربنات سدیم (۱۴-۱۲). مطالعات نشان داده اند که قلیایی کردن ادرار می‌تواند در جلوگیری از آسیب حاد کلیوی ناشی از مواد اکسیدان و تحریک سیستم کمپلمان موثر باشد (۹). از طرفی آنتی‌اکسیدانها از جمله اسیداسکوربیک که یکی از آنتی-اکسیدان‌های قوی محلول در آب است نقش حفاظتی انواع ماکرو مولکول‌ها شامل لیپیدها، DNA و پروتئین‌ها را در مقابل انواع رادیکال‌های فعال اکسیدانی دارد. این ماده همچنین اثر سایر آنتی-اکسیدان‌ها را می‌تواند تقویت کند (۱۶-۱۳ و ۹). تاکنون مطالعه‌های

مقایسه‌ای میان اثرات حفاظتی اسید اسکوربیک با بیکربنات سدیم ایزوتونیک در حیطه اعمال جراحی قلب با استفاده از دستگاه بای پس قلبی ریوی منتشر نشده است. این مطالعه بالینی آینده‌نگر با هدف بررسی و مقایسه اثرات حفاظتی دو داروی اسیداسکوربیک و بیکربنات سدیم ایزوتونیک در پیشگیری از بروز آسیب حاد کلیوی در بیماران بالغی که تحت عمل جراحی قلب با کمک بای پس قلبی ریوی قرار می‌گیرند انجام گرفت.

روش کار

پس از اخذ تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاهی این مطالعه کارآزمایی بالینی دوسوکور اتفاقی شده، در طی یک دوره هفت ماهه از خرداد تا دی ماه سال ۱۳۹۴ با شرکت ۱۵۰ بیمار بالغ بالای ۱۸ سال که کاندیدای عمل جراحی قلب در بیمارستان شهید مدنی تبریز بودند انجام گرفت. پس از توضیح روش کار و مشکلات احتمالی و روشهای برخورد با آنها در طی انجام این مطالعه، از تمامی بیماران رضایت‌نامه آگاهانه کتبی دریافت گردید. ضمناً این مطالعه با کد IRCT201409091127N3 در سایت مطالعات بالینی ایران (www.irct.ir) ثبت و تایید گردید. بیماران به ترتیب ورود به مطالعه به صورت تصادفی در سه گروه ۵۰ نفره اسید اسکوربیک، بیکربنات و پلاسبو قرار گرفتند. در تمام بیماران روز قبل از عمل اندازه‌گیری غلظت کراتینین پلاسما می و نیتروژن اوره خون ناشتا در کنار سایر آزمایشات روتین قبل از عمل انجام گرفت. پیش درمانی با لورازپام خوراکی، مورفین و پرومتازین عضلانی در بخش بستری انجام گرفت. القای بیهوشی با کمک میدازولام (۱۰۰ میکروگرم/کیلوگرم)، فتانیل (۷-۵ میکروگرم/کیلوگرم) و سپس آتراکوریوم (۲/۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) وریدی انجام شد. نگهداری بیهوشی با انفوزیون مداوم ترکیب میدازولام، فتانیل و سپس آتراکوریوم برقرار شد. اداره بیهوشی، عمل جراحی و بای پس قلبی ریوی بدون مداخله و به صورت روتین انجام گرفت. در طول عمل مونیتورینگ فشارخون داخل شریانی و ورید مرکزی، الکتروکاردیوگرافی، پالس اکسیمتری و کاپنوگرافی، برونه‌آدراری و گازهای خون شریانی به همراه الکترولیت‌های سرمی در تمامی بیماران انجام گرفت و در اولین فرصت پس از لوله‌گذاری تراشه و پس از تثبیت همودینامیک بیمار، اکوکاردیوگرافی از طریق مری انجام و به همراه تعیین کسر جهشی بطن چپ، در سطح خروجی بطن چپ میزان برونه قلبی نیز محاسبه شد. در تمامی بیماران علاوه بر اقدامات روتین پس از القای بیهوشی، یک لیتر سرم سالین ۰/۹ درصد در عرض دو ساعت انفوزیون شد. این سرم توسط یکی از همکاران طرح آماده گردید که در گروه اول حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک (ویتامین C)، در گروه دوم حاوی ۷۵ میلی‌لیتر بیکربنات سدیم ۸/۴ درصد و در گروه سوم سرم سالین نرمال خالص بود. تمامی اعضای دیگر تیم بیهوشی و جراحی

نسبت به گروه بیمار بی اطلاع بودند. در کنار داده‌های زمینه‌ای، در حین عمل اطلاعات مربوط به فشارهای خون، مدت جراحی و بای پس قلبی، میزان برون ده ادراری، مصرف داروهای اینوتروپ، دیورتیک و فرآورده‌های خونی ثبت گردید. تمامی بیماران پس از اتمام عمل به بخش مراقبت‌های ویژه منتقل گردیده و تحت مراقبت و مونیترینگ‌های معمول قرار گرفتند. در ساعت‌های اول انتقال به بخش مراقبت‌های ویژه مجدداً اکوکاردیوگرافی از طریق مری انجام و کسر جهشی بطن چپ تعیین و در سطح خروجی بطن چپ میزان برون ده قلبی محاسبه گردید. مونیترینگ فشار خون تهاجمی، برون ده ادراری و مصرف داروهای اینوتروپ، دیورتیک و فرآورده‌های خونی تا ۴۸ ساعت پس از عمل انجام و ثبت گردید. ضمناً غلظت کراتینین و نیتروژن اوره خون در ساعت هفت صبح روزهای دوم و پنجم پس از عمل اندازه‌گیری و ثبت گردید. زمان نیاز به تهویه مکانیکی، مدت بستری در بخش مراقبت‌های ویژه و بستری بیمارستانی پس از عمل ثبت شد. با در نظر گرفتن وزن، سن، جنس و غلظت کراتینین پلاسمایی، میزان تخمینی فیلتراسیون گلوبولین با فرمول Cockcroft-Gault در دوره قبل از عمل، روزهای دوم و پنجم بعد از عمل محاسبه گردید. به همین ترتیب اندکس قلبی قبل و بعد از عمل بیماران پس از محاسبه مساحت سطح بدن با فرمول موستلر (Mosteller) محاسبه شد. افزایش بیش از ۰/۵ میلی گرم در دسی لیتر در کراتینین پایه یا کاهش بیش از ۲۵ درصد در میزان تخمینی فیلتراسیون گلوبولین پایه، آسیب حاد کلیوی در نظر گرفته شد. به افزایش بیش از ۵۰ درصد در کراتینین پلاسمایی و افزایش بیش از ۵۰ درصد در کراتینین یا فیلتراسیون گلوبولین پایه یا نیاز به دیالیز، نارسایی حاد کلیوی اطلاق شد (۱۷). معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از:

تمام بیماران بالای ۱۸ سال که کاندید عمل الکتیو جراحی قلب با کمک پمپ قلبی ریوی در بیمارستان قلب شهید مدنی تبریز بودند و صلاحیت ورود به این مطالعه را داشتند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: اعمال اورژانس، کراتینین پلاسمایی قبل از عمل بالاتر از ۲ میلی گرم در دسی لیتر، میزان فیلتراسیون گلوبولین قبل از عمل کمتر از ۵۰ میلی لیتر/کیلوگرم/ساعت، ابتلا به دیابت شیرین، تماس با مواد رادیوکنتراست در یک هفته گذشته، میزان کسر جهشی بطن چپ کمتر از ۴۰ درصد، ناکافی بودن داده‌های جمع آوری شده. داده‌های جمع‌آوری شده وارد نرم افزار آماری SPSS 16 شده و مورد آنالیز قرار گرفتند. داده‌های کاتگوریکال و غیر پیوسته با کمک تست های مجذور کای، آزمون دقیق فیشر و Kruskal Walis و داده‌های پیوسته با کمک student t test و one-way ANOVA way آنالیز و بین سه گروه مقایسه شدند. مقدار $p < 0.05$ در تمامی موارد معنی‌دار تلقی گردید. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز تایید و از تمامی بیماران رضایت نامه آگاهانه کتبی دریافت گردید. ضمناً این مطالعه با کد

یافته‌ها

کلاً تعداد ۱۵۰ بیمار در این مطالعه وارد شدند که پس از ورود به مطالعه هیچ بیماری معیارهای خروج از مطالعه را نداشت. داده های دموگرافیک غیر از سن که در گروه پلاسبو کمتر از دو گروه دیگر بود در سه گروه یکسان بودند. داده‌های قلبی و کلیوی پایه شامل نوع بیماری قلبی، فشارخون شریانی، کسر جهشی بطن چپ، اندکس قلبی، هماتوکریت، نیتروژن اوره خون، کراتینین پلاسمایی و میزان تخمینی فیلتراسیون گلوبولین در سه گروه یکسان بودند (جدول ۱). نیاز به داروهای اینوتروپ، دیورتیک و فرآورده های خونی در حین یا بعد از عمل در سه گروه تفاوتی نداشت. مدت زمان استفاده از بای پس قلبی ریوی، مدت زمان عمل، مدت زمان نیاز به تهویه مکانیکی، مدت بستری در بخش مراقبت‌های ویژه و بستری بیمارستانی پس از عمل یکسان بود. استفاده از اسید اسکوربیک یا بیکربنات تاثیری بر روی پارامترهای قلبی نداشت و فشارخون شریانی، کسر جهشی بطن چپ و اندکس قلبی پس از عمل در این دو گروه تفاوت معنی‌دار آماری با همدیگر و یا با گروه پلاسبو نداشت. همچنین عوارض غیر کلیوی (قلبی، ریوی و نورولوژیک) در گروه اسید اسکوربیک با گروه بیکربنات تفاوت معنی‌دار آماری نداشت ولی فراوانی عوارض در این گروه کمتر از گروه پلاسبو بود ($P = 0.043$) (جدول ۱). در روز دوم بعد از عمل میزان کراتینین پلاسمایی در گروه پلاسبو بیشتر از دو گروه دیگر بود، هرچند این تفاوت بین گروه پلاسبو و بیکربنات در روز پنجم بعد از عمل از بین رفته بود (جدول ۲). در مورد نیتروژن اوره خون هیچ تفاوتی بین سه گروه وجود نداشت. میزان فیلتراسیون گلوبولین در روز دوم بعد از عمل بین سه گروه تفاوتی نداشت اما در روز پنجم بعد از عمل میزان فیلتراسیون گلوبولین در گروه اسید اسکوربیک بیشتر از گروه پلاسبو بود ($P = 0.008$) (جدول ۲). (میزان برون ده ادراری در مراحل مختلف بررسی بین سه گروه تفاوتی نداشت (شکل ۱). با توجه به معیارهای در نظر گرفته شده برای تعریف آسیب کلیوی حاد و نارسایی حاد کلیوی پس از عمل، در ۳۶ بیمار (۲۴٪) بیماران آسیب کلیوی حاد حادث شد که به صورت معنی‌داری در گروه اسید اسکوربیک کمتر از دو گروه دیگر بود ($P = 0.043$) و نارسایی حاد کلیوی در ۹ بیمار (۶٪) بروز کرد که هیچ کدام از بیماران نیازی به حمایت دیالیزی نداشتند. این عارضه نیز در گروه اسید اسکوربیک کمتر از دو گروه دیگر بود ($P = 0.01$).

جدول ۱: داده‌های دموگرافیک و بالینی بیماران در گروه های مورد مطالعه

متغیر	اسید اسکوربیک (۵۰ مورد)	بیکربنات سدیم (۵۰ مورد)	پلاسیبو (۵۰ مورد)	کل (۱۵۰ مورد)	P
جنس (مرد/زن)	۱۸/۳۲	۲۳/۲۷	۲۰/۳۰	۶۱/۸۹	۰/۵۹۲
سن (سال)	۵۹/۸۸±۱۲/۵۸	۵۶/۱۰±۱۳/۲۳	۵۲/۳۶±۱۱/۵۷	۵۶/۱۱±۱۲/۷۷	۰/۰۱۲*
قد (سانتیمتر)	۱۶۳/۵۲±۸/۸۶	۱۶۳/۰۲±۱۱/۴۰	۱۶۳/۵۶±۹/۷۰	۱۶۳/۳۷±۹/۹۸	۰/۹۵۶
وزن (کیلوگرم)	۷۵/۱۴±۱۱/۷۶	۷۱/۳۲±۱۳/۸۶	۷۱/۵۲±۱۱/۹۷	۷۲/۶۶±۱۲/۶۰	۰/۲۳۴
هماتوکریت (درصد)	۴۱/۱۲±۵/۷۷	۴۰/۵۱±۴/۵۸	۴۰/۴۶±۳/۳۸	۴۰/۸۰±۴/۶۶	۰/۸۳۵
کرونی	۳۴ (۶۸)	۳۵ (۷۰)	۲۹ (۵۸)	۹۸ (۶۵/۳)	
فراوانی نوع بیماری قلبی	۷ (۱۴)	۵ (۱۰)	۱۱ (۲۲)	۲۳ (۱۵/۳)	۰/۲۰۷
تعداد (درصد)	۴ (۸)	۲ (۴)	۷ (۱۴)	۱۳ (۸/۷)	
سایر	۵ (۱۰)	۸ (۱۶)	۳ (۶)	۱۶ (۱۰/۸)	
کسر جهشی بطن چپ پایه (درصد)	۴۷/۶۴±۷/۴۸	۵۰/۸۰±۶/۱۷	۴۸/۸۸±۸/۴۰	۴۹/۱۱±۷/۴۷	۰/۱۰۳
اندکس قلبی پایه (لیتر بر متر مربع)	۳/۳۱±۰/۸۷	۳/۱۲±۰/۹۲	۳/۲۰±۰/۸۸	۳/۲۱±۰/۸۶	۰/۵۷۰
فشار خون متوسط شریانی پایه (میلیمتر جیوه)	۸۷/۱۸±۱۷/۵۱	۸۷/۲۰±۱۷/۳۷	۸۲/۴۳±۱۲/۲۰	۸۵/۹۴±۱۵/۹۸	۰/۱۵۷
مدت زمان بای پس قلبی ریوی (دقیقه)	۱۱۵/۲۶±۳۵/۲۸	۱۰۸/۱۲±۳۴/۱۶	۱۱۳/۲۸±۴۱/۹۶	۱۱۲/۲۲±۳۷/۱۶	۰/۶۱۵
مدت زمان عمل (دقیقه)	۳۳۳/۵۰±۷۴/۱۱	۳۳۶/۳۰±۶۴/۶۵	۳۴۰/۲۰±۶۲/۱۹	۳۳۶/۶۷±۶۶/۸۸	۰/۸۸۲
کسر جهشی بطن چپ پس از عمل	۴۹/۶۴±۷/۷۴	۵۲/۵۰±۶/۹۹	۵۰/۵۴±۸/۶۱	۵۰/۸۹±۷/۸۵	۰/۱۷۷
اندکس قلبی پس از عمل (لیتر بر متر مربع)	۳/۲۵±۰/۸۸	۳/۱۰±۰/۸۳	۳/۴۴±۰/۸۸	۳/۲۷±۰/۸۷	۰/۱۴۹
فشار خون متوسط شریانی روز اول پس از عمل (میلیمتر جیوه)	۷۸/۱۷±۷/۱۳	۸۱/۱۷±۷/۶۸	۷۸/۴۱±۸/۰۱	۷۹/۲۵±۷/۶۹	۰/۰۹۲
فشار خون متوسط شریانی روز دوم پس از عمل (میلیمتر جیوه)	۸۱/۴۷±۷/۳۸	۸۰/۵۸±۸/۰۸	۸۱/۸۵±۸/۴۲	۸۱/۳۲±۷/۹۲	۰/۸۴۷
مدت زمان نیاز به تهویه مکانیکی (ساعت)	۱۸/۶۸±۱۸/۵۴	۱۵/۷۹±۱۲/۹۲	۱۷/۲۲±۱۴/۹۱	۱۷/۲۵±۱۵/۵۷	۰/۶۵۳
مدت زمان بستری در بخش مراقبتهای ویژه (روز)	۳/۸۶±۱/۹۶	۳/۴۴±۱/۲۲	۴/۰۲±۱/۵۸	۳/۸۷±۱/۶۲	۰/۱۸۳
مدت زمان بستری پس از عمل (روز)	۸/۲۴±۲/۲۷	۷/۹۰±۲/۲۱	۸/۵۶±۲/۰۲	۸/۳۳±۲/۱۷	۰/۳۱۸
مصرف داروهای دیورتیک تعداد (درصد)	۲۹ (۵۸)	۳۷ (۷۴)	۳۴ (۶۸)	۱۰۰ (۶۶/۷)	۰/۲۳۰
مصرف داروهای اینوتروپ تعداد (درصد)	۲۳ (۴۶)	۲۶ (۵۲)	۲۹ (۵۸)	۷۸ (۵۲)	۰/۴۸۶
مصرف فرآورده های خونی تعداد (درصد)	۲۰ (۴۰)	۲۱ (۴۲)	۱۸ (۳۶)	۵۹ (۳۹/۳)	۰/۸۲۲
فراوانی عوارض غیر کلیوی تعداد (درصد)	۴ (۸)	۵ (۱۰)	۱۲ (۲۴)	۲۱ (۱۴)	۰/۰۴۳*

* اختلاف معنی دار بین گروه اسید اسکوربیک و پلاسیبو

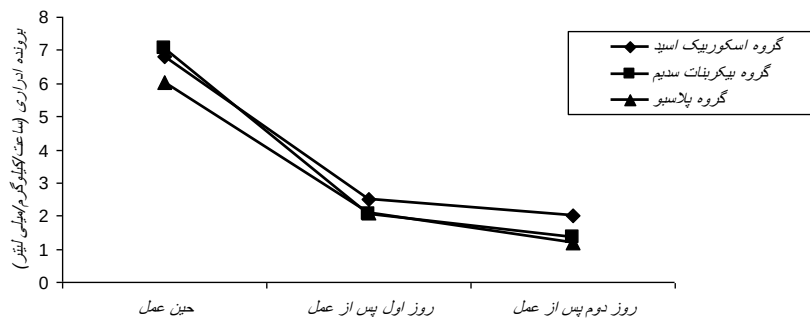
جدول ۲: میزان کراتنین ، فیلتراسیون گلومرولی و بروز آسیب و نارسایی حاد کلیوی پس از عمل در سه گروه مطالعه

متغیر	اسکوربیک اسید (۵۰ مورد)	بیکربنات سدیم (۵۰ مورد)	پلاسیبو (۵۰ مورد)	کل (۱۵۰ مورد)	P
کراتنین پلاسمایی قبل از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱/۱۴±۰/۲۷	۱/۱۳±۰/۲۹	۱/۰۸±۰/۲۲	۱/۱۳±۰/۲۶	۰/۵۲۴
کراتنین پلاسمایی روز دوم پس از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱/۰۵±۰/۲۳	۱/۰۳±۰/۲۵	۱/۲۳±۰/۴۴	۱/۲۲±۰/۳۹	۰/۰۰۴*
کراتنین پلاسمایی روز پنجم پس از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱/۰۷±۰/۳۷	۱/۲۶±۰/۴۲	۱/۳۳±۰/۳۵	۱/۲۲±۰/۳۹	۰/۰۰۲**
نیترژن اوره خون قبل از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۹/۲۶±۶/۷۵	۲۰/۱۴±۷/۰۲	۱۷/۶۸±۶/۲۲	۱۹/۰۳±۶/۸۰	۰/۱۷۸
نیترژن اوره خون روز دوم پس از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۷/۶۲±۷/۳۳	۱۸/۴۶±۷/۴۸	۱۵/۸۸±۶/۴۲	۱۷/۳۲±۷/۱۳	۰/۱۸۲
نیترژن اوره خون روز پنجم پس از عمل (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۶/۷۸±۶/۳۱	۱۸/۸۸±۷/۷۸	۱۵/۸۲±۶/۹۲	۱۷/۱۶±۷/۱۰	۰/۰۸۷
میزان فیلتراسیون گلومرولی قبل از عمل (ساعت/کیلوگرم/میلی لیتر)	۷۸/۹۵±۲۸/۴۴	۷۶/۶۵±۲۵/۶۹	۸۳/۲۸±۱۹/۸۹	۷۹/۶۲±۲۴/۹۲	۰/۴۰۴
میزان فیلتراسیون گلومرولی روز دوم پس از عمل (ساعت/کیلوگرم/میلی لیتر)	۸۵/۷۸±۲۸/۱۱	۸۲/۰۳±۲۴/۳۰	۷۶/۸۰±۳۵/۷۴	۸۱/۵۳±۲۹/۷۹	۰/۳۲۰
میزان فیلتراسیون گلومرولی روز پنجم پس از عمل (ساعت/کیلوگرم/میلی لیتر)	۸۵/۱۵±۲۷/۴۴	۷۲/۱۱±۲۴/۵۶	۶۷/۸۶±۳۲/۸۸	۷۵/۰۴±۲۹/۲۵	۰/۰۰۸***
فراوانی آسیب حاد کلیوی پس از عمل تعداد (درصد)	۶ (۱۲)	۱۶ (۳۲)	۱۴ (۲۸)	۳۶ (۲۴)	۰/۰۴۶**
فراوانی نارسایی حاد کلیوی پس از عمل (درصد)	۰ (۰)	۴ (۸)	۵ (۱۰)	۹ (۶)	۰/۰۰۱**

* اختلاف معنی دار بین گروه پلاسیبو با دو گروه دیگر

** اختلاف معنی دار بین گروه اسید اسکوربیک با دو گروه دیگر

*** اختلاف معنی دار بین گروه اسید اسکوربیک و پلاسیبو



شکل ۱: مقایسه میزان برونده ادراری در مراحل مختلف بررسی در سه گروه

استفاده از کلسیم بلوکرها، آنتی‌اندوتلیوم، تنوفیلین‌ها، پروستاگلاندین فاکتور فعال‌کننده پلاکتی پیشنهاد و بررسی مکرر شده است، اما نتیجه‌ی قابل ملاحظه‌ای به دست نیامده است (۲۰). در مطالعه حاضر تاثیر اسکوربیک اسید و بیقرینات سدیم در پیشگیری از آسیب کلیوی متعاقب جراحی قلب بررسی گردید. سه گروه مورد بررسی از نظر وزن و قد و جنس تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. هرچند بیماران گروه پلاسبو میانگین سنی پایین‌تری داشتند با توجه به یافته‌ها در مطالعات قبلی که افزایش سن بیمار باعث افزایش احتمال بروز آسیب کلیوی بعد از عمل می‌شود (۲۱و۱۴)، می‌توان این نتیجه‌گیری را کرد که سه گروه مورد مطالعه ما از نظر مشخصات دموگرافیک یکسان می‌باشند و یافته‌های ما مطابق با بسیاری از مطالعات قبلی می‌باشند (۱۴و۱۲و۵و۶). همچنین بین نوع بیماری قلبی و بروز نارسایی حاد کلیوی ارتباط معنی‌داری وجود نداشت که این نتایج با نتایج مطالعه Anderson و همکاران که نشان دادند در بیمارانی که بطور همزمان جراحی کرونری و دریچه قلبی می‌شوند بروز نارسایی حاد کلیه بالاتر است (۲۲)، همخوانی ندارد. از طرفی میزان کسر جهشی بطن چپ تاثیری در بروز نارسایی حاد کلیوی نداشت. که با نتایج مطالعه Moss و همکاران که نشان داد میزان میزان کسر جهشی بطن چپ با نارسایی کلیوی بعد جراحی قلب مرتبط است، همخوانی ندارد (۵). شاید این تفاوت به علت طبیعی بودن میزان کسر جهشی بطن چپ در بیماران مورد مطالعه ما باشد. Pieri نیز بروز آسیب کلیوی بعد از عمل را در بیماران با اختلال عملکرد قلبی را بسیار بالا گزارش کرد (۷). در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین مدت زمان بای پس قلبی ریوی و عمل با بروز نارسایی حاد کلیه یافت نشد که با نتایج مطالعه Morita و همکاران همخوانی دارد (۲۳). در حالیکه در مطالعه Palomba و همکاران زمان بای پس قلبی ریوی بالای ۱۲۰ دقیقه از ریسک فاکتورهای بروز نارسایی حاد کلیه ذکر شده است (۲۱). در این مطالعه مصرف دیورتیک، اینوتروپ و فرآورده‌های خونی در سه گروه تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند که با نتایج مطالعه Haase و همکاران در مورد نقش تزریق

همچنین ارتباط بین فاکتورهای دموگرافیک بیماران با میزان بروز آسیب و نارسایی حاد کلیوی بررسی شد که بین سن و آسیب حاد کلیوی ارتباط مستقیم وجود داشت اما این ارتباط با بروز نارسایی حاد کلیوی موجود نبود. بین جنس، قد، وزن بیماران و میزان بروز عوارض کلیوی بعد از عمل ارتباطی وجود نداشت. همچنین بین میزان هماتوکریت پایه، کسر جهشی بطن چپ، نوع بیماری قلبی، مدت بای پس قلبی ریوی و عمل با میزان بروز آسیب کلیوی بعد از عمل ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که دریافت اسیداسکوربیک دارای اثرات حفاظتی کلیوی به صورت کاهش کراتینین پلاسمایی، افزایش میزان فیلتراسیون گلومرولی و کاهش عوارض حاد کلیوی نسبت به گروه پلاسبو در جراحی قلب با کمک بای پس قلبی ریوی می‌باشد. هر چند استفاده از بیقرینات سدیم نیز اثرات حفاظتی مشابهی داشت اما این تاثیر ضعیف و موقتی است و تاثیر اسیداسکوربیک در مقایسه با بیقرینات چشمگیرتر و با دوام‌تر بود. به طوریکه در گروه اسیداسکوربیک، هم درجات خفیف (آسیب کلیوی حاد) و هم درجات شدید عارضه کلیوی (نارسایی حاد کلیوی) بروز کمتری نسبت به گروه‌های بیقرینات و پلاسبو داشت. در مطالعه حاضر با افزایش سن بیماران احتمال بروز درجات خفیف‌تر صدمه کلیوی بیشتر بود اما این افزایش سن بیمار تاثیری بر میزان بروز نارسایی حاد کلیوی نداشت. آسیب کلیوی بعد از عمل یک عارضه شایع بعد از اعمال جراحی قلب می‌باشد که مکانیسم‌های زیادی نظیر کاهش پرفیوژن بافتی، ایسکمی، تولید رادیکال‌های آزاد و سایر مدياتورهای التهابی در آن دخیل هستند (۱۸و۱۶و۷). این آسیب کلیوی بعد از جراحی سبب افزایش مورتالیتی، موریبدیتی و افزایش مدت اقامت در بخش مراقبت‌های ویژه می‌گردد و تاکنون هیچ روش پیشگیری مؤثری جهت کاهش آسیب کلیوی بعد جراحی قلب شناسایی نشده است (۱۹). گرچه

نارسایی حاد کلیوی را کم می‌کند هم‌خوانی ندارد (۱۴). مطالعات انجام شده که تاکنون به آن‌ها اشاره شد، هر یک به تنهایی به بررسی تأثیر اسیداسکوربیک و بیکربنات سدیم پرداخته‌اند. ولی ما در این مطالعه به مقایسه این دو پرداختیم. نتایج ما نشان داد که با وجود اثربخشی که هر دو دارند، تأثیر اسیداسکوربیک در مقایسه با بیکربنات به مراتب بیشتر بود. در رابطه با این اثر بخشی اسیداسکوربیک می‌توان چند مکانیسم احتمالی را مطرح نمود: اصلاح آنمی توسط اسیداسکوربیک (۲۸)، مهار تولید رادیکال‌های آزاد و محصولات کمپلمان که موجب افزایش ظرفیت محافظتی آنتی‌اکسیدانی خون می‌شود کاهش التهاب و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (۲۹ و ۳۰).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که اسیداسکوربیک در مقایسه با بیکربنات سدیم یا پلاسبو می‌تواند نقش موثرتری در پیشگیری از درجات خفیف (آسیب کلیوی حاد) شدید عارضه کلیوی (نارسایی حاد کلیوی) به دنبال جراحی قلب با بای پس قلبی روی داشته باشد. محدودیتهای مطالعه عبارت بودند از: محدودیتهای احتمالی مطالعه ما شاید تعداد کم بیماران مورد مطالعه، تنوع اعمال جراحی و محدوده سنی وسیع بیماران. لذا انجام مطالعه در حجم نمونه بالاتر، مقایسه بین دو گروه جراحی قلب با یا بدون بای پس قلبی-ریوی، محدوده سنی باریک‌تر، در بیماران با اختلال عملکرد قلبی یا کلیوی قبل از عمل، یکنواخت کردن عمل‌های جراحی، بررسی تأثیر میزان مصرف فرآورده‌های خونی در مرحله حین و بعد از عمل و بررسی تأثیر بازگشت مجدد به اتاق عمل برای کنترل خونریزی یا رفع کمپلیکاسیون شاید بتواند باعث کسب نتایج قابل تعمیم‌تری بشود.

قدردانی

این مطالعه از پایاننامه به شماره ۵۴/۵۰۰ به تاریخ تصویب ۱۳۹۴/۱/۲۲ برای دریافت دکترای پزشکی اقتباس شده است. نویسندگان بر خود واجب می‌دانند از زحمات دکتر صدرالدین رائی هاشمی بخاطر مشاوره‌های ارزنده و تمامی کادر اتاق عمل و بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید مدنی بخاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان در طول اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی بکنند.

منابع مالی

این مطالعه با حمایت مالی نسبی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و حمایت‌های لجستیکی مرکز تحقیقات قلب و عروق تبریز انجام گرفت.

پروفلاکتیک بیکربنات سدیم در پیشگیری از افزایش کراتینین بعد از جراحی هم‌خوانی دارد (۲۴) و نشان می‌دهد که استفاده از اسکوربیک اسید و بیکربنات سدیم تأثیری در تعداد موارد نیاز به دارو و فرآورده‌های خونی حین و بعد عمل جراحی قلب ندارد. از نظر مدت نیاز به تهویه مکانیکی و همچنین زمان بستری در ICU و بیمارستان تفاوت معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه وجود نداشت. در مطالعه Haase و همکاران نیز تفاوت معنی‌دار آماری بین این زمان‌ها در دو گروه دریافت‌کننده بیکربنات سدیم و پلاسبو وجود نداشت که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲۴). علی‌رغم این یافته‌ها Haase در کل استفاده از بیکربنات سدیم را آسان، بی‌خطر و مناسب دانستند. در مطالعه ما مرگ و میر وجود نداشت. از نظر عوارض غیر کلیوی، بروز آنها در گروه اسیداسکوربیک کمتر از گروه پلاسبو بود اما بین دو گروه اسیداسکوربیک و بیکربنات سدیم یکسان بود. این یافته تأیید می‌کند دریافت بیکربنات سدیم و اسکوربیک اسید در کنار تأثیر کلیوی بر عوارض غیرکلیوی نیز تأثیر دارند (۱۴) هر چند این تأثیر در اسیداسکوربیک بیشتر است. این یافته‌ها با نتایج مطالعات دیگر هم‌خوانی ندارد (۲۷-۲۵). در مطالعه حاضر میزان کراتینین سه گروه قبل از عمل یکسان بود اما در روز دوم بعد از عمل کراتینین در هر دو گروه اسیداسکوربیک و بیکربنات سدیم کمتر از گروه پلاسبو بود اما این اثر بیکربنات در روز پنجم بعد از عمل از بین رفت که نشان می‌دهد در حفاظت کلیوی اسیداسکوربیک موثرتر از بیکربنات سدیم می‌باشد. در تأیید یافته‌های ما Spargias و همکاران در بررسی اثر محافظتی اسیداسکوربیک خوراکی در پیشگیری از نفروپاتی ناشی از کتتراست حین آنژیوگرافی کرونری در بیماران با اختلال عملکرد قلبی کلیوی، آن را موثر گزارش کردند (۱۳). مطالعه Haase و همکاران نیز نشان داد که استفاده از بیکربنات سدیم در جلوگیری از افزایش کراتینین بعد از جراحی قلب نقش موثری دارد که با مطالعه ما هم‌خوانی دارد (۱۴). میزان فیلتراسیون گلوبولی بعد از عمل بین سه گروه تفاوتی نداشت و فقط به صورت تاخیری در گروه اسید اسکوربیک (روز پنجم) بیشتر از گروه پلاسبو بود. این یافته‌ها هماهنگ با مطالعه Spargias (۱۳) و همکاران و در تناقض با مطالعه Haase و همکاران می‌باشد (۱۴). در نهایت بعنوان هدف اصلی مطالعه در گروه اسید اسکوربیک بروز چه آسیب حاد کلیوی و چه نارسایی حاد کلیوی به صورت معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود. هرچند هیچ کدام از بیماران نیازی به حمایت دیالیزی نداشتند. نتایج این پژوهش با مطالعه Spargias و همکاران در مورد موثر بودن اسکوربیک اسید در پیشگیری از نارسایی حاد کلیه (۱۳) و همچنین مطالعات دیگر در مورد بی تأثیر بودن تجویز پروفلاکتیک بیکربنات سدیم در پیشگیری از نارسایی حاد کلیه هم‌خوانی دارد (۲۷-۲۵) اما با مطالعه Hasse و همکاران که نشان داد انفوزیون بیکربنات سدیم در حین جراحی قلب میزان بروز

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه پس از اخذ تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز (با کد ۹۳۱۸۵ به تاریخ ۹۲/۱۱/۲۳) انجام گرفت و از تمامی بیماران رضایت‌نامه آگاهانه کتبی دریافت گردید. ضمناً این مطالعه با کد IRCT201409091127N3 در سایت مطالعات بالینی ایران (www.irct.ir) ثبت و تایید گردیده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مولفان

ع ب در طراحی، اجرا و تحلیل داده‌ها و تالیف مقاله، س ف در طراحی، اجرا و تحلیل داده‌ها و تالیف مقاله، ف م در طراحی، تحلیل داده‌ها و تالیف مقاله و س ب در طراحی، اجرا و تالیف مقاله شرکت داشتند. تمامی مولفین نسخه نهایی را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

1. Zarbock A, Schmidt C, Van Aken H, Wempe C, Martens S, Zahn P K, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on kidney injury among high-risk patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Jama*. 2015; **313**(21): 2133-2141. doi: 10.1001/jama.2015.4189.
2. Wijesundera DN, Karkouti K, Beattie WS, Rao V, Ivanov J. Improving the identification of patients at risk of postoperative renal failure after cardiac surgery. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 2006; **104**(1): 65-72. doi: 10.1097/0000542-200601000-00012
3. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann L M, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *Journal of the American Society of Nephrology* 2004; **15**(6): 1597-1605.
4. Ryckwaert F, Boccard G, Frappier J-M, Colson PH. Incidence, risk factors, and prognosis of a moderate increase in plasma creatinine early after cardiac surgery. *Critical Care Medicine* 2002; **30**(7): 1495-1498.
5. Moss E, Lamarche Y. *Acute kidney injury following cardiac surgery: prevention, diagnosis, and management*. Intech Open Access Pub; 2012.
6. Bellomo R, Auriemma S, Fabbri A, D'onofrio A, Katz N, McCullough P, et al. The pathophysiology of cardiac surgery-associated acute kidney injury (CSA-AKI). *The International Journal of Artificial Organs* 2008; **31**(2): 166-178.
7. Pieri M, Belletti A, Monaco F, Pisano A, Musu M, Dalessandro V, et al. Outcome of cardiac surgery in patients with low preoperative ejection fraction. *BMC Anesthesiology* 2016; **16**(1): 97. doi: 10.1186/s12871-016-0271-5
8. Vives M, Wijesundera D, Marczin N, Monedero P, Rao V. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 2014; ivu014. doi: 10.1093/icvts/ivu014
9. Zager R A, Gamelin L. Pathogenetic mechanisms in experimental hemoglobinuric acute renal failure. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 1989; **256**(3): F446-F455.
10. Abelha F J, Botelho M, Fernandes V, Barros H. Determinants of postoperative acute kidney injury. *Critical Care* 2009; **13**(3): R79. doi: 10.1186/cc7894
11. Goren O, Matot I. Perioperative acute kidney injury. *British Journal of Anaesthesia* 2015; **115**suppl 2: ii3-ii14. doi: 10.1093/bja/aev380
12. Tepel M, Van Der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *New England Journal of Medicine* 2000; **343**(3): 180-184. doi: 10.1056/NEJM20000720343030
13. Spargias K, Alexopoulos E, Kyrzopoulos S, Iacovis P, Greenwood DC, Manginas A, et al. Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *Circulation* 2004; **110**(18): 2837-2842. doi:10.1161/01.CIR.0000146396.19081.73
14. Haase M, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, et al. Sodium bicarbonate to prevent increases in serum creatinine after cardiac surgery: a pilot double-blind, randomized controlled trial. *Critical Care Medicine* 2009; **37**(1): 39-47. doi: 10.1097/CCM.0b013e318193216f
15. Levine G N, Frei B, Koulouris S N, Gerhard M D, Keaney J F, Vita J A. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; **93**(6): 1107-1113.
16. Rear R, Bell R M, Hausenloy D J. Contrast-induced nephropathy following angiography and cardiac interventions. *Heart* 2016; **2014**: 306962. doi: 10.1136/heartjnl-2014-306962
17. Bellomo R, Kellum J, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care*

- Medicine* 2004; **30**(1): 33-37. doi: 10.1007/s00134-003-2078-3
18. Chau C H, Williams D O. Prevention of contrast-induced renal failure for the interventional cardiologist. *Circulation: Cardiovascular Interventions* 2016; **9**(6): e004122.
 19. Mei M, Zhao H-W, Pan Q-G, Pu Y-M, Tang M-Z, Shen B-B. Efficacy of N-Acetylcysteine in Preventing Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Meta-Analysis Study. *Journal of Investigative Surgery* 2017; **12**: 1-10. doi: 10.1161/circinterventions.116.004122
 20. Zurovsky Y, Eligal Z, Grossman S. Unilateral renal ischemia reperfusion in the rat: effect of blood volume trapped in the kidney, sucrose infusion, and antioxidant treatments. *Experimental and Toxicologic Pathology* 1995; **47**(6): 471-478. doi: 10.1016/S0940-2993(11) 80 330-1
 21. Palomba H, De Castro I, Neto A, Lage S, Yu L. Acute kidney injury prediction following elective cardiac surgery: AKICS Score. *Kidney International* 2007; **72**(5): 624-631. doi: 10.1038/sj.ki.5002419
 22. Anderson R J, Ray C J, Burke T J. Human red blood cell hemolysate is a potent mitogen for renal tubular epithelial cells. *Renal Failure* 2000; **22**(3): 267-281.
 23. Morita Y, Ikeguchi H, Nakamura J, Hotta N, Yuzawa Y, Matsuo S. Complement activation products in the urine from proteinuric patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000; **11**(4): 700-707.
 24. Haase M, Haase-Fielitz A, Plass M, Kuppe H, Hetzer R, Hannon C, et al. Prophylactic perioperative sodium bicarbonate to prevent acute kidney injury following open heart surgery: a multicenter double-blinded randomized controlled trial. *PLoS Med* 2013; **10**(4): e1001426. doi: 10.1371/journal.pmed.1001426.
 25. Cho J S, Soh S, Shim J-K, Kang S, Choi H, Kwak Y-L. Effect of perioperative sodium bicarbonate administration on renal function following cardiac surgery for infective endocarditis: a randomized, placebo-controlled trial. *Critical Care* 2017; **21**(1): 3. doi: 10.1186/s13054-016-1591-z
 26. Soh S, Song J, Shim J, Kim J, Kwak Y. Sodium bicarbonate does not prevent postoperative acute kidney injury after off-pump coronary revascularization: a double-blinded randomized controlled trial. *British Journal of Anaesthesia* 2016; **117**(4): 450-457. doi: 10.1093/bja/aew 256
 27. Kim J H, Kim H J, Kim J Y, sik Ahn H, Ahn I M, Choe W J, et al. Meta-analysis of sodium bicarbonate therapy for prevention of cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 2015; **29**(5): 1248-1256.
 28. Mueller C, Buerkle G, Buettner H J, Petersen J, Perruchoud A P, Eriksson U, et al. Prevention of contrast media-associated nephropathy: randomized comparison of 2 hydration regimens in 1620 patients undergoing coronary angioplasty. *Archives of Internal Medicine* 2002; **162**(3): 329-336.
 29. Johnston C S, Meyer C G, Srilakshmi J. Vitamin C elevates red blood cell glutathione in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1993; **58**(1): 103-105.
 30. Yan H, Wang H, Zhang X, Li X, Yu J. Ascorbic acid ameliorates oxidative stress and inflammation in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2015; **8**(11): 20245.

Original Article

Hearing loss in Iranian children with cystic fibrosis

Mandana Rafeey¹, Yalda Jabbari Moghaddam^{2*}, Saman Rezaeeyan

Children's Health Research Center, Children Hospital, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: Yj_moghaddam@yahoo.com

Received: 31 February 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):30-35

Abstract

Background: Cystic fibrosis is the most common genetic disease in white populations. Regard to chronic obstructive pulmonary disease and exocrine glands disorders, increased risk of hearing loss in these patients should be considered.

Methods: In this descriptive study, 47 children with cystic fibrosis selected and For all of patients, complete ear, mouth, throat and nose examinations and audiometric tests and assessment of hearing loss (conductive, sensorineural and mixed) and tympanometric test was performed. Hearing loss defined as decreased hearing from normal, more than 15 db in two frequencies or more than two frequencies between 250 HZ to 8000 HZ.

Results: Audiometric tests show that overall prevalence of hearing loss was 17.02 %, 10.6 % was sensorineural and 6.4% conductive.

Conclusion: This study revealed that there was high prevalence of hearing loss, which makes cystic fibrosis patients in high risk group which needs periodic assessment by an otolaryngologist.

Keyword: Cystic Fibrosis, Children, Hearing Loss, Conductive, Sensorineural.

How to cite this article: Rafeey M, Jabbari Moghaddam Y, Rezaeeyan S. [Hearing loss in Iranian children with cystic fibrosis.]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):30-35. Persian.

مقاله پژوهشی

کاهش شنوایی در کودکان ایرانی مبتلا به سیستمیک فیبروزیس

ماندانا رفیعی^{ID}، یلدا جباری مقدم^{ID}، سامان رضائیانمرکز تحقیقات سلامت کودکان، بیمارستان کودکان تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: Yj_moghaddam@yahoo.comدریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۳۰-۳۵

چکیده

زمینه: سیستمیک فیبروزیس شایع ترین بیماری ژنتیکی سفیدپوستان است. در کنار بیماری ریوی انسدادی مزمن و اختلال غدد اگزوکراین، خطر افزایش یافته کاهش شنوایی در این بیماران باید مد نظر قرار گیرد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی ۴۷ کودک مبتلا به سیستمیک فیبروزیس انتخاب شده و تحت معاینه کامل گوش و دهان و گلو و بینی و انجام تست های شنوایی و ارزیابی کاهش شنوایی (هدایتی، حسی عصبی یا هر دو) و ارزیابی تست تمپانومتري قرار گرفتند. کاهش شنوایی به صورت افت شنوایی از سطح نرمال بیشتر از ۱۵ دسی بل در دو فرکانس متوالی یا بیشتر بین فرکانس های ۲۵۰ هرتز تا ۸۰۰۰ هرتز در نظر گرفته شد.

یافته ها: بر اساس تست های شنوایی، فراوانی کلی کاهش شنوایی ۱۷/۰۲ درصد بود که ۱۰/۶ درصد از نوع حسی عصبی و ۶/۴ درصد از نوع هدایتی بود. **نتیجه گیری:** این مطالعه فراوانی بیشتر کاهش شنوایی را در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس نشان داد. این بیماران در گروه پرخطر از نظر کاهش شنوایی هستند و نیاز به بررسی های دوره ای توسط یک متخصص گوش و حلق و بینی دارند.

کلید واژه ها: سیستمیک فیبروزیس، کودکان، کاهش شنوایی، هدایتی، حسی عصبی

نحوه استناد به این مقاله: رفیعی م، جباری مقدم ی، رضائیان س. کاهش شنوایی در کودکان ایرانی مبتلا به سیستمیک فیبروزیس. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۳۰-۳۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپیروایت (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

سیستیک فیروزیس شایع ترین بیماری ژنتیکی سفیدپوستان با بروز یک در هر ۲۵۰۰ تولد زنده و توارث اتوزوم غالب می باشد (۱و۲). اختلال اصلی در این بیماری اختلال غدد اگزوکرین می- باشد که در ریه منجر به اختلال ویسکوزیته موسین و اختلال پاکسازی موکوسیلیاری و بیماری ریوی انسدادی مزمن می شود. درگیری سایر ارگان ها مثل پانکراس و غدد عرق و مجاری صفراوی کبدی نیز در این بیماری وجود دارد (۳-۵).

در کنار فراوانی بالای رینوسینوزیت مزمن و درگیری سینوس ها در این بیماری، باید توجه ویژه ای به کاهش شنوایی در این بیماران داشت. در بعضی از مطالعات چندین عامل جهت افزایش خطر کاهش شنوایی در این بیماران گزارش شده است. پاتولوژی گوش میانی ناشی از فیزیوپاتولوژی بیماری سیستیک فیروزیس، درگیری مخاطی و ساختارهای گوش میانی، درگیری کوکلتا و سلول های مویی شنوایی و عوارض دارویی از جمله این عوامل هستند. بیماران مبتلا به سیستیک فیروزیس جهت درمان بیماری های راه هوایی اغلب تحت درمان با آنتی بیوتیک های مختلف از جمله آمینوگلیکوزیدها قرار می گیرند. بنابراین این بیماران مستعد ابتلا به کاهش شنوایی ناشی از عوارض این داروها هستند. بعضی از مطالعات خطر بالای کاهش شنوایی حسی عصبی ناشی از عوارض دارویی و سایر علل را در این بیماران نشان داده است (۹-۶).

در ایران در مورد بیماری سیستیک فیروزیس تحقیقات معدودی انجام شده است. به علت عدم وجود سیستم ثبت بیماری در مورد نوزادان و در دسترس بودن محدود تست های تشخیصی و نیز به علت شرایط اقتصادی و اجتماعی در بعضی مناطق، آمار دقیق از شیوع و بروز این بیماری در کشور وجود ندارد. تاکنون چندین مطالعه جهت بررسی ژنتیک این بیماری در ایران انجام شده که بر اساس این مطالعات اغلب بیماران ایرانی طیفی از جهش های هتروژن دارند و اکثراً هتروزیگوت مرکب از یک جهش شدید و یک جهش ملایم یا دو جهش ملایم هستند و به همین دلیل بیماران ایرانی فنوتیپ ملایم تری نسبت به بیماران کشورهای غربی دارند (۱۰-۱۲).

علی رغم مطالعات متعددی که در سایر کشورها در مورد تظاهرات اتولوژیک بیماری سیستیک فیروزیس انجام شده متأسفانه در کشور ما تا کنون مطالعه ای در این مورد انجام نشده است. با وجود تعداد زیاد بیماران تشخیص داده شده و با توجه به تفاوت های ژنتیکی و فنوتیپی و تفاوت احتمالی در رژیم های درمانی این بیماران در ایران با سایر کشورها، این مطالعه جهت بررسی فراوانی کاهش شنوایی در بیماران مبتلا به سیستیک فیروزیس طراحی و اجرا شده است.

روش کار

در این مطالعه Cross Sectional، ۴۷ کودک که بر اساس تست های استاندارد، مبتلا به سیستیک فیروزیس تشخیص داده شده اند و در بیمارستان کودکان تبریز تحت پیگیری می باشند، در یک بازه زمانی یک ساله به ترتیب شماره پرونده وارد مطالعه شدند. جهت همی بیماران از طریق تکمیل پرسشنامه، یافته های دموگرافیک، شکایت های شایع مربوط به گوش و حلق و بینی در بیماری سیستیک فیروزیس، سابقه ی کاهش شنوایی، جراحی گوش و استفاده از سایر داروهای اتوتوکسیک ثبت شد. همه کودکان تحت معاینه کامل گوش و دهان و گلو و بینی قرار گرفتند. در صورت انجام تست های شنوایی در گذشته، نتایج آن ثبت گردید و در صورت عدم انجام آن، جهت بیماران تست شنوایی متناسب با سن کودک انجام شد. به این صورت که کودکانی که سن کمتر داشته و قادر به انجام تست ادیومتری استاندارد نبودند، تحت انجام تست شنوایی استاندارد OAE قرار گرفتند. نتایج تست های شنوایی بر اساس میزان و نوع کاهش شنوایی (هدایتی، حسی عصبی یا هر دو) و تمپانومتري برای همی بیماران ثبت شد. کاهش شنوایی به صورت افت شنوایی از سطح نرمال بیشتر از ۱۵ دسی بل در دو فرکانس متوالی یا بیشتر بین فرکانس های ۲۵۰ تا ۸۰۰۰ در نظر گرفته شد. داده های به دست آمده از مطالعه، به روش آمار توصیفی (میانگین $\pm$ انحراف معیار، فراوانی و درصد)، با استفاده از آزمون فیشر برای مقایسه متغیرهای کیفی، آزمون Whitney mann u برای مقایسه متغیرهای کمی و آزمون کلموگروف برای نرمال بودن توزیع داده ها، مورد ارزیابی قرار گرفت.

معیارهای خروج از مطالعه:

هرگونه عدم قطعیت یا شک تشخیصی در مورد ابتلا به سیستیک فیروزیس

وجود هر بیماری مزمن همراه که همپوشانی علایم با بیماری سیستیک فیروزیس دارند.

عدم رضایت والدین برای ورود به مطالعه

یافته ها

۴۷ بیمار وارد مطالعه شدند. متوسط سن بیماران ۹/۳۸ سال ($SD = ۴/۲$) و متوسط وزن بیماران ۲۵/۳ کیلوگرم بود. ۴۰/۴ درصد بیماران دختر بودند. توزیع یافته های سن و وزن و جنس بیماران از توزیع نرمال تبعیت می کرد. هیچ یک از بیماران سابقه جراحی گوش، استفاده از سمعک، دفورمیتی لاله گوش و آترزی کانال گوش نداشتند.

در مطالعات فراوانی کاهش شنوایی بر اساس نوع طبقه بندی بر اساس ژنتیک یا اکتسابی، هدایتی یا حسی عصبی و نیز گروه بندی سنی، متفاوت بوده است. ضمناً در هر گروه اتیولوژی کاهش شنوایی نیز متفاوت می باشد (۱۴).

در مطالعه ما، فراوانی کلی کاهش شنوایی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس ۱۷/۰۲ درصد بود که ۱۰/۶ درصد از نوع حسی عصبی و ۶/۴ درصد از نوع هدایتی بوده است.

در بسیاری از مطالعات انجام شده در سایر کشورها، افزایش خطر کاهش شنوایی به ویژه از نوع حسی عصبی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس گزارش شده است (۱۵).

یکی از گزینه های درمانی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس استفاده از داروهای دسته آمینوگلیکوزیدها می باشد. اثرات اتوتوکسیک این داروها در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته و ثبت شده است (۱۷، ۱۶، ۶).

چندین مطالعه که به بررسی میزان کاهش شنوایی حسی عصبی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس پرداخته، خطر بیشتر کاهش شنوایی نوع حسی عصبی را در بیمارانی ذکر کرده اند که تحت درمان با داروهای آمینوگلیکوزید بوده اند (۱۹، ۱۸، ۷).

با این وجود در مورد افزایش خطر کاهش شنوایی در بیماری سیستمیک فیبروزیس هنوز بحث مطرح است به طوریکه در بعضی از مطالعات انجام شده، بررسی بیماری های گوش و وضعیت شنوایی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس، نتایج متضادی به همراه داشته است. بعضی از مطالعات افزایشی در بروز کاهش شنوایی هدایتی و حسی عصبی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس در مقایسه با جمعیت سالم گزارش نکردند (۲۱، ۲۰).

در مطالعه ای که در سال ۱۹۹۲ توسط Cipolli و همکاران انجام شد، افزایشی در بیماری های گوش در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس ذکر نشد (۲۲).

مطالعات انجام شده در زمینه بررسی میزان کاهش شنوایی از نظر نوع روش تشخیصی، نوع طبقه بندی گروه های سنی و جمعیت هدف آن ها، دارای تفاوت های اساسی و نتایج آن ها نیز متنوع بوده است که امکان مقایسه این مطالعات را محدود می سازد. ضمناً بسیاری از این مطالعات طیف سنی وسیعی را مورد بررسی قرار داده در صورتی که مطالعه ما فقط به بررسی جمعیت کودکان پرداخته است.

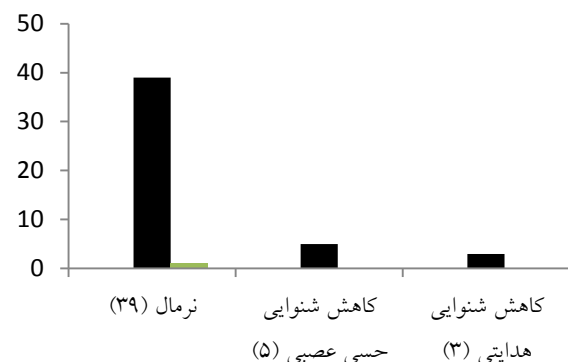
در چندین مطالعه که در کشور ما در زمینه بررسی فراوانی کاهش شنوایی در کودکان نرمال انجام شده، فراوانی کاهش شنوایی در کودکان سنین قبل از مدرسه در یک مطالعه ۹/۸ درصد (۵۹/۷ درصد هدایتی و ۴۰/۳ درصد حسی عصبی) و در مطالعه ای دیگر در کودکان دبستانی، کاهش شنوایی هدایتی در دخترها ۸/۸ درصد و در پسرها ۷/۱ درصد و کاهش شنوایی نوع حسی عصبی ۱ و

۵ بیمار (۱۰/۶ درصد) کاهش شنوایی از نوع حسی عصبی بیشتر از ۱۵ دسی بل در دو فرکانس یا بیشتر در فرکانس های ۲۵۰ تا ۸۰۰۰ داشتند.

۳ بیمار (۶/۴ درصد) در ادیومتری انجام شده، کاهش شنوایی از نوع هدایتی (وجود gap بین هدایت استخوانی و هدایت هوایی در ادیومتری با تون خالص) داشتند.

نمودار شماره ۱ نسبت فراوانی کاهش شنوایی به تفکیک نوع کاهش شنوایی را در جمعیت مورد مطالعه نشان می دهد.

در گروه مبتلا به کاهش شنوایی حسی عصبی حداکثر میزان افت شنوایی ۳۰ دسی بل و با میانگین ۲۶ دسی بل بود ($SD = ۴/۱$). میانگین کاهش شنوایی هدایتی ۲۳/۷۵ دسی بل ($SD = ۴/۷$) بود.



نمودار ۱: نسبت فراوانی انواع کاهش شنوایی در جمعیت مورد مطالعه

در بررسی آماری، ارتباط معناداری بین کاهش شنوایی با یافته هایی مثل سن، جنس، قد، وزن، وجود گرفتگی بینی، رینوره چرکی، اختلال خواب، خرخر شبانه، سردرد، تنفس با دهان باز، گرید تانسیل، ترشح پشت حلق و وجود پولیپ در معاینه، وجود نداشت.

همچنین بین کاهش شنوایی و شدت آن با یافته های مثبت در سی تی اسکن بینی و سینوس های پارانازال بیماران ارتباطی وجود نداشت. ۸۰ درصد از بیماران با کاهش شنوایی حسی عصبی و ۸۷/۲ درصد بیماران در گروه کاهش شنوایی هدایتی سابقه ای از مشکل شنوایی را در گذشته ذکر نمی کردند.

بحث

کاهش شنوایی در کودکان می تواند به صورت حسی عصبی، هدایتی یا ترکیبی از هر دو باشد. شدت آن از موارد خفیف تا شدید و عمیق متغیر است. همچنین می تواند به صورت یک طرفه یا دو طرفه، قرینه یا غیر قرینه بروز نماید. در بعضی از موارد کاهش شنوایی مادرزادی و سندرمیک و در بعضی دیگر اکتسابی می باشد. (۱۳)

سایر جنبه های بیماری سیستمیک فیبروزیس، در آینده ضروری به نظر می رسد.

قدردانی

بدین وسیله از ادیولوژیست های محترم، جناب آقای ناصر شادی و خانم آیدا آریا فر که در اجرای این مطالعه نقش و همکاری داشته اند تشکر و سپاسگزاری می شود.

ملاحظات اخلاقی

برای والدین همه کودکان مورد مطالعه، روند معاینه و پروسیجر مورد انجام به طور کامل و به زبان ساده توضیح داده شد. عوارض احتمالی هر یک از معاینات و اقدامات شرح داده شد و رضایت نامه کتبی آگاهانه اخذ گردید. بیماران و والدین آنها اجازه داشتند در صورت عدم تمایل در هر مرحله ای از طرح همکاری خود را قطع کنند بدون اینکه تداخلی در روند پیگیری و درمان آنها ایجاد شود. نمونه فرم رضایت نامه آگاهانه ضمیمه شده است.

شماره پایان نامه

۷/۲ - ۹۴/۳

منابع مالی

منابع مالی حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تحت شماره ۹۴-۱۸۰ از طرف مرکز تحقیقات سلامت کودکان بیمارستان کودکان تبریز صورت پذیرفته است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

ماندانا رفیعی و یلدا جباری مقدم و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. یلدا جباری مقدم همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را مطالعه و تایید کرده است.

۰/۷ درصد به ترتیب در پسرها و دخترها گزارش شده است (۲۴،۲۳).

با توجه به عدم وجود نتایج واحد و نیز با توجه به تنوع بازه سنی مطالعه ما (۱ تا ۱۸ سال با متوسط سن ۹/۳ سال)، امکان مقایسه آماری دقیقی وجود نداشت. در مطالعه ما میزان کاهش شنوایی نوع هدایتی ۶/۴ درصد بود. در مقایسه این میزان با مطالعات انجام شده قبلی در کشور ما و مطالعات سایر کشورها، بیشتر از کودکان سالم به نظر نمی رسد (۲۵).

لازم به ذکر می باشد، در مطالعه حاضر از ۳ کودک مبتلا به کاهش شنوایی نوع هدایتی، در ۲ کودک تمپانومتري انجام شده از نوع تیپ C بود که می تواند ناشی از وجود پاتولوژی دیگری غیر از بیماری سیستمیک فیبروزیس در بروز آن باشد که برای کودکان در این بازه سنی یافته ناشیایی نمی باشد.

اما میزان کاهش شنوایی حسی عصبی ۱۰/۶ درصد در مقایسه با آمارهای حاصل از کودکان سالم، بیشتر می باشد. در مطالعه Cheng و همکاران که در سال ۲۰۰۹ انجام شد، ۱۴ درصد از مبتلا به سیستمیک فیبروزیس این نوع کاهش شنوایی را داشتند در حالی که سایر مطالعات فراوانی ۲۸/۵ و حتی تا ۳۹ درصد را ذکر کرده- اند (۲۵، ۱۸، ۱۷).

یکی از عواملی که می تواند توجیه کننده بروز پایین تر نتایج مطالعه ما نسبت به موارد انجام شده در سایر کشورها باشد، جهش ژنتیکی و فنوتیپ ملایم تر بیماران ایرانی می باشد که می تواند نیاز آنها به درمان های دارویی از جمله آمینوگلیکوزیدها را محدود سازد (۱۲، ۱۱، ۱۰).

از محدودیت های مطالعه حاضر، عدم بررسی مدت زمان و تعداد دوره های تجویز داروهای اتوتوکسیک، تعداد دفعات بستری بیمارستانی که احتمال دریافت داروهای آمینوگلیکوزید و ریدی را افزایش می دهد، می باشد.

در بررسی آماری انجام شده، وقوع کاهش شنوایی بدون ارتباط با سایر علائم و نشانه های بیماری سیستمیک فیبروزیس بوده است.

نتیجه گیری

کودکان مبتلا به بیماری سیستمیک فیبروزیس در خطر بیشتر ابتلا به کاهش شنوایی از نوع حسی عصبی می باشند که توصیه می گردد ویزیت های متعدد و دوره ای برای پیشگیری و درمان کاهش شنوایی، در این بیماران انجام گیرد. انجام مطالعات بیشتر در این زمینه جهت بررسی اتیولوژی کاهش شنوایی و ارتباط آن با

References

1. Cutting G R. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet* 2015; 16(1): 45-56. doi: 10.1038/nrg3849
2. Ehre C, Ridley C, Thornton D J. Cystic fibrosis: An inherited disease affecting mucin-producing organs. *The International Journal of Biochemistry & Cell*

- Biology* 2014; **52**: 136-145. doi: 10.1016/j.biocel.2014.03.011
3. Kerrebijn J D F, Poublon R M L, Overbeek S E. Nasal and paranasal disease in adult cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 1992; **5**: 1239-1242.
4. Kang SH, Dalcin P T, Piltcher O B. Chronic rhinosinusitis and nasal polyposis in cystic fibrosis: update on diagnosis and treatment. *J Bras Pneumol* 2015; **41**(1): 65-76. doi: 10.1590/s1806-37132015000100009
5. Robertson J M, Friedman E M, Rubin B K. Nasal and sinus disease in cystic fibrosis. *Pediatric Respiratory Reviews* 2008; **9**: 213-219. doi: 10.1016/j.prrv.2008.04.003
6. Mulberin D, Fahy J, Grant W, Keogan M, Kavangh B, FitzGerald M. Aminoglycoside Induced ototoxicity in Patients with Cystic Fibrosis. *I.J.M.S* 1991; **160**(6): 173-175. doi: 10.1007/bf02961666
7. Cheng A, Johnston P, Luz J, Uluer A, Fligor B. Sensorineural hearing loss in patients with cystic fibrosis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2009; **141**: 86-90. doi: 10.1016/j.otohns.2009.03.020
8. Pauna H, Monsanto R, Kurata N, Paparella M, Cureoglu S. Changes in the inner ear structures in cystic fibrosis patients. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2017; **92**: 108-114 doi: 10.1016/j.ijporl.2016.11.013
9. Steyger P, Garinic A. Hearing Loss Risk Factors for Cystic Fibrosis Patients. *The Hearing Journal* 2016; **12**: 8-9. doi: 10.1097/01.hj.0000481806.21204.6b
10. Alibakhshi R, Kianishirazi R, Cassiman J. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: Identification of eight novel mutations. *Journal of Cystic Fibrosis* 2008; **7**: 102-109. doi: 10.1016/j.jcf.2007.06.001
11. Bonyadi M, Omrani O, Rafeey M, Bilan N. Spectrum of CFTR gene mutations in Iranian Azeri Turkish patients with cystic fibrosis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011; **15**(1-2): 89-92 doi: 10.1089/gtmb.2010.0091
12. Azmoun S, Omrani O, Jabbarpour Bonyadi M, Rafeey M, Bilan N, Ansarin kh. Analysis of cftr gene in Cystic Fibrosis patients in the North-west Population. *Medical journal of Tabriz university* 2008; **30**(1): 7-13.
13. Brookhouser P. Sensorineural Hearing Loss in Children. *Pediatric otolaryngology* 1996; **43**(6): 1195-1216. doi: 10.1016/s0031-3955(05)70514-9
14. Smith R, Bale J, White K. Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 2005; **365**: 879-890 doi: 10.1016/s0140-6736(05)71047-3
15. Tarshish Y, Huang L, Edwards J, Fligor B, Wilkins A, Ulcer A, et al. Risk Factors for Hearing Loss in Patients with Cystic Fibrosis. *J Am Acad Audiol* 2016; **27**: 6-12.
16. Selimoglu E. Aminoglycoside-Induced Ototoxicity. *Current Pharmaceutical Design* 2007; **13**: 119-126. doi: 10.2174/138161207779313731
17. Brummett R, Fox K. Aminoglycoside-Induced Hearing Loss in Humans. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1989; **33**(6): 797-800. doi: 10.1128/aac.33.6.797
18. Piltcher O B, Teixeira V N, Oliveira M W. The prevalence of neurosensory hearing loss among cystic fibrosis patients from Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2003; **67**: 939-941. doi: 10.1016/s0165-5876(03)00135-6
19. Sih T, Godinho R, Franco L P, Piltcher O. Cystic Fibrosis: Brazilian ENT Experience. *International Journal of Otolaryngology* 2012; **12**: 1-7. doi: 10.1155/2012/204696
20. Forman-Franco B, Abramson A I, Gorvoy J, Stein T. Cystic Fibrosis and Hearing Loss. *Arch Otolaryngology* 1979; **105**: 338-342. doi: 10.1001/archotol.1979.00790180036007
21. Bak-Pederson K, Larsen P K. Inflammatory Middle Ear Diseases in Patients with Cystic Fibrosis. *Acta Otolaryngology* 1979; **360**: 138-140. doi: 10.3109/00016487809123499
22. Cipolli M, Canciani M, Cavazzani M, Uras P, Zampieri P, Mastella G. Ear disease is not a common complication in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1993; **152**: 265-266. doi: 10.1007/bf01956160
23. Sarafraz M, Hekmat-Shoar M, Zaheri S. Determination of Hearing Loss Prevalence in Preschool Children of Ahwaz. *Iranian Journal of Otorhinolaryngology* 2011; **3**(23): 75-78.
24. Absalan A, Pirasteh I, Khavideki G A, Asemi Rad A, Esfehiani A A, Nilforosh M H. A Prevalence Study of Hearing Loss among Primary School Children in the South East of Iran. *International Journal of Otolaryngology* 2013; 1-5. doi: 10.1155/2013/138935
25. Forcucci R, Stark E W. Hearing Loss, Speech-Language, and Cystic Fibrosis. *Arch Otolaryngology* 1972; **96**: 361-364. doi: 10.1001/archotol.1972.00770090537012

Original Article

The effects of eight weeks anaerobic interval training on serum levels of resistin and vaspin and insulin resistance in obese men with type-2 diabetes

Morteza Salimi Avansar 

Department of Physical Education and Sport Sciences, Urmia University of Technology, Urmia, Iran

*Corresponding author; E-mail: m.salimi@uut.ac.ir

Received: 5 April 2017 Accepted: 18 July 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):36-46

Abstract

Background: Increased secretion of Resistin impaired the insulin function and glucose metabolism, and also Vaspin had an impact on insulin resistance and can play an anti-inflammatory role. This study aimed to investigate the effects of eight weeks anaerobic interval training on serum levels of Resistin and Vaspin and Insulin Resistance.

Methods: This quasi-experimental study included obese men with type-2 diabetes that 28 people of them were selected and divided into two group Control and Experimental (n=14). The experimental group performed anaerobic interval exercises for 8 weeks, 3 sessions per week. The blood samples were collected from all the subjects before and after 8 weeks. The assumptions of homogeneity of the slope of the regression line and also the linearity of the relationship between the scores before and after the practice is used and after the confirmation, Covariance analysis test is used (The significance level was considered $p \leq 0/05$).

Results: The anaerobic interval training has significantly reduce Vaspin ($p = <0.0001$, $f=43.243$), Resistin ($p = <0.0001$, $f=40.957$) and Insulin Resistance ($p = <0.001$, $f= 52.024$).

Conclusion: The anaerobic interval training by weight loss and body fat percentage reduction, leading to significant reduction in serum Resistin and Vaspin and also Insulin resistance, therefore it can be used as a complementary therapy for obese patients and patients with type-2 diabetes.

Keyword: Interval training, Resistin, Vaspin, Insulin resistanc.

How to cite this article: Salimi Avansar M. [The effects of eight weeks anaerobic interval training on serum levels of Resistin and Vaspin and Insulin Resistance in Obese Men with type-2 diabetes.]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):36-46. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی بی هوازی بر رزیستین و واسپین سرمی و مقاومت به انسولین در مردان چاق مبتلا به دیابت نوع ۲

مرتضی سلیمی آوانسر^{id}گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: m.salimi@uut.ac.irدریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۳۶-۴۶

چکیده

زمینه: افزایش ترشح رزیستین سبب اختلال در عملکرد انسولین و متابولیسم گلوکز شده و واسپین نیز بر مقاومت به انسولین تأثیرگذار بوده و می تواند نقش ضد التهابی داشته باشد. از این رو تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی بی هوازی بر رزیستین و واسپین سرمی و مقاومت به انسولین انجام شد.

روش کار: تحقیق نیمه تجربی حاضر شامل مردان چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ می باشد که ۲۸ نفر از آنها بصورت هدفمند انتخاب و بطور تصادفی به دو گروه ۱۴ نفری کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۳ جلسه تمرین تناوبی بی هوازی انجام دادند. از همه آزمودنی ها قبل و بعد از ۸ هفته اجرای تمرین تناوبی نمونه های خونی جمع آوری شد. ابتدا پیش فرض های همگن بودن شیب خط رگرسیون و همچنین خطی بودن رابطه بین نمرات قبل و بعد تمرین بررسی و پس از تایید از آزمون تحلیل کواریانس استفاده شد (سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد).

یافته ها: تمرین تناوبی بی هوازی باعث کاهش معنی دار میزان واسپین ($P < 0/0001$ و $f = 43/243$)، رزیستین ($P < 0/0001$ و $f = 40/957$) و مقاومت به انسولین ($P < 0/0001$ و $f = 52/024$) شده است.

نتیجه گیری: انجام تمرینات تناوبی بی هوازی همراه با کاهش وزن و درصد چربی بدن، منجر به کاهش معنی دار رزیستین و واسپین سرمی و همچنین مقاومت به انسولین می شود، بنابراین می تواند به عنوان یک روش درمانی مکمل برای افراد چاق و بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مورد توجه قرار گیرد.

کلید واژه ها: تمرین تناوبی، رزیستین، واسپین، مقاومت به انسولین

نحوه استناد به این مقاله: سلیمی آوانسر م. تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی بی هوازی بر رزیستین و واسپین سرمی و مقاومت به انسولین در مردان چاق مبتلا به دیابت نوع ۲. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۳۶-۴۶

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

امروزه چاقی و بیماریهای ناشی از آن یکی از مشکلات شایع در جوامع مختلف است، از این رو شناسایی تأثیرات مثبت فعالیت ورزشی بر متابولیسم در هر دو سطح مولکولی و بالینی به یکی از موضوعات مورد علاقه محققان تبدیل شده است. اگرچه مزایای استفاده از تمرین مناسب به منظور بهبود و درمان غیردارویی بیماریهای متابولیک و قلبی عروقی به خوبی نشان داده شده است، با وجود این مکانیسم هایی که تمرین از طریق آنها اثرات مثبت خود را اعمال می کند، هنوز به خوبی شناخته شده نیست.

امروزه مشخص شده است که بافت چربی یک ارگان اندوکرین مهم است که تعدادی آدیپوکین فعال بیولوژیک، از جمله رزیستین و واسپین را ترشح می کند (۱). رزیستین آدیپوکینی است که در پاتوفیزیولوژی چاقی و مقاومت انسولینی مؤثر است. رزیستین در انسان روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد و به صورت پلی پپتیدی اولیه از ۱۰۸ اسید آمینه، ساخته شده و متعلق به خانواده ای با انتهای کربوکسیل غنی از سیستمین به نام مولکول های شبه رزیستینی (REL: Resistin-like molecules) یا پروتئین موجود در نواحی التهابی (FIZZ: Found in inflammatory zones) است و اغلب در ذخایر چربی شکمی سنتز می شود. این هورمون ابتدا به صورت mRNA جدا بیان و سپس مشخص شد که بیان آن توسط آگونیست های گیرنده های فعال کننده تکثیر پراکسی زوم (PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor) سرکوب می شود (۲). افزایش ترشح رزیستین سبب اختلال در عمل انسولین و متابولیسم گلوکز شده و به عنوان یک رابط مهم بین مقاومت به انسولین و چاقی عمل می کند. در افراد دیابتی و چاق سطح این هورمون بالاست. افزایش رزیستین، انتقال گلوکز وابسته به انسولین را کاهش می دهد که نهایتاً به افزایش مقاومت انسولین منجر می شود، در حالی که مصرف آنتی بادیهای ضد رزیستین ظرفیت انتقال گلوکز به وسیله انسولین را افزایش می دهند (۳). در برخی مطالعات عنوان شده است بیان رزیستین با عواملی همچون افزایش اسید چرب سرم و تری گلیسرید عضلات، اختلال متابولیسم گلوکز اسکلتی-عضلانی و عدم تحمل قند همراه است. رزیستین همچنین از طریق اختلال در متابولیسم گلوکز و لیپید موجب افزایش خطر آترواسکلروز می شود. بیان رزیستین در آدیپوسیت ها در حالت ناشتا کاهش و با تغذیه افزایش می یابد (۴). برخی تحقیقات انجام گرفته روی انسان نشان می دهد که سطوح بالای رزیستین سرم با چاقی همراه است، ولی برخی دیگر، این مطلب را تأیید نکردند.

واسپین (سرپین مشتق شده از بافت چربی احشایی) مولکولی از خانواده آدیپوکین هاست که نخستین بار در سال ۲۰۰۵ به عنوان نوعی آدیپوکین در موشهای دارای بیماری دیابت نوع دو (OLETF: Otsuka Long-Evans Tokushima fatty)

داده شد و ترکیبی از ۳۹۲-۳۹۵ اسید آمینه می باشد. واسپین با عوامل خطر ساز متابولیک ارتباط داشته، بر مقاومت به انسولین تأثیرگذار بوده و می تواند نقش ضد التهابی داشته باشد (۵). همچنین بیان واسپین در بافت های بدن به مقدار متفاوتی اتفاق می افتد، به طوری که بیشترین مقدار واسپین در بافت چربی سفید مشاهده شد. تغییرات سرمی واسپین، به رژیم غذایی، فعالیت بدنی، تغییرات هورمونی، کنترل متابولیک و توده ی چربی بستگی دارد. بیان احشایی واسپین با نمایه ی توده ی بدن و درصد چربی بدن رابطه دارد. برخی تحقیقات گزارش کرده اند که در انسان های دارای متابولیسم طبیعی گلوکز، واسپین سرم به طور معنی داری رابطه منفی با نمایه توده بدن دارد (۶). همچنین، یافته های یک مطالعه ی مقطعی وجود یک دیمورفیسم جنسی (Sexual Dimorphism) را پیشنهاد نمود؛ به طوری که سطح واسپین موجود در جریان خون زنان بیشتر از مردان می باشد (۷). مطالعات نشان داده که آزمودنی های چاق و افرادی که در معرض ابتلا به دیابت (مرحله پیش دیابت) قرار دارند، دارای بیشترین مقدار غلظت واسپین هستند، با وجود این در مرحله دیابتی شدن مقدار غلظت واسپین همراه با کاهش وزن بدن کم می شود (۵). در مجموع میتوان گفت بیان ژن واسپین با پیشرفت دیابت و کاهش وزن، کاهش می یابد و غلظت واسپین خون در بیماران دیابتی چاق و غیر چاق زیاد است. بیان ژن واسپین در افراد لاغر مشاهده نشده است.

مقاومت به انسولین یکی از ویژگی های اصلی دیابت نوع ۲ است و بیشتر به چاقی نسبت داده می شود. ورزش و فعالیت بدنی نیز ابزار درمانی غیر دارویی قدرتمندی برای کاهش چاقی و پیشگیری از اضافه وزن است که در تعدیل مقاومت به انسولین مؤثر می باشد (۸). با وجود فواید سلامتی بالقوه و بسیار تمرینات استقامتی بلند مدت، بسیاری از بزرگسالان به علت نداشتن زمان کافی به عنوان یک مانع مهم در این تمرین ها شرکت نمی کنند. بنابراین مطالعه ی یک برنامه ی فعالیت ورزشی جایگزین با سازگاری های متابولیکی مشابه و بدون تعهد زمانی قابل ملاحظه مورد نیاز می باشد. یکی از این پروتکل های فعالیت های ورزشی که به تازگی مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته، تمرینات ایتروال است که شامل تناوب های فعالیت ورزشی معمولاً با شدت زیاد و وهله های استراحتی فعال با شدت پایین می باشد. این تمرینات یک مدل بسیار کارآمد تمرین ورزشی به لحاظ زمانی بوده و بسیاری از سازگاری های متابولیکی با تمرین استقامتی و منظم را تحریک می کند. در همین راستا Jelleyman و همکاران اثر تمرین تناوبی شدید را بر میزان مقاومت به انسولین آزمایش نمودند که یافته ها بیانگر کاهش مقاومت به انسولین در آزمودنی ها بود (۹).

ورزشی بر آنها آشکار نشده و نیازمند مطالعات بیشتر است. بنابراین با توجه به اطلاعات موجود، مبنی بر ارتباط کاهش بافت چربی با کاهش رزیستین و همچنین تأثیر مثبت تمرینات تناوبی با شدت بالا بر کاهش چربی بدن و پژوهش های مشابه بسیار اندکی که در این زمینه صورت گرفته و همینطور بدلیل اینکه تأثیر فعالیت بدنی بر واسپین کمتر بررسی شده و هنوز نقش فعالیت بدنی بخصوص تمرینات تناوبی با شدت بالا صرف نظر از کاهش یا عدم تغییر وزن بدن مشخص نشده است. از این رو هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین ایتروال بی هوازی بر میزان سطوح سرمی رزیستین و واسپین و همچنین شاخص مقاومت به انسولین در مردان چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ می باشد.

روش کار

مطالعه حاضر کاربردی و روش تحقیق از نوع نیمه تجربی با دو گروه (کنترل و تجربی) است. آزمودنی های این مطالعه را ۲۸ مرد چاق مبتلا به بیماری دیابت نوع ۲ (میانگین سنی 55 ± 6 سال، میانگین نمایه توده ی بدنی 31.2 ± 1.9 کیلوگرم بر مترمربع و میانگین قند خون ناشتا 148.21 ± 16.6 میلی گرم بر دسی لیتر) تشکیل دادند که به روش نمونه گیری در دسترس و هدفمند انتخاب شده و بصورت تصادفی به دو گروه تجربی و کنترل ($n=14$) تقسیم شدند. در جلسه ی هماهنگی، هدف ها و مراحل پژوهش تشریح و رضایت نامه ی شرکت در پژوهش و پرسشنامه ی آمادگی شرکت در فعالیت بدنی (PAR-Q) در اختیار آنها قرار گرفت که خوشبختانه همگی بر اساس رتبه بندی انجمن پزشکی ورزشی آمریکا (ACSM) در رده ی کم خطر قرار گرفتند. اصلی ترین معیارهای انتخاب و شرکت آزمودنی ها در این مطالعه، شاخص توده بدنی بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع (چاقی) آزمودنی های تحقیق حاضر به کم کاری غده تیروئید ارتباط نداشت که این موضوع با بررسی آزمایشها و علائم بالینی بررسی شد، میزان قند خون ناشتا $140-200$ میلی گرم بر دسی لیتر، نداشتن هرگونه عوارض بیماری دیابت (نوروپاتی، نفروپاتی، رتینوپاتی)، عدم شرکت منظم در فعالیت ورزشی منظم بیش از یک جلسه در هفته در طی ۶ ماه گذشته، نداشتن فشارخون بالاتر از $140/90$ میلیمتر جیوه و داشتن بیشتر از یک سال سابقه ابتلا به دیابت بود. تمامی نکات مربوط به تغذیه، نوشیدن آب و فعالیت بدنی که آزمودنی ها در دوره ی پیش آزمون، پس آزمون و در طول دوره تمرینات باید رعایت کنند در اختیارشان قرار گرفت. دریافت رژیم غذایی در مدت پژوهش با استفاده از پرسشنامه ی ۲۴ ساعته ی یاد آمد خوراک، کنترل شد. بدین صورت که از آزمودنی ها خواسته شد کلیه خوردنی ها و آشامیدنی های خود را در طول ۲۴ ساعت گذشته بیان کنند (۱۸) و برای یاد آوری دقیق تر به همه آزمودنی های پیمانه های یکسانی داده شد. این پرسشنامه برای هر

بر اساس اطلاعات موجود اکثر مطالعات انجام شده بر روی رزیستین مربوط به تمرینات مقاومتی و استقامتی بوده است. تعداد بسیار اندکی از پژوهش ها به بررسی تأثیر تمرین تناوبی بر سطوح رزیستین و حساسیت انسولینی مردان چاق پرداخته اند و نتایج بدست آمده نیز متناقض می باشند. Jamurtas و همکاران در مطالعه ای به بررسی اثر یک جلسه تمرین هوازی با شدت متوسط در مردان دارای اضافه وزن پرداختند و عدم تغییر سطوح سرمی رزیستین و افزایش حساسیت به انسولین را مشاهده نمودند (۱۰). Jamurtas و همکاران در تحقیق خود روی زنان بزرگسال سالم نشان دادند که پس از یک جلسه تمرین حاد با شدت ۶۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی، رزیستین تنها دو روز پس از تمرین به طور معنی داری افزایش یافت (۱۱). Youn و همکاران افزایش سطوح سرمی واسپین همراه با چاقی را گزارش کردند. براساس این پژوهش فعالیت بدنی در افراد تمرین نکرده به طور پارادوکس به افزایش سطوح سرمی واسپین همراه با کاهش وزن منجر شده بود که این افزایش موقتی را به عنوان یک سازوکار جبرانی معرفی کردند که اگر تمرین مدت بیشتری ادامه یابد، ممکن است به کاهش واسپین منجر شود (۱۲). در مطالعه ای دیگر، Tan و همکاران نشان دادند که درمان با متفورمین به کاهش سطوح سرمی واسپین در زنان دچار اضافه وزن منجر شده بود، به علاوه بهبود حساسیت انسولینی نیز مشاهده شد (۱۳). از طرفی تمرینات هوازی منظم با شدت متوسط، با کاهش تحریک سمپاتیکی و افزایش آدیپوسایتوکاین های ضدالتهابی، میزان رهایش میانجی های التهابی - که در ابتلا به بیماریهای مزمن نقش مهمی دارند - از بافت چربی را مهار می کند و ممکن است این موضوع درباره واسپین نیز مورد تایید باشد. Kadoglou و همکاران گزارش کردند، انجام شش ماه تمرین هوازی با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب موجب افزایش سطح واسپین سرمی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو می گردد (۱۴). Safarzadeh و همکاران نیز نشان دادند چهار هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش واسپین موش های صحرایی و افزایش در موش های صحرایی دیابتی می گردد (۱۵). Kim Es و همکاران دوازده هفته فعالیت ورزشی را بی اثر بر واسپین (۱۶)، و Oberbach و همکاران کاهش واسپین را به وسیله ی فشار اکسایشی ناشی از فعالیت نشان دادند (۱۷).

برخی مطالعات انسانی نشان داده اند که به دلیل بیان اندک رزیستین در آدیپوسیت های انسانی، نقش آن به عنوان عامل مهم ارتباط دهنده چاقی با مقاومت به انسولین کاملاً مشخص نیست. زیرا پروتئین رزیستین به مقدار زیادی در مونوسیت های گردش خون انسان وجود دارد و احتمالاً از این سلول ها به درون سرم آزاد می شود. همچنین در زمینه تأثیر تمرین با شدت بالا بر مقادیر رزیستین پلاسما تحقیقات اندک گذشته به نتایج کاملاً متناقضی (افزایش، کاهش و عدم تغییر) رسیده اند که هنوز تأثیر فعالیت

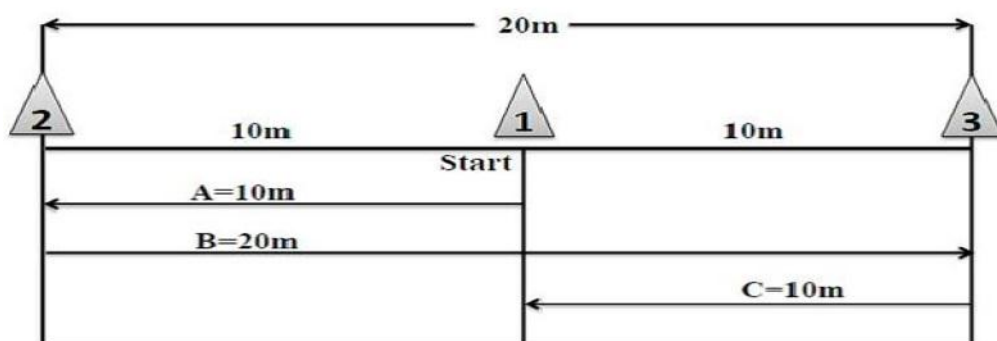
یک از آزمودنی ها در ۱۲ نوبت (هر هفته یک بار) تکمیل شد. مقادیر ذکر شده غذاها با استفاده از راهنمای مقیاس خانگی به گرم تبدیل شد (۱۸). سپس هر غذا کدگذاری شد و کارشناس تغذیه آنان را تجزیه و تحلیل کرد.

در این تحقیق برای ارزیابی ترکیبات بدن به ترتیب طول قد آزمودنی ها با قدسنج Seca217 (ساخت کشور آلمان) با حساسیت ۱ میلی متر، وزن بدن از ترازوی دیجیتالی Seca با دقت ۰/۱ کیلوگرم و درصد چربی بدن توسط دستگاه Body Composition Analyzer (InBody-570 ساخت کشور کره جنوبی) اندازه گیری شد. تمامی اندازه گیری ها در حالی انجام شدند که آزمودنی ها حداقل از چهار ساعت قبل از آزمون از خوردن و آشامیدن خودداری کرده بودند و حتی الامکان مثانه، معده و روده آن ها تخلیه شده بود. در این تحقیق در دو وهله نمونه های خونی پس از ۸-۱۲ ساعت ناشتایی به مقدار ۵ سی سی از سیاهرگ دست چپ هر آزمودنی در وضعیت نشسته و در حالت استراحت، ۲۴ ساعت پیش از شروع تمرینات و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین جمع آوری شد. تمامی نمونه گیری ها بین ساعات ۸ تا ۹/۳۰ صبح در آزمایشگاه پزشکی انجام شد. بلافاصله نمونه های خونی در لوله های محتوی EDTA ریخته شد. پس از سانتریفیوژ بمدت ۱۰ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور بر ثانیه، پلاسماي خون جداسازی و در میکروتیوب های مخصوص ریخته شد و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سطوح رزیستین پلاسما به روش الایزا با استفاده از کیت انسانی (USA/China, Boster) و با ضریب تغییرات ۵/۷ درصد و حساسیت اندازه گیری ۳ پیکوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. سطح واسپین سرمی نیز به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص نمونه های انسانی (Wuhan, China Cusabio Biothech) با ضریب تغییرات درونی ۷/۶ درصد و حساسیت ۴/۵ پیکوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. گلوکز خون با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون و به روش گلوکز اکسیداز و سطوح انسولین خون با روش الایزا و کیت انسانی (Merco upsala, سوئد) و با حساسیت ۱ میلی یونیت بر لیتر اندازه گیری شد. مقاومت به انسولین نیز با روش ارزیابی مدل همئوستازی (HOMA-IR) و بر اساس معادله زیر محاسبه شد: $HOMA-IR = \text{fasting glucose (mg/dl)} \times \text{fasting insulin} / 405$ ($\mu\text{IU/ml}$) ضربان قلب آزمودنی ها از طریق کمربندهای Polar که به دور سینه ی ورزشکاران بسته می شد، اندازه گیری گردید. برای محاسبه ی ضربان قلب بیشینه از فرمول تاناکا و

همکاران استفاده شد: $[(\text{سن} \times 0.7) - 20.8]$ آزمودنی های گروه تجربی در یک مسافت ۲۰ متری که توسط سه مخروط مشخص شده بود، پروتکل تمرینی را به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه به شرح زیر اجرا کردند (شکل ۱). با شروع پروتکل تمرینی، آزمودنیها با حداکثر سرعت از نقطه شروع (مخروط شماره یک) به طرف مخروط شماره دو دویدند (مسیر A)، سپس برگشتند و در جهت مخالف ۲۰ متر به طرف مخروط شماره سه با حداکثر سرعت دویدند (مسیر B) و در نهایت مجدداً برگشتند و به سمت نقطه شروع (مخروط شماره یک) با حداکثر سرعت دویدند (مسیر C) تا مسافت ۴۰ متر کامل شود. آزمودنیها این روند را با حداکثر سرعت ادامه دادند تا دوره زمانی ۳۰ ثانیه پروتکل تمرینی به اتمام برسد و پس از ۳۰ ثانیه استراحت، پروتکل تمرین را مجدداً تکرار کردند. نحوه پیشرفت تمرینی با افزایش تعداد تکرارهای ۳۰ ثانیه ای از چهار نوبت در هر جلسه در هفته های اول و دوم به پنج نوبت در هر جلسه در هفته های سوم و چهارم، شش نوبت در هر جلسه در هفته های پنجم و ششم و هفت نوبت در هر جلسه در هفته های هفتم و هشتم انجام گرفت. قبل از شروع پروتکل تمرینی در هر جلسه آزمودنیها به مدت پنج دقیقه برنامه گرم کردن و در پایان هر جلسه تمرینی نیز به مدت پنج دقیقه برنامه سرد کردن داشتند (شامل دویدن و حرکات نرمشی و کششی) (۱۹). در طول تمرینات گروه تجربی تناوب های فعالیتی خود را با میانگین شدت $91/9 \pm 1/3$ HRpeak انجام دادند و میانگین ضربان قلب تناوب های استراحتی آنها نیز $73/4 \pm 3/7$ HRpeak بود. لازم به ذکر است که در مدت هشت هفته اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی های گروه کنترل، هیچگونه فعالیت منظم ورزشی نداشتند و به روال عادی زندگی خود ادامه می دادند.

خاطر نشان می گردد پس از بررسی و تایید مسائل انسانی و اخلاقی مرتبط با پژوهش حاضر، کد اخلاق به شناسه ی IR.umsu.rec.1395.386 توسط کمیته ی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ارومیه صادر گردید.

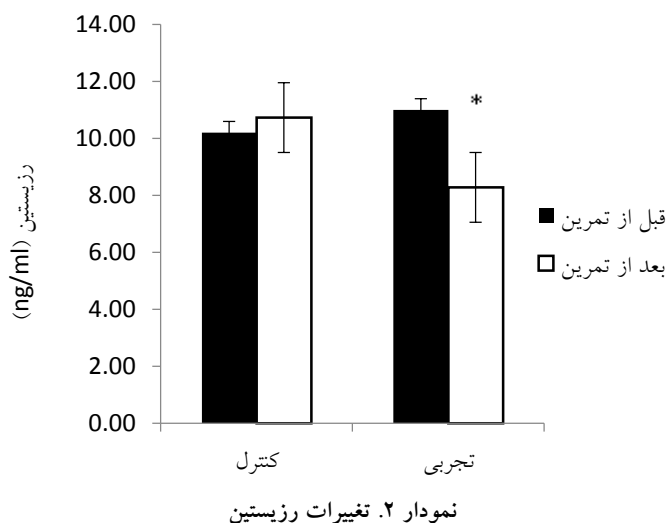
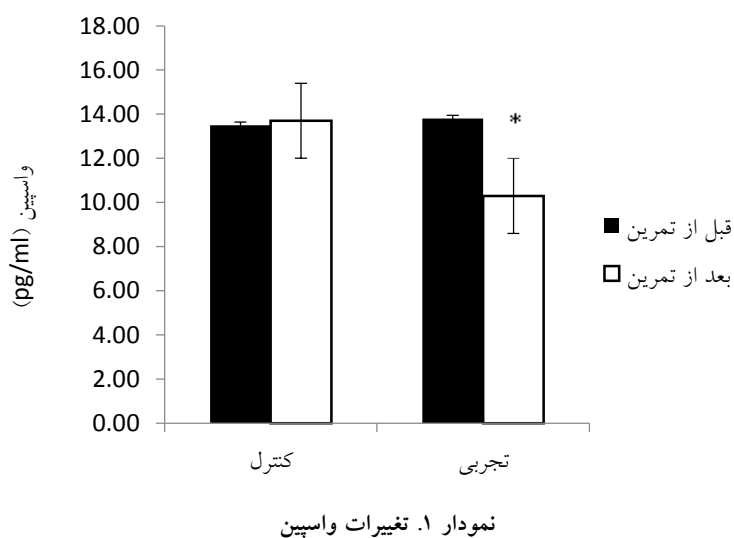
به منظور پاسخ گوئی به فرضیه های تحقیق از روش تحلیل کواریانس با استفاده از نرم افزار SPSS 22 استفاده شد. ابتدا پیش فرض های همگن بودن شیب خط رگرسیون و همچنین خطی بودن رابطه بین نمرات قبل از تمرین و بعد از تمرین بررسی و پس از تایید از آزمون تحلیل کواریانس استفاده شد (سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد).



شکل ۱: طرح شماتیک پروتکل تمرینی

جدول ۱: نتایج تحلیل کواریانس متغیرهای پژوهش

متغیرها	منبع تغییرات	میانگین مربعات	نسبت F	سطح معنی داری
وزن	قبل تمرین	۱۱۲/۸۹	۷/۶۷۶	۰/۰۳۳
	بعد تمرین	۲۱۱/۰۲۹	۱۴/۶۷۲	۰/۰۱۳
	خطا	۱۴/۰۷۵		
نمایه توده بدنی	قبل تمرین	۷۵/۰۱۲	۲۶/۹۷	<۰۰۰۱
	بعد تمرین	۲۱/۱۹۹	۷/۲۹۸	۰/۰۲۴
	خطا	۲/۷۵۳		
درصد چربی	قبل تمرین	۵۲۶/۹۶	۴۴/۱	<۰۰۰۱
	بعد تمرین	۴۹۹/۷۸	۴۰/۸۹	<۰۰۰۱
	خطا	۱۱/۹۲		
توده چربی	قبل تمرین	۱۰۰/۰۲	۲۵/۹۷	<۰۰۰۱
	بعد تمرین	۷/۷۵	۱/۹۹	۰/۰۴۵
	خطا	۳/۸۷		
توده بدون چربی	قبل تمرین	۱۳/۰۲	۳/۱۹	۰/۰۳۷
	بعد تمرین	۷/۲۴	۱/۶۷	۰/۱۹۹
	خطا	۴/۰۳		
رزیستین	قبل تمرین	۳۳/۴۹۸	۸/۷۹۵	۰/۰۰۸
	بعد تمرین	۱۸۰/۰۵	۴۰/۹۵۷	<۰۰۰۱
	خطا	۴/۴۰۵		
واسپین	قبل تمرین	۳۸/۷۸۹	۹/۶۲۰	۰/۰۰۸
	بعد تمرین	۱۸۴/۶۴	۴۳/۲۴۳	<۰۰۰۱
	خطا	۶/۶۷۴		
انسولین	قبل تمرین	۸۲/۰۱۲	۲۸/۸۹۱	<۰۰۰۱
	بعد تمرین	۱۴۶/۰۷۸	۵۱/۶۴۳	<۰۰۰۱
	خطا	۲/۷۹۵		
مقاومت به انسولین	قبل تمرین	۱۵۳/۲۴۳	۲۱/۹۷۹	<۰۰۰۱
	بعد تمرین	۳۴۹/۸۹	۵۲/۰۲۴	<۰۰۰۱
	خطا	۶/۶۵۴		
گلوکز	قبل تمرین	۱۳/۸۹۵	۴/۹۷۶	۰/۰۳۶
	بعد تمرین	۳۶/۸۷۳	۱۲/۹۹۷	۰/۰۰۱
	خطا	۳/۰۰۵		



بحث

در تحقیق حاضر، پس از هشت هفته تمرین ایتروال بی هوازی، غلظت رزیستین و واسپین پلاسما، گلوکز خون، انسولین و مقاومت به انسولین (HOMA-IR) در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری کاهش پیدا کرد. در دیابت نوع ۲، افزایش فعالیت بدنی باعث کاهش گلوکز خون ناشتا و سطح انسولین خون می شود که نشان دهنده ی افزایش حساسیت به انسولین می باشد. همچنین، بافت عضله اسکلتی بیشترین سهم را در ایجاد مقاومت به انسولین بدن دارد و تمرین ورزشی می تواند با بهبود متابولیسم گلوکز، حساسیت به انسولین عضله ی اسکلتی و کل بدن را بهبود دهد. مطالعات بالینی نشان می دهد که پیام رسان انسولین و فعالیت بدنی، فسفوااینوزیتید-۳-کیناز (PI3K) در عضله اسکلتی افراد مقاوم به انسولین و دیابت نوع ۲ کاهش می یابد، در حالیکه بهبود جذب گلوکز ناشی از انسولین کل بدن پس از

یافته ها

نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل کوواریانس در جدول شماره ی ۱ بیان شده است. همان طور که مشاهده می کنید تمرین بر متغیرهای وزن ($P=0/013$ و $f=14/67$)، نمایه توده بدنی ($P=0/024$ و $f=7/298$)، درصد چربی ($P<0/0001$ و $f=40/89$) و توده ی چربی ($P=0/045$ و $f=1/99$) تاثیر معنی داری داشته و باعث کاهش آنها شده است. اما اثر تمرین بر روی توده بدون چربی معنی داری نیست ($P=0/199$ و $f=1/67$). همچنین تمرین تناوبی بی هوازی باعث کاهش معنی دار میزان واسپین ($P<0/0001$ و $f=43/243$) (نمودار ۱)، رزیستین ($P<0/0001$ و $f=40/957$) (نمودار ۲)، مقاومت به انسولین ($P<0/0001$ و $f=52/024$)، میزان انسولین ($P<0/0001$ و $f=51/643$) و میزان گلوکز ($P=0/001$ و $f=12/997$) گشته است (سطح معنی داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد).

فعالیت ورزشی در انسان و موش ها، مربوط به افزایش سوبسترای گیرنده انسولین ۱ و ۲ (IRS1,2) و نیز PI3K عضله اسکلتی می باشد. همچنین تنظیم افزایشی پروتئین کیناز میانجی شده با AMP (AMPK) مکانیسم قوی دیگری است که تمرین ورزشی به واسطه ی آن حساسیت به انسولین را بهبود می بخشد، بطوریکه در اثر تمرین ورزشی، بیان پروتئین ناقل گلوکز (GLUT4) و انتقال آن به غشای پلاسمایی در عضله اسکلتی از طریق AMPK افزایش می یابد و در نهایت ورود گلوکز به درون سلول های عضلانی و استفاده از آن تسهیل می شود (۲۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پس از هشت هفته تمرین ایتروال بی هوازی کاهش معنی داری در غلظت پلاسمایی رزیستین و مقاومت به انسولین در مردان چاق مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهش های بالدوچی و همکاران (۲۰۰۹)، کاداوگلو و همکاران (۲۰۰۷) و لی یو و همکاران (۲۰۰۷) که همگی کاهش مقادیر رزیستین و مقاومت به انسولین را گزارش کرده بودند (۱۴، ۲۱، ۲۲)، هم راستا می باشد. بالدوچی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در بیماران مبتلا به دیابت و دارای اضافه وزن، ۱۲ ماه فعالیت بدنی منظم موجب کاهش رزیستین شده است (۲۱). کاداوگلو و همکاران (۲۰۰۷) کاهش رزیستین و مقاومت به انسولین را در افراد مبتلا به دیابت پس از ۱۶ هفته تمرین هوازی با شدت ۵۰ تا ۸۵٪ حداکثر اکسیژن مصرفی، البته بدون کاهش وزن مشاهده نمودند (۱۴). همچنین لی یو و همکاران (۲۰۰۷) نیز کاهش رزیستین و مقاومت به انسولین را پس از ۲۴ هفته تمرین، در بیماران دارای اختلال تحمل گلوکز مشاهده کردند، لازم به ذکر است که آنها کاهش رزیستین را در مقایسه با تحقیقاتی که عدم تغییر رزیستین را مشاهده کردند به نوع، مدت و شدت تمرینات نسبت دادند (۲۲). از سوی دیگر توفیقی و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای به بررسی تاثیر ۱۲ هفته تمرین ترکیبی (هوازی-مقاومتی) بر سطوح سرمی رزیستین و نیمرخ گلیسمی در زنان یائسه مبتلا به دیابت نوع دو پرداختند که آنان تغییرات معنی داری در سطوح سرمی رزیستین مشاهده نکردند (۲۳). کلی و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که هشت هفته ورزش هوازی بر رزیستین سرم افراد چاق تاثیر معناداری ندارد (۲۴). آنها اعلام کردند که در صورت عدم کاهش وزن، تمرینات ورزشی باعث کاهش رزیستین نمی گردد. آنها نبود رژیم غذایی و عدم تغییر وزن را دلیل عدم تغییر رزیستین بیان کردند و عنوان نمودند که رژیم غذایی، تاثیر بسزایی در کاهش رزیستین به واسطه ورزش دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات توفیقی و همکاران (۲۰۱۴)، کلی و همکاران (۲۰۰۷) که عدم تغییر معنی دار در سطوح رزیستین را گزارش کردند، هم راستا نبود که تفاوت در نوع آزمودنی ها، سن و جنس آزمودنی ها و مدت و شدت تمرینات می تواند از عوامل عدم هم راستایی نتایج تحقیق حاضر با یافته های پژوهش های مذکور باشد (۲۳، ۲۴).

همچنین تحقیقاتی وجود دارد که افزایش میزان رزیستین را در اثر ورزش هوازی نشان داده اند؛ در همین رابطه، پرسژین و همکاران (۲۰۰۶) و رشیدلمیر و همکاران (۲۰۱۱) افزایش رزیستین را در اثر ورزش هوازی مشاهده کرده و نتیجه گرفتند که سایتوکین های پیش التهابی از قبیل IL-1، IL-6، TNF- α موجب تحریک بیان ژن رزیستین در سلول های تک هسته ای خون و افزایش رزیستین می شوند (۲۵، ۲۶). این محققین افزایش رزیستین پس از تمرینات هوازی را به نقش این هورمون در دفاع اکسایشی بدن نسبت دادند و عنوان نمودند که رزیستین در پاسخ به محرک التهابی به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و از سلول های تک هسته ای خون در پاسخ به التهاب خفیف ترشح می شود. در واقع افزایش مقادیر خونی مارکرها التهابی مانند رزیستین، یک پاسخ محافظت کننده از بدن در برابر بیماری ها است. برخی از ویژگی های ضد التهابی فعالیت ورزشی ممکن است با تعدیل آدیپوکاین های تولید شده از بافت چربی همراه باشد. علاوه بر این فعالیت ورزشی طولانی مدت موجب کاهش تولید آدیپوکاین های آتروژنیک می شود، در حالیکه تولید آدیپوکاین های آنتی آتروژنیک را افزایش می دهد. تمرینات بدنی منظم، با کاهش تحریک سمپاتیکی و افزایش آدیپوکاین های ضد التهابی، میزان رهایش میانجی های التهابی-که در ابتلا به بیماری های مزمن نقش مهمی دارند- از بافت چربی را مهار می کند و ممکن است این موضوع درباره رزیستین نیز مورد تایید باشد. در ارتباط با کاهش رزیستین بر اثر تمرینات ورزشی، برخی پژوهش ها علت را کاهش شاخص های آتروپومتریکی و برخی سایتوکاین های پیش التهابی مانند IL-1، IL-6، TNF- α بیان کردند، زیرا این سایتوکاین ها موجب تحریک بیان ژن رزیستین در سلول های تک هسته ای خون می شوند. از طرفی در انسان، رزیستن علاوه بر بافت چربی از سلول های تک هسته ای خون و لکوسیت ها نیز تولید می شود. بنابراین ممکن است فعالیت ورزشی با ویژگی های ضد التهابی خود موجب کاهش رزیستین پلازما شود. در مورد اثر فعالیت ورزشی بر سطح واسپین در سرم نیز یافته های ناهمسویی وجود دارند. برخی محققین از قبیل یون و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کرده اند که غلظت واسپین سرم در افراد با سطح بالای آمادگی جسمانی در مقایسه با افراد دارای سطح آمادگی جسمانی پایین، کمتر است (۱۲). همچنین نتایج تحقیق لی و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد غلظت های سرمی واسپین پس از هفت روز تعدیل سبک زندگی در کودکان چاق کاهش می یابد (۲۷). کلوتینگ و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند که حساسیت به انسولین در واقع تعیین کننده ی مهم و قوی بیان ژن واسپین در بافت چربی است و سطوح بالای واسپین در افراد دیابتی و چاق در واقع یک سازوکار جبرانی در پاسخ به کاهش حساسیت به انسولین و کاهش متابولیسم گلوکز می باشد، این محققان کاهش سطوح واسپین را به افزایش حساسیت به انسولین ناشی از ورزش نسبت دادند (۷).

و وزن بدن یا حساسیت به انسولین را مشاهده نکرده‌اند. فریدنریش و همکاران پس از ۶ و ۹ هفته تمرین هوازی کاهش مقاومت به انسولین را در زنان یائسه مشاهده کردند (۲۸). داویدسون و همکاران نیز بهبود مقاومت به انسولین را پس از ۶ ماه تمرینات هوازی در مردان مشاهده کردند (۲۹). از طرف دیگر تحقیقات قبلی بر روی موش‌ها نشان داده است که تزریق رزیستین سبب اختلال در حساسیت به انسولین می‌شود (۳۰).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر مبنی بر این که انجام تمرین ایتروال بی هوازی همراه با کاهش وزن و درصد چربی بدن، منجر به کاهش سطح سرمی رزیستین و واسپین سرم، گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین می‌شود، بنابراین می‌تواند به عنوان یک روش درمانی مکمل برای افراد چاق و بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مورد توجه قرار گیرد.

قدردانی

نویسنده مقاله بر خود لازم می‌داند مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم آموزشی و پژوهشی و همکاران محترم مدیریت امور پژوهشی دانشگاه صنعتی ارومیه و همچنین کلیه آژموندی‌های شرکت کننده در تحقیق اعلام دارد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی استان آذربایجان غربی، به شماره مرجع IR.umsu.rec.1395.386 به تایید رسیده است.

منابع مالی

لازم به ذکر است که پژوهش حاضر بصورت مستقل و با هزینه‌ی شخصی انجام شده و مستخرج از پایان نامه یا طرح تحقیقاتی نمی‌باشد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

م سلیمی آوانسر طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته، همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

البته اوبرباخ و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده نمودند که سطح واسپین سرم پس از چهار هفته تمرین ورزشی کاهش می‌یابد، آنها بیان داشتند که تغییرات واسپین مستقل از حساسیت انسولین است و تغییرات آن را وابسته به شرایط استرس اکسایشی ناشی از تمرین ورزشی معرفی کردند (۱۷). افزایش غلظت سرمی واسپین در پژوهش صفرزاده و همکاران (۲۰۱۲) در موش‌های صحرایی دیابتی نشان داده شد، این محققین بیان کردند که افزایش سطح واسپین در موش‌های صحرایی دیابتی در اثر تمرین، سازوکار حفاظتی در برابر عوارض ناشی از افزایش قند خون و التهاب متعاقب آن است (۱۵). هندیسوریا و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه خود که با هدف بررسی غلظت واسپین در رابطه با حساسیت به انسولین متعاقب کاهش وزن ناشی از لاپاراسکوپی صورت گرفته بود، نشان دادند که کاهش وزن بعد از عمل در ۳۳ آزمودنی دچار چاقی مفرط منجر به پایین آمدن سطوح در گردش واسپین، انسولین، مقادیر نمایه توده بدن و مقاومت به انسولین می‌شود. همچنین، تغییرات غلظت واسپین سرم دارای همبستگی مثبتی با تغییر مقادیر مقاومت به انسولین و انسولین می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات هوازی در کاهش وزن و کاهش درصد چربی گروه تمرین مؤثر بوده است. بنابراین، به نظر می‌رسد کاهش درصد چربی یکی از سازوکارهای اصلی کاهش واسپین سرم پس از تمرینات هوازی باشد. در برخی مطالعات نشان داده شده است سطوح واسپین سرم در شرایط مقاومت به انسولین افزایش می‌یابد. در مجموع، با توجه به کاهش معنی دار واسپین سرم متعاقب انجام هشت هفته تمرین ایتروال بی هوازی، در مطالعه حاضر، شاید بتوان گفت تمرینات HIIT سبب تأثیر بهینه‌ای بر روندهای متابولیسمی شده و با تأثیری که بر عملکرد میانجی‌های درون سلولی داشته است، سبب بهبود متابولیسم چربی گردیده و با بهبود مقاومت انسولینی، بدن را از سازوکار افزایشی واسپین بی‌نیاز کرده باشد. از آنجایی که مقادیر واسپین با افزایش چربی بدن، افزایش می‌یابد سازوکار احتمالی دیگر این است که باتوجه به کاهش وزن و متعاقب آن کاهش درصد چربی، سرعت آدیپوزنز کاهش یافته که شاخص مهمی برای پاتورنز بیماران دیابتی محسوب می‌شود. تحقیق حاضر همچنین نشان داد که انجام هشت هفته تمرین ایتروال بی هوازی بر مقاومت به انسولین تأثیر معناداری داشته است. با توجه به ارتباط احتمالی رزیستین و واسپین با مقاومت به انسولین در انسان‌ها، تغییر مقاومت به انسولین در تحقیق حاضر، احتمالاً می‌تواند ناشی از تغییرات سرمی رزیستین و واسپین باشد. البته در مورد وجود ارتباط بین غلظت‌های سرمی رزیستین و واسپین با شاخص مقاومت به انسولین مدارک متناقضی وجود دارد. به طوری که برخی مطالعات، ارتباط مثبت بین رزیستین با توده چربی بدن و نیز با مقاومت به انسولین را نشان داده اند، اما برخی دیگر، ارتباط بین ژن رزیستین

References

- Krott LM, Piscitelli F, Heine M, Borrino S, Scheja L, Silvestri C, et al. Endocannabinoid regulation in white and brown adipose tissue following thermogenic activation. *Journal of lipid research* 2016; **57**(3): 464-473. doi: 10.1194/jlr.M065227.
- Al Hannan F, Culligan K G. Human resistin and the RELM of Inflammation in diabetes. *Diabetology & metabolic syndrome* 2015; **7**(1): 54. doi: 10.1186/s13098-015-0050-3.
- Azab N, Abdel-Aziz T, Ahmed A, El-deen I. Correlation of serum resistin level with insulin resistance and severity of retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Saudi Chemical Society* 2016; **20**(3): 272-277. doi: 10.1016/j.jscs.2012.07.003
- Pravenec M, Mlejnek P, Zidek V, Landa V, Šimáková M, Šilhavý J, et al. Autocrine effects of transgenic resistin reduce palmitate and glucose oxidation in brown adipose tissue. *Physiological Genomics* 2016; **48**(6): 420-427. doi: 10.1152/physiolgenomics.00122.2015.
- Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; **102**(30): 10610-10615. doi: 10.1073/pnas.0504703102.
- Auguet T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, et al. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Medical Genetics* 2011; **12**(1): 60. doi: 10.1186/1471-2350-12-60.
- Klötting N, Kovacs P, Kern M, Heiker J, Fasshauer M, Schön M, et al. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia* 2011; **54**(7): 1819-1823. doi: 10.1007/s00125-011-2137-1.
- Paneni F, Costantino S, Cosentino F. Insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk. *Current Atherosclerosis Reports* 2014; **16**(7): 1-8. doi: 10.1007/s11883-014-0419-z.
- Jelleyman C, Yates T, O'Donovan G, Gray LJ, King J A, Khunti K, et al. The effects of high-intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta-analysis. *Obesity Reviews* 2015; **16**(11): 942-961. doi: 10.1111/obr.12317.
- Jamurtas A Z, Theocharis V, Koukoulis G, Stakias N, Fatouros I, Kouretas D, et al. The effects of acute exercise on serum adiponectin and resistin levels and their relation to insulin sensitivity in overweight males. *European Journal of Applied Physiology* 2006; **97**(1): 122. doi: 10.1007/s00421-006-0169-x.
- Jamurtas A, Garyfallopoulou A, Theodorou A, Zalavras A, Paschalis V, Deli C, et al. A single bout of downhill running transiently increases HOMA-IR without altering adipokine response in healthy adult women. *European Journal of Applied Physiology* 2013; **113**(12): 2925-2932. doi: 10.1007/s00421-013-2717-5.
- Youn B-S, Klötting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song E-S, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2008; **57**(2): 372-377. doi: 10.2337/db07-1045.
- Tan B K, Heutling D, Chen J, Farhatullah S, Adya R, Keay S D, et al. Metformin decreases the adipokine vaspin in overweight women with polycystic ovary syndrome concomitant with improvement in insulin sensitivity and a decrease in insulin resistance. *Diabetes* 2008; **57**(6): 1501-1507. doi: 10.2337/db08-0127.
- Kadoglou N, Fotiadis G, Kapelouzou A, Kostakis A, Liapis C, Vrabas I. The differential anti-inflammatory effects of exercise modalities and their association with early carotid atherosclerosis progression in patients with type 2 diabetes. *Diabetic Medicine* 2013; **30**(2): e41-e50. doi: 10.1111/dme.12055
- Safarzade A r, Gharakhanlou R, Hedayati M, Talebi-Garakani E. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Serum Vaspin, Il-6, CRP and TNF-A Concentrations in Diabetic Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2012; **14**(1): 68-74. [Persian]
- Kim E S, Im J A, Kim K C, Park J H, Suh S H, Kang ES, et al. Improved insulin sensitivity and adiponectin level after exercise training in obese Korean youth. *Obesity* 2007; **15**(12): 3023-3030. doi: 10.1038/oby.2007.360.
- Oberbach A, Kirsch K, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, et al. Serum vaspin concentrations are decreased after exercise-induced oxidative stress. *Obesity facts* 2010; **3**(5): 328-331. doi: 10.1159/000321637.
- Association A D. Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes care* 2002; **25**(1): 202-212. doi: 10.2337/diacare.25.1.202.
- Buchan D S, Ollis S, Young J D, Thomas N E, Cooper S M, Tong T K, et al. The effects of time and intensity of exercise on novel and established markers of CVD in adolescent youth. *American Journal of Human Biology* 2011; **23**(4): 517-526. doi: 10.1002/ajhb.21166
- Afzalpour M E, Yousefi M R, Eivari H A, Ilbeigi S. *The comparison of continuous and intermittent training impact on glucose-4 transporter protein level and insulin sensitivity in diabetic rats* 2016. doi: 10.18869/acadpub.jbrms.3.4.40.
- Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2010; **20**(8): 608-617. doi: 10.1016/j.numecd.2009.04.015.
- LIU Y-p, LIU L-x, WEI L-x. Effects of Exercise Interference on the Serum Resistin and Insulin Sensitivity

- in Patients with Impaired Glucose Tolerance [J]. *Journal of Beijing Sport University* 2007; **10**: 220.
23. Tofighi A, Samadian Z. Comparison of 12 Weeks Aerobic with Resistance Exercise Training on Serum Levels of Resistin and Glycemic Indices in Obese Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes (Comparison of Two Exercise Protocols). *Jundishapur Scientific Medical Journal* 2014; **12**(6). [Persian]
24. Kelly A S, Steinberger J, Olson T P, Dengel D R. In the absence of weight loss, exercise training does not improve adipokines or oxidative stress in overweight children. *Metabolism* 2007; **56**(7): 1005-1009. doi: 10.1016/j.metabol.2007.03.009.
25. Perseghin G, Burska A, Lattuada G, Alberti G, Costantino F, Ragogna F, et al. Increased serum resistin in elite endurance athletes with high insulin sensitivity. *Diabetologia* 2006; **49**(8): 1893-1900. doi: 10.1007/s00125-006-0267-7.
26. Rashidlamir A, Javaheri A H, Jaafari M. The effect of regular aerobic training with weight loss on concentrations of fibrinogen and resistin in healthy and overweight men. *Tehran University Medical Journal* 2011; **68**(12). [Persian]
27. Lee M K, Jekal Y, Im J-A, Kim E, Lee SH, Park J-H, et al. Reduced serum vaspin concentrations in obese children following short-term intensive lifestyle modification. *Clinica Chimica Acta* 2010; **411**(5): 381-385. doi: 10.1016/j.cca.2009.12.003.
28. Friedenreich C M, Neilson H K, Woolcott C G, McTiernan A, Wang Q, Ballard-Barbash R, et al. Changes in insulin resistance indicators, IGFs, and adipokines in a year-long trial of aerobic exercise in postmenopausal women. *Endocrine-Related Cancer* 2011; **18**(3): 357-369. doi: 10.1530/ERC-10-0303.
29. Davidson L E, Hudson R, Kilpatrick K, Kuk J L, McMillan K, Janiszewski P M, et al. Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults: a randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine* 2009; **169**(2): 122-131. doi: 10.1001/archinternmed.2008.558
30. Steppan C M, Bailey S T, Bhat S, Brown E J, Banerjee R R, Wright C M, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; **409**(6818): 307-312. doi: 10.1038/35053000.

Original Article

Comparison of PAWP between separated spermatozoa based on density gradient centrifugation and Zeta potential

Elham Sadeghi-Dormiani¹, Shima Khakpour Esfahani¹, Marziyeh Tavalaei¹, Maryam Arbabian¹,
Mehrnosh Bahadorani², Mohammad Hossein Nasr- Esfahani^{1,3*}

¹Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Reproductive Biomedicine Research Center, Department of Reproductive Biotechnology, Isfahan, Iran

²Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

³Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran

*Corresponding author; E-mail: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

Received: 22 February 2017 Accepted: 18 June 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):47-55

Abstract

Background: Density gradient centrifugation (DGC) and Zeta procedures are used for separation of normal sperm for treatment of infertility. Previous studies showed that Zeta method was more efficient in separation of normal sperm with intact chromatin compared to DGC. In this study, we aimed to compare postacrosomal sheath WW domain-binding protein (PAWP) protein as one of the factors involved to oocyte activation between two methods.

Methods: Semen samples were collected from 23 men with normal sperm parameters (concentration, motility and morphology) according to World Health Organization criteria. Semen samples were washed with VitaSperm media and each sample were divided into three groups; control, DGC and Zeta. The percentage and intensity of PAWP were assessed by flow cytometry for each group. In addition, localization of PAWP in spermatozoa was detected by immunostaining procedure.

Results: Percentage of PAWP-positive spermatozoa was significantly higher in separated spermatozoa from DGC procedure in comparison with control and Zeta groups ($P < 0.001$), while intensity of PAWP was significantly ($P < 0.001$) higher in separated spermatozoa from Zeta method in comparison with control and DGC procedures. PAWP appear to be localized mainly in equatorial segment and post acrosome sheath of sperm head in all the groups.

Conclusion: The Zeta method could separate low percentage of PAWP-positive spermatozoa compared to DGC method but such sperm appear higher intensity of PAWP than DGC. Therefore, separated spermatozoa by Zeta method possibly has better chance in activation of oocyte. However, further studies are needed to confirm this result.

Keyword: Zeta, DGC, PAWP, Sperm Parameters.

How to cite this article: Sadeghi-Dormiani E, Khakpour Esfahani Sh, Tavalaei M, Arbabian M, Bahadorani M, Nasr- Esfahani M H. [Comparison of PAWP between separated spermatozoa based on density gradient centrifugation and Zeta potential]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):47-55. Persian.

مقاله پژوهشی

مقایسه پروتئین PAWP بین اسپرم‌های جدا شده بر اساس سانتریفیوژ شیب غلظت و پتانسیل Zeta

الهام صادقی درمیانی^۱، شیمیا خاکپور اصفهانی^۱، مرضیه تولائی^۱، مریم اربابیان^۱، مهرانوش بهادرانی^۲، محمد حسین نصر اصفهانی^{۳،۴}

^۱ پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه زیست فناوری تولید مثل، اصفهان، ایران

^۲ گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^۳ مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران

^۴ نویسنده مسئول: ایمیل: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۴ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۸ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۴۷-۵۵

چکیده

زمینه: روش‌های سانتریفیوژ شیب غلظت (DGC) و Zeta جهت جداسازی اسپرم‌های طبیعی جهت درمان ناباروری استفاده می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که روش Zeta بیشتر در جداسازی اسپرم‌های طبیعی با کروماتین سالم نسبت به DGC مؤثر است. در این مطالعه، هدف ما مقایسه پروتئین متصل شونده به دامنه WW صفحات خلف آکروزومی (PAWP) بعنوان یکی از فاکتورهای مرتبط در فعال شدن تخمک، بین دو روش می‌باشد. روش کار: نمونه مایع منی از ۲۳ مرد با پارامترهای اسپرمی طبیعی (غلظت، تحرک و مورفولوژی) بر اساس معیار سازمان بهداشت جهانی جمع‌آوری شد. نمونه مایع منی با محیط VitaSperm شسته و هر نمونه به سه گروه کنترل، DGC و Zeta تقسیم شدند. درصد و شدت PAWP در هر گروه با استفاده از فلوسایتومتری ارزیابی شد. به علاوه، مکان PAWP در اسپرم‌ها توسط روش ایمنواستینینگ تعیین گردید. یافته‌ها: درصد اسپرم‌های PAWP مثبت بطور معنی‌داری در اسپرم‌های جدا شده از روش DGC در مقایسه با گروه‌های کنترل و Zeta بیشتر بود ($P < 0.001$). در صورتی که شدت PAWP بطور معنی‌داری در اسپرم‌های جدا شده از روش Zeta در مقایسه با روش DGC و کنترل بیشتر بود. پروتئین PAWP بطور عمده در قطعه استوایی و صفحات خلف آکروزومی سر اسپرم در همه گروه‌ها قرار دارد. نتیجه‌گیری: اگرچه روش Zeta درصد پایین‌تری از اسپرم‌های PAWP مثبت را در مقایسه با روش DGC جداسازی می‌کند اما این اسپرم‌ها شدت بیشتری از PAWP را نسبت به روش DGC آشکار نموده‌اند. لذا اسپرم‌های جدا شده به روش Zeta، احتمالاً شانس بیشتری در فعال شدن تخمک را دارند. با این حال مطالعات بیشتری جهت تأیید این نتایج لازم است.

کلید واژه‌ها: زتا، سانتریفیوژ شیب غلظت، PAWP، پارامترهای اسپرمی.

نحوه استناد به این مقاله: صادقی درمیانی، خاکپور اصفهانی، ش، تولائی، م، اربابیان، م، بهادرانی، م، نصر اصفهانی، م. ح. مقایسه پروتئین PAWP بین اسپرم‌های جدا شده بر اساس سانتریفیوژ شیب غلظت و پتانسیل Zeta. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۴۷-۵۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

ناباروری یکی از معضلات جامعه کنونی است، که تقریباً یک زوج از هر هفت زوج را درگیر می‌کند. در حدود نیمی از موارد ناباروری مربوط به فاکتورهای مردانه می‌باشد (۱). در حال حاضر تکنیک‌های کمک باروری (ART: Assisted Reproductive Techniques) مانند تلقیح داخل رحمی اسپرم (IUI: Intra Uterian Insemination)، لقاح آزمایشگاهی (IVF: In-Vitro Fertilization)، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI: Intra-Cytoplasmic Sperm Injection) و دیگر تکنیک‌ها را برای حل مشکل باروری می‌توان استفاده نمود. ICSI به عنوان یک روش مناسب، جهت درمان ناباروری، به خصوص افراد نابارور با فاکتورهای مردانه می‌باشد. در طی این روند، بهترین اسپرم از لحاظ مورفولوژی و تحرک انتخاب و به داخل تخمک تزریق می‌شود. لذا ممکن است شانس بهتری جهت ایجاد لقاح و تشکیل جنین را برای بیماران فراهم کند (۲). اگر چه در طی روش ICSI، انتخاب اسپرم براساس مورفولوژی و حیات می‌باشد، اما امکان دارد اسپرم‌ها با آسیب DNA در فرآیند لقاح شرکت کنند و در نتیجه موجب شکست لقاح و سقط جنین شوند (۳). لذا استفاده از بهترین روش آماده سازی اسپرم، جهت جداسازی اسپرم‌هایی با کیفیت عملکردی مناسب ضروری به نظر می‌رسد. روش‌های معمولی برای جداسازی اسپرم‌های بالغ و طبیعی وجود دارند که شامل سانتریفیوژ شیب غلظت (DGC: Density Gradient Centrifuge) و Swim-up می‌باشد. در روش DGC، اسپرم‌ها بر اساس شیب غلظت جداسازی می‌شوند، که پس از سانتریفیوژ اسپرم‌های سالم و زنده که دارای چگالی بالاتر هستند، سریع‌تر ته‌نشین می‌شوند. اما روش Swim-up زمان‌بر بوده و سانتریفیوژ می‌تواند اثرات مخرب از جمله تولید استرس اکسیداتیو ایجاد کند که فعالیت عملکردی اسپرم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). اخیراً روش‌های نوین جداسازی اسپرم براساس ساختار سلولی و مولکولی پیشنهاد شده، که از بین آن‌ها می‌توان به روش جداسازی اسپرم براساس بار الکتریکی یا پتانسیل Zeta اشاره نمود. Zeta سال ۲۰۰۶ توسط Chan و همکاران معرفی گردید، در این روش اختلاف پتانسیل موجود در سطح غشاء اسپرم که در حدود ۱۶- تا ۲۰ میلی‌ولت است و پتانسیل Zeta نامیده می‌شود، اساس انتخاب اسپرم بالغ می‌باشد (۵). مطالعات قبلی در این زمینه اذعان داشته‌اند که جداسازی اسپرم براساس پتانسیل Zeta کارا می‌باشد و اسپرم‌هایی با ساختار کروماتین طبیعی‌تری را نسبت به روش معمول DGC می‌تواند جداسازی نماید. بعلاوه نتایج حاملگی این روش که اخیراً بررسی شده رضایت‌بخش می‌باشد (۶،۷). با وجودی که از روش ICSI جهت درمان افراد نابارور با فاکتورهای مردانه استفاده می‌شود، ولی در ۳-۴ درصد سیکل‌های ICSI عدم موفقیت در لقاح مشاهده می‌شود (۸). به طور مثال در آمریکا تقریباً

۶۷ درصد از روش‌های کمک باروری، شامل ICSI می‌باشد، اما تنها ۳۵/۸ درصد از آن‌ها به حاملگی کلینیکی منجر می‌گردد. مهمترین علل عدم موفقیت لقاح پس از ICSI فعال نشدن تخمک گزارش شده، که جهت درمان در برخی از مراکز درمانی، روش فعال‌سازی مصنوعی تخمک (AOA: Artificial Oocyte Activation) به دنبال روش ICSI به منظور افزایش کلسیم داخل سلولی تخمک استفاده می‌شود (۹). روش‌های متعددی از جمله روش‌های الکتریکی، شیمیایی و مکانیکی برای انجام AOA وجود دارد، که روش شیمیایی به صورت معمول مورد استفاده قرار می‌گیرد، و در آن از موادی مانند یونومایسین یا A23187 جهت افزایش کلسیم داخل سلولی استفاده می‌گردد (۱۰،۱۱). همانگونه که در بالا اشاره شد مهمترین علت عدم موفقیت در لقاح، فعال نشدن تخمک می‌باشد. برای فعال شدن تخمک، ورود فاکتورهای اسپرمی فعال‌کننده‌ی تخمکی (SOAF: Sperm-born Oocyte-Activating Factor)، پس از ادغام غشا اسپرم و تخمک ضروری می‌باشد. با ورود این فاکتورها به داخل تخمک، افزایش رهایش کلسیم از ذخایر داخل سلولی از جمله شبکه آندوپلاسمی صورت می‌گیرد، که این افزایش کلسیم جهت لقاح و تکوین اولیه‌ی جنین ضروری است و باعث می‌شود که تخمک از مرحله‌ی متافاز ۲ به سمت آنافاز پیشروی کند و تکوین یابد (۱۲). تاکنون چندین فاکتور SOAF پیشنهاد شده، اما از مهمترین و اصلی‌ترین این فاکتورها می‌توان به پروتئین Zeta (Phospholipase C Zeta)، PLC (Post-Acrosomal sheath WW domain-binding Protein) و TR-KIT (Truncated Kit) اشاره نمود (۱۲،۱۳). در حال حاضر، دو فاکتور PLC و PAWP بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته است، هرچند که هنوز قطعیتی راجع به اینکه کدامیک از این فاکتورها در اسپرم مسئول اصلی این افزایش کلسیم درون سلولی هستند، وجود ندارد (۱۷-۱۳). PAWP برای اولین بار در سال ۲۰۰۷ توسط Wu و همکاران معرفی گردید. PAWP از پروتئین‌های اختصاصی اسپرمی می‌باشد که با نام WBP2NL نیز شناخته می‌شود. منشأ آن از قسمت سیتوپلاسمی اسپرماتیدهای طویل شده است و محل قرارگیری آن در ناحیه پری نوکلئار سر اسپرم می‌باشد. ژن کدکننده PAWP در انسان بر روی کروموزوم ۲۲ جایگاه q13.222 قرار دارد. ساختار پروتئین PAWP از یک نیمه‌ی N-terminal مشابه با WBP2 و یک نیمه‌ی C-terminal، که شامل موتیف‌های ppxy و ۹ تکرار YGXPPXG می‌باشد. نقش PAWP در تنظیم انتقال سیگنال در داخل تخمک لقاح یافته می‌باشد که برای شروع مجدد میوز و تکوین پیش هسته ضروری است (۱۸). اخیراً، تحقیقات Aarabi و همکاران بر روی پروتئین PAWP که مسئول نوسانات کلسیم در داخل تخمک پس از ورود اسپرم می‌باشد، متمرکز شده است. آن‌ها با نشان دادن این حقیقت

تجاری Pure sperm (Nidacon, Sweden) استفاده گردید. یک گرادیان دو لایه‌ای از محلول Pure sperm ۹۰ و ۴۵ درصد در یک لوله سانتریفیوژ ۱۰ میلی‌لیتر تهیه گردید، به این صورت که ابتدا ۱/۵ میلی‌لیتر لایه‌ی ۹۰ درصد و سپس ۱/۵ میلی‌لیتر لایه ۴۵ درصد و در آخر ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع منی شسته شده روی آن قرار داده و به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، مایع‌رویی با پیپت پاستور به صورت دورانی تخلیه شد، پلیت باقی مانده که حاوی اسپرم‌های بالغ می‌باشد به یک لوله دیگر منتقل شد و جهت ارزیابی پروتئین PAWP مورد استفاده قرار گرفت (۶). روش Zeta بر اساس مطالعه Nasr-Esfahani و همکاران در سال (۲۰۱۶) انجام شد (۷). ابتدا نمونه مایع منی شسته شده به لوله مخصوص سانتریفیوژ انتقال داده شد به طوری که در هر لوله حدود ۵ میلیون اسپرم وجود داشته باشد. سپس لوله سه مرتبه درون دستکش لاتکس چرخانده و بیرون کشیده شد تا باردار گردد. لوله باردار حاوی نمونه به مدت یک دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا اسپرم‌های بالغ دارای بار منفی به دیواره لوله بچسبند. محلول درون لوله را با پیپت پاستور به طوری که پیپت به جدار لوله برخورد نکند به آرامی خارج کرده، پس از آن ۴ سی سی Vita+Albumin (۱۰ درصد) در لوله ریخته و جدار لوله را با آن شستشو داده شد تا بدون بار گردد و اسپرم‌های چسبیده به جدار لوله جدا گردد. سپس به مدت ۵ دقیقه ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ و مایع‌رویی را خارج کرده و پلیت تشکیل شده جهت بررسی پروتئین PAWP استفاده گردید. پس از جداسازی اسپرم‌ها بر اساس دو روش ذکر شده و همچنین نمونه کنترل، درصد پروتئین PAWP با استفاده از روش فلوسایتومتری، و الگوی مکانی آن با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت ارزیابی گردید. نمونه‌های آماده شده از روش DGC, Zeta و گروه کنترل را با PBS (Phosphate Buffered Saline) شسته شد و به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. پس از آن پلیت باقی مانده در پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه فیکس شد. سپس دو بار با PBS به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰rpm شسته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰X (۰/۵ درصد) اضافه می‌گردد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار داده می‌شود. سپس دو بار با PBS شسته شده و به نمونه (BSA, Bovine Serum Albumin) (۳ درصد) جهت بلوک‌کردن مناطق غیر اختصاصی به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه اضافه گردید. پس از آن به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به پلیت باقی‌مانده آنتی‌بادی اولیه PAWP (Anti-PAWP, WBP2NL antibody, Abcam, USA) افزوده و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از طی این مدت دو بار با PBS شسته شده و به نمونه آنتی‌بادی ثانویه (Goat Anti-Rabbit IgG, Sigma, Biotech USA) اضافه کرده و به مدت ۶۰ دقیقه در آنکوباتور قرار داده شد، دو بار با PBS شسته شد و نهایتاً به

که PAWP نیز نوسانات کلسیم و تشکیل پیش هسته را در تخمک‌های انسان و موش القا می‌کند، یافته‌های قبلی خود را در گونه‌های زنوپوس و خوک تایید کرده‌اند (۱۴). بعلاوه آن‌ها گزارش کردند که تزریق crRNA یا پروتئین نوترکیب PAWP موجب ایجاد نوسانات کلسیم یا افزایش کلسیم سیتوزولی در تخمک‌های انسان، موش و گاو شده و یک ارتباط مثبتی بین سطح PAWP اسپرم با نتایج لقاح در افراد نابارور را گزارش کرده‌اند (۱۴،۱۷). با توجه به اهمیت پروتئین PAWP اسپرم در فعال شدن تخمک، هدف این مطالعه این است که برای اولین بار از دو روش معمول (DGC) و نوین (Zeta) جداسازی اسپرم استفاده شود و پروتئین PAWP بین این دو روش مورد قیاس قرار گیرد، تا مشخص شود که آیا روش نوین جداسازی اسپرم نسبت به روش معمول، توانایی جداسازی اسپرم‌های حاوی PAWP بیشتری را دارد یا خیر؟ در صورتی که مشخص شود روش Zeta کارا می‌باشد، می‌توان در آینده برای افرادی که با شکست لقاح پس از ICSI مواجه هستند، روش Zeta را پیشنهاد نمود.

روش کار

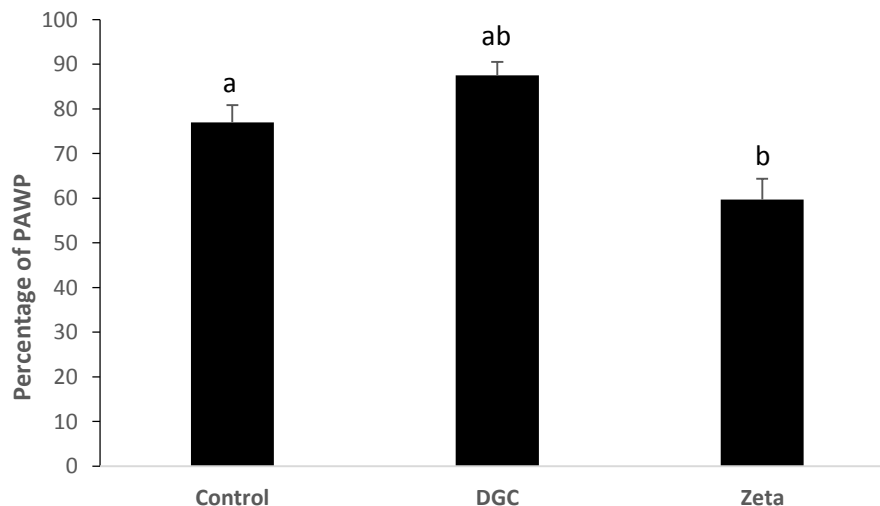
قبل از ورود افراد به مطالعه، بیماران شرکت کننده در طرح، رضایت کتبی خود را جهت استفاده از اضافه نمونه مایع منی را (که در حالت عادی دور ریخته می‌شود) برای انجام طرح تحقیقاتی اعلام نمودند. این طرح در کمیته علمی پژوهشگاه رویان با کد ۹۴۰۰۰۳۰۰ تصویب شده است. این مطالعه بر روی نمونه مایع منی ۲۳ مرد نرmozواسپرمی مراجعه‌کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان که پارامترهای اسپرمی آن‌ها براساس معیار سازمان بهداشت جهانی، ۲۰۱۰ (WHO: World Health Organization) طبیعی بود، انجام شد. اسپرم این افراد داری تحرک بالاتر از ۴۰ درصد، مورفولوژی طبیعی بیشتر از ۴ درصد و غلظت اسپرمی بیشتر از ۱۵ میلیون می‌باشد (۱). مایع منی پس از ۳ الی ۴ روز خودداری زوجین از مقاربت، در ظرف پلاستیکی استریل که از نظر نداشتن اثرات سمی بر روی اسپرم کنترل شده بود، جمع‌آوری گردید و اجازه داده شد در دمای آزمایشگاه به صورت مایعی همگن در آید. سپس آنالیز پارامترهای اسپرمی (تحرک، مورفولوژی و غلظت اسپرم) با استفاده از میکروسکوپ نوری و بر اساس WHO، مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های مایع منی با محیط کشت Vita-Sperm (Inoclon, Tehran, Iran) شستشو داده و هر نمونه به سه قسمت تقسیم شد. قسمت اول روش جداسازی اسپرم براساس سانتریفیوژ شیب غلظت (DGC)، قسمت دوم روش جداسازی اسپرم بر اساس پتانسیل Zeta و قسمت سوم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سپس درصد پروتئین PAWP با استفاده از روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، جهت انجام روش DGC از ماده

غیرطبیعی اسپرم $95/30 \pm 0/39$ با حداقل و حداکثر بین ۹۶-۹۱ و میانگین حجم نمونه $5/07 \pm 0/45$ با حداقل و حداکثر بین ۲/۴۰-۷/۱۰. میانگین پارامترهای اسپرمی جهت ارزیابی جایگاه PAWP با استفاده میکروسکوپ فلورسنت به شرح زیر می‌باشد. میانگین غلظت اسپرم $84 \pm 24/04$ میلیون در سی سی، درصد تحرک اسپرم $58/88 \pm 4/85$ درصد مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم $95/88 \pm 0/78$ و میانگین حجم نمونه $4/35 \pm 1/30$ بود. مقایسه شدت و درصد پروتئین PAWP بین گروه کنترل و دو روش DGC و Zeta با استفاده از روش فلوسایتومتری قیاس گردید. شدت و درصد پروتئین PAWP با استفاده از فلوسایتومتری بین سه گروه کنترل، DGC و Zeta مورد قیاس قرار گرفت. میانگین درصد اسپرم‌ها که دارای PAWP مثبت بودند $84/3 \pm 0/07$ ، $83/3 \pm 0/08$ و $67/4 \pm 9/59$ به ترتیب در گروه کنترل، DGC و Zeta بود. شکل ۱ نشان می‌دهد که درصد اسپرم‌های PAWP مثبت به طور معنی‌داری در روش DGC نسبت به گروه کنترل و Zeta افزایش یافته است ($P < 0/001$). بعلاوه شدت پروتئین PAWP، $90/73 \pm 11/48$ ، $92/51 \pm 11/81$ و $57/42 \pm 38/92$ به ترتیب در گروه کنترل، DGC و Zeta بود که در شکل ۲ نشان داده شده است که شدت پروتئین PAWP اسپرم در گروه Zeta به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های کنترل و DGC، می‌باشد ($P < 0/001$).

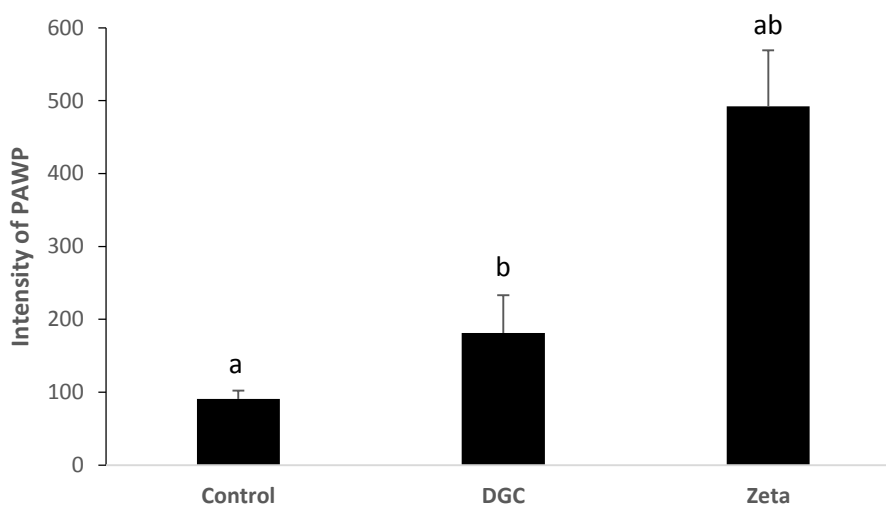
نمونه PI (Propidium Iodide, Sigma, Saint, Louis, USA) اضافه شد، و با استفاده از فلوسایتومتری تجزیه و تحلیل گردید (۱۹). لازم بذکر است که از همین روش، جهت ارزیابی الگوی مکانی PAWP، از طریق میکروسکوپ فلورسنت (BX51, Tokyo, Japan) استفاده گردید، با این تفاوت که کل پروسه بر روی اسلاید انجام شد. پس از جمع‌آوری نتایج، نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون One-Way ANOVA انجام گرفت. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد و P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

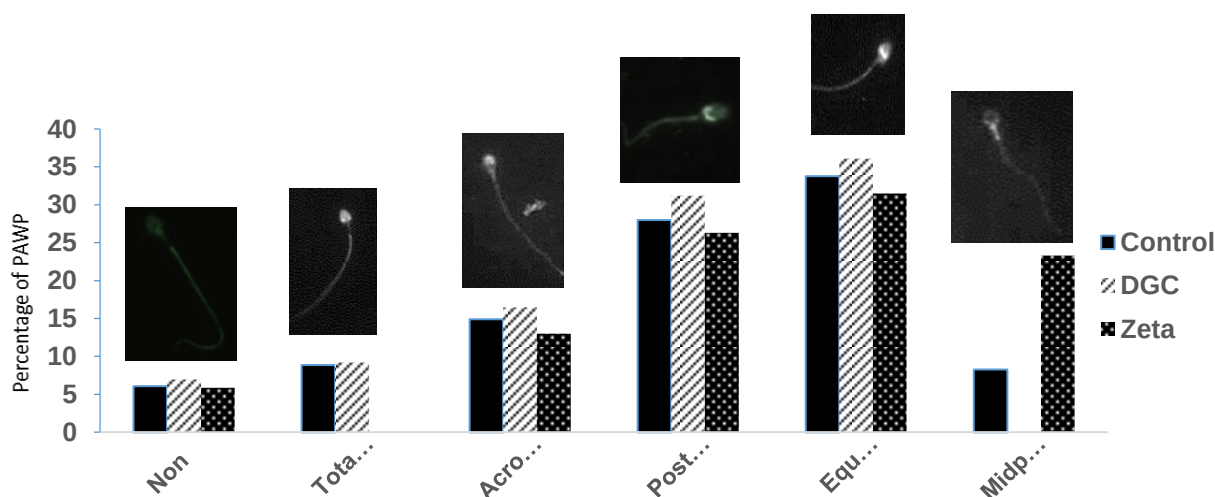
در این مطالعه از مایع منی ۱۳ مرد جهت ارزیابی پروتئین PAWP با روش فلوسایتومتری و ۱۰ مرد جهت ارزیابی پروتئین PAWP به هدف بررسی جایگاه PAWP در اسپرم توسط میکروسکوپ فلورسنت با پارامترهای اسپرمی طبیعی استفاده گردید. اطلاعات توصیفی پارامترهای اسپرمی برای ارزیابی PAWP با روش فلوسایتومتری بین روش‌های جداسازی اسپرمی عبارتند از: میانگین غلظت اسپرم $95/92 \pm 7/15$ میلیون در سی سی با حداقل و حداکثر بین ۱۴۰-۴۲، درصد تحرک اسپرم $64/23 \pm 2/10$ با حداقل و حداکثر بین ۷۵-۵۰، درصد مورفولوژی



شکل ۱: مقایسه درصد پروتئین PAWP بین گروه کنترل و دو روش آماده سازی اسپرم (DGC و Zeta). درصد پروتئین PAWP در روش DGC بطور معنی‌داری بیشتر از روش Zeta است. مقایسه گروه‌ها از طریق آزمون One-Way ANOVA انجام شده است.



شکل ۲: مقایسه شدت پروتئین PAWP بین گروه کنترل و دو روش آماده سازی اسپرم (DGC و Zeta).



شکل ۳: بررسی جایگاه پروتئین PAWP اسپرم انسانی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت. درصد بیان پروتئین PAWP در هر سه گروه مطالعه بیشتر در نواحی در نواحی استوایی و خلف آکروزوم اسپرم می باشد.

طبیعی می باشد، جهت تکنیک های کمک باروری از جمله ICSI استفاده می شود (۲۰). با توجه به اینکه جنین شناس در طی فرآیند ICSI، اسپرم را بر اساس شکل ظاهری و حیات انتخاب می کند، این اسپرم نمی تواند گویای سلامت کروماتین اسپرم که انتقال دهنده ی نیمی از ژنوم جنین آینده است، باشد (۲۱). سلامت غشاء اسپرم جهت فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله ظرفیت یابی و واکنش آکروزومی ضروری است و وضعیت آپوتوزی، منجر به فعال شدن مسیر مرگ سلولی شده و اسپرم به سمت مرگ پیش می رود (۲۲). لذا ارائه ی روش های نوین بر پایه ی برهم کنش های سلولی و مولکولی جهت جداسازی اسپرم های کارا ضروری به نظر می رسد. در این راستا، محققان روش های جدیدی را بر اساس رستپورهای سطحی، بار الکتریکی، سلامت غشاء، مارکهای

شدت پروتئین PAWP در روش Zeta بطور معنی داری بیشتر از روش DGC بود. مقایسه گروه ها از طریق آزمون One-Way ANOVA انجام شد، بعلاوه پروتئین PAWP در نواحی مختلف اجزای اسپرمی از جمله آکروزوم، ناحیه استوایی، خلف آکروزوم، کل سر و قطعه میانی قابل مشاهده بود که از بین ۱۰۰۰ اسپرم شمارش شده همانگونه که در شکل ۳ نشان داده شده است بیان پروتئین PAWP در هر سه گروه، بیشتر در نواحی استوایی و خلف آکروزوم اسپرم می باشد.

بحث

امروزه در بیشتر مراکز درمان ناباروری، از روش های DGC و Swim-up که تنها قادر به جداسازی اسپرم با مورفولوژی و تحرک

سطحی و غیره پیشنهاد نموده‌اند (۵، ۲۴، ۲۳). از بین این روش‌ها، روش جداسازی اسپرم بر پایه پتانسیل Zeta در سطوح مختلف تحقیقاتی و درمانی مطالعه شده و در حال حاضر نیز در حال تحقیق و بررسی می‌باشد. غشای اسپرم دارای پتانسیل Zeta می‌باشد که مشخص گردیده هر چه بار منفی غشاء اسپرم بیشتر، آن اسپرم بالغ‌تر و کارا تر است (۵). این بار منفی در طی عبور اسپرم از اپیدیدم با اضافه شدن اسیدهای سیالیک به سطح غشاء اسپرم کسب می‌گردد (۲۵). در مطالعات قبلی نشان داده شده است که یک ارتباط مثبت بین سلامت غشاء اسپرم و سلامت کروماتین اسپرم وجود دارد لذا در صورتی که اسپرم با بار منفی بیشتر جداسازی شود نشانگر بالغ بودن آن و سلامت غشاء و کروماتین است (۲۶، ۲۰). بنابراین با جداسازی اسپرم بر اساس این ویژگی‌ها در آزمایشگاه، می‌توان اسپرم‌ها را با کروماتین سالم‌تر که جهت لقاح و تکوین جنین ارزش به سزایی دارد، جداسازی نمود. در این راستا، مطالعات قبلی ثابت کردند که جداسازی اسپرم بر اساس بار الکتریکی می‌تواند نسبت به روش‌های معمول جداسازی اسپرم که در مراکز درمانی استفاده می‌شوند، اسپرم‌های سالم‌تر از لحاظ سلامت DNA، محتوای پروتئین، کروماتین و با مورفولوژی طبیعی‌تر را جداسازی کند (۲۷، ۶). بعلاوه جداسازی اسپرم بر اساس پتانسیل Zeta می‌تواند منجر به القاء فرآیند ظرفیت یابی شده و در نتیجه، اسپرم‌های کاراتری را می‌توان از این روش جداسازی نمود (۲۰). در سطح کلینیکی، میزان لقاح و حاملگی بین دو روش DGC و Zeta مورد قیاس قرار گرفت و مشخص شد که اسپرم‌های آماده شده به روش Zeta نسبت به روش DGC منجر به افزایش حاملگی پس از روش ICSI شده است (۷). از آنجایی که هدف اصلی در این مطالعه این است که فاکتور اسپرمی PAWP که در فعال شدن تخمک و تکوین اولیه جنین نقش دارد، بین دو روش DGC و Zeta مورد قیاس قرار گیرد، سوالی که در این مطالعه باید پاسخ داده شود این است که آیا اسپرم‌های جداسازی شده به روش Zeta که تاکنون اثبات شده از لحاظ کروماتین و عملکردی سالم‌تر می‌باشند، آیا قادر به جدا کردن اسپرم‌ها با محتوی PAWP بیشتر نسبت به روش DGC هست یا خیر؟ در صورتی که بتوان از روش Zeta اسپرم‌های حاوی PAWP بیشتری را جداسازی نمود می‌توان در آینده برای افراد نابارور که شکست در لقاح ICSI به طور مکرر داشته اند از این روش آماده سازی اسپرم استفاده نمود و میزان موفقیت لقاح و باروری را در این افراد بالا برد. در مراکز درمانی در افرادی که با شکست در لقاح پس از ICSI مواجه هستند از روش AOA استفاده می‌شود (۹). لذا می‌توان با ارائه راهکار درمانی در خصوص این افراد با بررسی حضور یا عدم حضور فاکتور اسپرمی PAWP که در فعال شدن تخمک نقش دارد، موفقیت این روش را پیش‌بینی کرد. بدین جهت برای بررسی اینکه آیا با جداسازی اسپرم‌های دارای PAWP

بیشتر نسبت به روش‌های معمول می‌توان میزان لقاح پس از ICSI را افزایش داد و یا برای آن‌ها باید به دنبال ICSI روش فعال‌سازی مصنوعی تخمک (AOA) را انجام داد، پروتئین PAWP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه کنونی نشان می‌دهد که درصد اسپرم‌های دارای PAWP به طور معنی‌داری در روش Zeta پایین‌تر از روش DGC می‌باشد. در صورتی که شدت پروتئین PAWP در روش Zeta به طور معنی‌داری بیشتر از DGC می‌باشد. این نتایج بیانگر آن است که، اگر چه روش Zeta تعداد اسپرم دارای PAWP کمتری را نسبت به DGC جداسازی می‌کند ولی شدت پروتئین PAWP در این اسپرم‌های جدا شده بیشتر از روش DGC است، لذا، جهت تکنیک ICSI می‌توان اسپرم‌هایی که بیان‌کننده شدت بیشتری از پروتئین PAWP هستند را جداسازی نموده و به داخل تخمک تزریق نمود. بنابراین احتمالاً می‌توان شانس میزان لقاح و باروری را از این طریق افزایش داد. در این راستا، Kashir و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که روش DGC قادر به جداسازی اسپرم‌ها با پروتئین PLC بیشتر نسبت به نمونه اسپرمی شسته شده می‌باشد (۲۸). نتایج مطالعه حاضر نیز موید نتایج قبلی حاکی از تاثیر روش DGC در جداسازی درصد بیشتری از پروتئین اسپرمی PAWP است، با این تفاوت که نوع فاکتور اسپرمی فعال‌کننده تخمک و روش ارزیابی بین دو مطالعه یکسان نبوده‌اند. بعلاوه نتایج این مطالعه بیانگر آن است که در هر سه گروه مطالعه، جایگاه قرارگیری PAWP بیشتر در ناحیه پری نوکلئار سر اسپرم می‌باشد. پری نوکلئار از سه قسمت تشکیل شده که شامل ناحیه زیر آکروزومی، استوایی و خلف آکروزومی می‌باشد. در طی فرآیند اسپرمیوژن، PAWP از جمله پروتئین‌هایی است که توسط ساختار میکروتوبولی بنام مانشت به ناحیه خلف آکروزومی جایی که فاکتورهای اسپرمی دخیل در فعال شدن تخمک حضور دارند، انتقال می‌یابد. در هر سه گروه کنترل، DGC و Zeta بیشترین درصد اسپرم‌های دارای PAWP در ناحیه خلف آکروزومی و استوایی قرار دارند. لذا جایگاه این پروتئین با عملکرد آن در طی فرآیند لقاح تطابق دارد (۱۷، ۱۸). Grasa و همکاران (۲۰۰۸) نیز جایگاه PLC را به عنوان دیگر پروتئین منتخب در فعال شدن تخمک در ناحیه غلاف خلف آکروزومی و استوایی سر اسپرم شناسایی کرده بودند (۲۹). بعلاوه Aarabi و همکاران سال ۲۰۱۲ نیز جایگاه PAWP را در سر اسپرم در ناحیه غلاف خلف آکروزومی گزارش نموده‌اند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۳۰). این اولین مطالعه‌ای است که جایگاه پروتئین PAWP را پس از دو روش جداسازی اسپرم مورد بررسی قرار داده است.

نتیجه‌گیری

اگرچه روش Zeta قادر به جداسازی درصد کمتری از اسپرم‌های حاوی PAWP نسبت به DGC می‌باشد ولی اسپرم‌های

جداسازی شده با این روش دارای شدت PAWP بیشتری نسبت به DGC می‌باشد، لذا احتمال شانس فعال شدن تخمک توسط این اسپرم‌ها بیشتر است. بعلاوه در هر دو روش جداسازی اسپرم، بیشترین درصد اسپرم‌ها در ناحیه خلف آکروزومی و استوایی، دارای پروتئین PAWP هستند، جایگاهی که فیوژن اسپرم-تخمک در طی لقاح صورت می‌گیرد.

قدردانی

این طرح با همکاری پژوهشکده رویان و مرکز باروری و ناباروری اصفهان انجام گرفته است. لذا نویسندگان از کلیه مسئولین و پرسنل مراکز فوق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع مالی

نتایج این مقاله استخراج شده از طرح به شماره ۹۴۰۰۰۳۰۰ می‌باشد که در پژوهشگاه رویان به تصویب رسیده و هزینه‌های این طرح متعلق به این موسسه است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

صادقی درمیانی الف و خاکپور اصفهانی ش، اجرای طرح و جمع‌آوری داده‌ها را بر عهده داشتند. اربابیان م در اجرای طرح کمک نموده است. بهادرانی م استاد راهنمای این طرح بوده است. م تولائی و نصر اصفهانی م ح، آنالیز داده‌ها و تالیف مقاله را بر عهده داشته و نسخه نهایی آن را تایید کرده‌اند.

References

1. WHO. World Health Organization Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2010.
2. Cissen M, Bensdorp A, Cohlen B J, Repping S, de Bruin JP, van Wely M. Assisted reproductive technologies for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; **2**: doi: 10.1002/14651858.CD000360.pub5
3. Avendaño C, Franchi A, Taylor S, Morshedi M, Bocca S, Oehninger S. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertil Steril* 2009; **91**(4): 1077-1084. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.015
4. Mehta A, Sigman M. Identification and Preparation of Sperm for ART. *Urol Clin North Am* 2014; **41**(1): 169-180. doi: 10.1016/j.ucl.2013.08.005.
5. Chan P J, Jacobson J D, Corselli J U, Patton W C. A simple zeta method for sperm selection based on membrane charge. *Fertil Steril* 2006; **85**(2): 481-486. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.07.1302
6. Kheirollahi-Kouhestani M, Razavi S, Tavalae M, Deemeh M R, Mardani M, Moshtaghian J, et al. Selection of sperm based on combined density gradient and Zeta method may improve ICSI outcome. *Hum Reprod* 2009; **24**(10): 2409-2416. doi: 10.1093/humrep/dep088
7. Nasr-Esfahani M H, Deemeh M R, Tavalae M, Sekhavati M H, Gourabi H. Zeta sperm selection improves pregnancy rate and alters sex ratio in male factor infertility patients: A double-blind, randomized clinical trial. *Int J Fertil Steril* 2016; **10**(2): 253-260.
8. Javed M, Esfandiari N, Casper R F. Failed fertilization after clinical intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biomed Online* 2010; **20**(1): 56-67. doi: 10.1016/j.rbmo.2009.10.010
9. Ebner T, Montag M. Artificial oocyte activation: Evidence for clinical readiness. *Reprod Biomed Online* 2016; **32**(3): 271-273. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.12.004
10. Nasr-Esfahani M H, Deemeh M R, Tavalae M. Artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2010; **94**(2): 520-256. doi: 10.1080/14647273.2016.1240374
11. Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, De Roo C, Lierman S, Qian C, Schmitt-John T, et al. Comparison of pre-and post-implantation development following the application of three artificial activating stimuli in a mouse model with round-headed sperm cells deficient for oocyte activation. *Hum Reprod* 2013; **28**(5): 1190-1198. doi: 10.1093/humrep/det038
12. Yeste M, Jones C, Amdani SN, Patel S, Coward K. Oocyte activation deficiency: A role for an oocyte contribution? *Hum Reprod Update* 2016; **22**(1): 23-47. doi: 10.1093/humupd/dmv040
13. Muciaccia B, Sette C, Paronetto M P, Barchi M, Pensini S, D'Agostino A, et al. Expression of a truncated form of KIT tyrosine kinase in human spermatozoa correlates with sperm DNA integrity. *Hum Reprod* 2010; **25**(9): 2188-2202. doi: 10.1093/humrep/deq168
14. Aarabi M, Balakier H, Bashar S, Moskovtsev S I, Sutovsky P, Librach C L, et al. Sperm-derived WW domain-binding protein, PAWP, elicits calcium oscillations and oocyte activation in humans and mice. *FASEB J* 2014; **28**(10): 4434-4440. doi: 10.1096/fj.14-256495

15. Swann K, Lai FA. PLC and the initiation of Ca^{2+} oscillations in fertilizing mammalian eggs. *Cell Calcium* 2013; **53**(1): 55-62. doi: 10.1016/j.ceca.2012.11.001
16. Lee H C, Army M, Grow D, Dumesic D, Fissore R A, Jellerette-Nolan T. Protein phospholipase C Zeta1 expression in patients with failed ICSI but with normal sperm parameters. *J Assist Reprod Genet* 2014; **31**(6): 749-756. doi: 10.1007/s10815-014-0229-9
17. Aarabi M, Balakier H, Bashar S, Moskovtsev S I, Sutovsky P, Librach CL, et al. Sperm content of postacrosomal WW binding protein is related to fertilization outcomes in patients undergoing assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2014; **102**(2): 440-447. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.003
18. Wu ATH, Sutovsky P, Manandhar G, Xu W, Katayama M, Day BN, et al. PAWP, a sperm-specific WW domain-binding protein, promotes meiotic resumption and pronuclear development during fertilization. *J Biol Chem* 2007; **282**(16): 12164-12175. doi:10.1074/jbc.M609132200
19. Tavalae M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani M H. Relationship between Potential Sperm Factors Involved in Oocyte Activation and Sperm DNA Fragmentation with Intra-Cytoplasmic Sperm Injection Clinical Outcomes. *Cell Journal(Yakhteh)* 2016; **18**(4): 588-596.
20. Zarei-Kheirabadi M, Shayegan nia E, Tavalae M, Deemeh M R, Arabi M, Forouzanfar M, et al. Evaluation of ubiquitin and annexin V in sperm population selected based on density gradient centrifugation and zeta potential (DGC-Zeta). *J Assist Reprod Genet* 2012; **29**(4): 365-371. doi: 10.1007/s10815-011-9689-3
21. Avendaño C, Oehninger S. DNA fragmentation in morphologically normal spermatozoa: how much should we be concerned in the ICSI era? *J androl* 2011; **32**(4): 356-363. doi:10.2164/jandrol.110.012005
22. Grunewald S, Kriegel C, Baumann T, Glander H J, Paasch U. Interactions between apoptotic signal transduction and capacitation in human spermatozoa. *Human Reproduction* 2009; **24**(9): 2071-2078. doi: 10.1093/humrep/dep178
23. Nasr-Esfahani M H, Razavi S, Vahdati A A, Fathi F, Tavalae M. Evaluation of sperm selection procedure based on hyaluronic acid binding ability on ICSI outcome. *J Assist Reprod Genet* 2008; **25**(5): 197-203. doi: 10.1007/s10815-008-9223-4
24. Said T M, Agarwal A, Grunewald S, Rasch M, Glander HJ, Paasch U. Evaluation of sperm recover following annexin V magnetic-activated cell sorting separation. *Reprod Bio Med Online* 2006; **13**(3): 336-339.
25. Della Giovampaola C, Flori F, Sabatini L, Incerti L, La Sala G B, Rosati F, et al. Surface of human sperm bears three differently charged CD52 forms, two of which remain stably bound to sperm after cap citation. *Mol Reprod Dev* 2001; **60**(1): 89-96 doi: 10.1002/mrd.1065
26. Khajavi N A, Razavi S, Mardani M, Tavalae M, Deemeh MR, Nasr-Esfahani M H. Can Zeta sperm selection method, recover sperm with higher DNA integrity compare to density gradient centrifugation? *IJRM* 2009; **7**(2): 73-77.
27. Kam T L, Jacobson J D, Patton W C, Corselli J U, Chan P J. Retention of membrane charge attributes by cryopreserved-thawed sperm and zeta selection. *J Assist Reprod Genet* 2007; **24**(9): 429-434. doi: 10.1007/s10815-007-9158-1
28. Kashir J, Heynen A, Jones C, Durrans C, Craig J, Gadea J, et al. Effects of cryopreservation and density-gradient washing on phospholipase C zeta concentrations in human spermatozoa. *Reprod Biomed Online* 2011; **23**(2): 263-267. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.04.006
29. Grasa P, Coward K, Young C, Parrington J. The pattern of localization of the putative oocyte activation factor, phospholipase Cz, in uncapacitated, capacitated, and ionophore-treated human spermatozoa. *Human Reproduction* 2008; **23**(11): 2513-2522. doi: 10.1093/humrep/den280
30. Aarabi M, Yu Y, Xu W, Tse MY, Pang SC, Yi YJ, et al. The Testicular and Epididymal Expression Profile of PLCf in Mouse and Human Does Not Support Its Role as a Sperm-Borne Oocyte Activating Factor. *PLoS One* 2012; **7**(3): 33496. doi: 10.1371/journal.pone.0033496

Original Article

The effect of isokinetic training on pain and function in patients with knee osteoarthritis: clinical trial

Amaneh Abdollahi¹, Bijan Goodarzi^{2*}, Seyed Kazem Shakoori³

¹MA Student, Department of Sports Injury and Corrective Exercises, Boroujerd Branch, Faculty of Physical Education, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran

²Physical Education and Sports Science, Boroujerd Branch, Faculty of Physical Education, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran

³Physical Medicine and Rehabilitation Research Center, Faculty of Medical Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: bijan35454@yahoo.com

Received: 13 March 2017 Accepted: 6 July 2017 First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):56-64

Abstract

Background: Osteoarthritis (OA) is one of the prevalent diseases in joints that the Knee joint is the most frequently involved than other joint. Its been shown that these patients get quadriceps muscles weakness deficits in knee. The aim of this study is evaluation of the effect of isokinetic exercise on knee pain, stiffness and the function of joint knee in patients with knee osteoarthritis.

Methods: In this clinical traits studytrial 30 women ranging from 45-65 with average knee osteoarthritis were studied in two groups of control and introversion according to America Society of Rheumatology criteria. The control group received the routine protocol treatment of knee osteoarthritis physiotherapy. The case group (as isokinetic training group) in addition to routine protocol received isokinetic training. The rate of the patients' pain was measured by McGill pain questionnaire and their function by WOMAC questionnaire before and after implementation workouts.

Results: All parameters in both isokinetic exercises and physiotherapy groups, improved after treatment process.($P < 0.05$). While comparison of variation in intergroups/ between groups showed which isokinetic exercises along with physiotherapy treatment have good function in improvment and intensity of pain reduction compare of physiotherapy treatmentand ($P < 0.001$, $P < 0.001$ and $P = 0.008$).

Conclusion: The increase of isokinetic exercises to physiotherapy treatment significantly enhanced functional and reduced patient's knee pain compared to patients that are treated with physiotherapy.

Keyword: Knee Osteoarthritis, Physiotherapy, Muscle Stergth.

How to cite this article: Abdollahi A, Goodarzi B, Shakoori S K. [The effect of isokinetic training on pain and function in patients with knee osteoarthritis: clinical traits]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):56-64. Persian.

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرینات ایزوکینتیک بر درد و عملکرد مبتلایان به استئوآرتریت زانو: کارآزمایی بالینی

آمنه عبداللهی^۱، بیژن گودرزی^{۲*}، سید کاظم شکوری^۳

^۱ دانشجوی کارشناس ارشد حرکات اصلاحی و آسیب شناسی ورزشی واحد بروجرد، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
^۲ گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
^۳ مرکز تحقیقات طب فیزیکی و توان بخشی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
 * نویسنده مسوول؛ ایمیل: bijan35454@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۴ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۵۶-۶۴

چکیده

زمینه: از جمله بیماری های شایع در مفاصل، استئوآرتریت است. مفصل زانو که در آن بیماران دچار ضعف عضلانی چهار سر ران می شوند، بیش از هر مفصلی درگیر این بیماری می باشد. هدف از انجام این تحقیق تأثیر یک دوره تمرینات ایزوکینتیک بر میزان درد، خشکی مفصل و عملکرد مفصل زانو در مبتلایان به استئوآرتریت زانو می باشد.

روش کار: در این مطالعه که از نوع کارآزمایی بالینی می باشد، ۳۰ بیمار زن در محدوده سنی ۴۵ تا ۶۵ سال با استئوآرتریت متوسط زانو بر اساس معیارهای انجمن روماتولوژی آمریکا در ۲ گروه کنترل و مداخله مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه اول (فیزیوتراپی یا کنترل)، پروتکل های رایج درمان فیزیوتراپی استئوآرتریت زانو را دریافت کردند. گروه دوم (مداخله یا ایزوکینتیک) علاوه بر پروتکل های رایج درمان تمرینات ایزوکینتیک را هم دریافت کردند. میزان درد بیماران توسط پرسشنامه درد مک گیل و میطان درد، خشکی مفصل و عملکرد آن ها توسط پرسشنامه womac در قبل و پس از اجرای تمرینات سنجیده شد.

یافته ها: مقایسه تغییرات درون گروهی نشان داد که تمام پارامترها هم در گروه ایزوکینتیک و هم در گروه فیزیوتراپی پس از درمان بهبود یافته بودند ($P < 0/05$). این در حالی است که مقایسه تغییرات بین گروهی نشان داد که تمرینات ایزوکینتیک به همراه درمان فیزیوتراپی رایج، در بهبود عملکرد و کاهش شدت درد موثرتر از درمان فیزیوتراپی بوده است ($P < 0/001$ و $P < 0/001$ و $P = 0/008$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که افزودن تمرینات ایزوکینتیک به درمان فیزیوتراپی به طور معناداری موجب بهبود عملکرد و کاهش شدت درد زانو بیماران می گردد.

کلیدواژه ها: استئوآرتریت زانو، فیزیوتراپی، قدرت عضلانی

نحوه استناد به این مقاله: عبداللهی آ، گودرزی ب، شکوری س ک. تأثیر تمرینات ایزوکینتیک بر درد و عملکرد مبتلایان به استئوآرتریت زانو: کارآزمایی بالینی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۵۶-۶۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپیروایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

در دنیای امروز ورزش به یکی از ارکان مهم و جزء جدایی ناپذیر زندگی بشری تبدیل شده است که موجب توانمندی افراد جامعه می شود و وجود افراد سالم و توانمند بزرگترین سرمایه ملی در هر جامعه ای می باشد. حفظ و ارتقای این رکن مهم درگرو توجه مناسب و پرداختن به دانش تخصصی ورزش است (۱). افزایش تعداد جمعیت افراد مسن در سراسر جهان مهم ترین تغییر در زمینه سلامت عمومی در قرن ۲۱ محسوب می گردد (۲)، به طوری که تخمین زده می شود تعداد افراد مسن تر از ۶۵ سال تا ۲۰ سال آینده دو برابر، خواهد شد. بنابراین، استئوآرتروز و بیماری های مشابه که بیشتر در سنین بالا مشاهده می شوند، از هر دو جنبه سلامت و اقتصاد از اهمیت بیشتری برخوردار خواهند گردید (۳). همچنین با توجه به افزایش امید به زندگی و پیر شدن جمعیت انتظار می رود تا سال ۲۰۲۰، استئوآرتروز به جایگاه چهارم در علل ناتوانی در کشورهای توسعه یافته تبدیل شود (۱).

از آنجا که ثبات، استحکام و تحمل وزن بدن از وظایف مفصل زانو می باشد و ایجاد ضایعه و درد در این مفصل باعث تسریع تغییرات دژنراتیو یا فرسایشی سطوح می شود، استئوآرتروز زانو شایع ترین بیماری مفصلی است که در بیشتر افراد جامعه گزارش شده است و انجام تمرینات ورزشی برای جلوگیری از پیشرفت و کاهش درد و توانایی عملکردی آن مهم می باشد (۴).

این بیماری در زنان شایع تر از مردان بوده و در درازمدت باعث دردهای ناتوان کننده، اختلال عملکرد، ضعف عضلانی اطراف مفصلی به دنبال عدم استفاده در زمینه درد شدید و همچنین تعویض مفصل و هزینه های بالا می گردد که نیاز به بهبود شیوه های درمانی را برجسته می سازد. علاوه بر درمان های دارویی، استفاده از درمان های توان بخشی و فیزیوتراپی نقش عمده ای در کاهش درد و بهبود عملکرد مبتلایان به استئوآرتروز زانو بر عهده دارد (۵).

از جمله درمان های توان بخشی و فیزیوتراپی که نقش عمده ای در کاهش درد و بهبود عملکرد مبتلایان به استئوآرتروز زانو دارد، می توان به تمرینات ایزوکیتیک اشاره کرد. این تمرینات باعث تقویت عضلات چهار سر ران می شود. در انقباض ایزوکیتیک سرعت اجرای حرکت ثابت بوده که نشان دهنده اعمال فشار متناسب به دستگاه اسکلتی عضلانی می باشد؛ بنابراین به منظور ایجاد یک حرکت با سرعت ثابت، دستگاه ایزوکیتیک می بایست یک گشتاور مقاوم متغیر متناسب با ظرفیت و توان عضلانی وارد نماید. از مهم ترین مزایای انقباضات ایزوکیتیک می توان اعمال بیشتر گشتاور روی عضلات، سازگاری بار با سیستم اهرمی عضلات، انقباض عضلات با حداکثر تنش ممکن و کاهش آسیب های اسکلتی عضلانی نام برد. این دستگاه حرکات غیرفعال جهت توان بخشی را به صورت کاهش زاویه مفصل، افزایش دامنه حرکت و افزایش کشش انجام می دهد (۶). Jegu و همکاران در

مطالعه خود با عنوان تأثیر تقویت ایزوکیتیک اکستریک در توان بخشی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو نتایج نشان دادند که بیماران در تمرینات ایزوکیتیک کمتر شاهد افزایش ضربان قلب و فشارخون در مقایسه با تمرینات ایزومتریک می گردند. این امر می تواند از اهمیت خاصی در بیماران مسن تر برخوردار باشد (۵، ۶). Rosa و همکاران در مقایسه اثربخشی ورزش ایزوکیتیک در مقابل ایزومتریک در بیماران استئوآرتروز زانو به این نتیجه رسیدند تمرینات ایزوکیتیک منجر به تحرک بهتر مفصل ها می شود (۷). Weng و همکاران تحت مطالعه ای تأثیر تکنیک های انقباضی مختلف در نتیجه ی تمرین های ایزوکیتیک را بر روی بیماران مبتلا به استئوآرتروز زانو مورد بررسی قرار دادند و در آن بیمارانی که تمرینات ایزوکیتیک، کششی، تمرینات عصبی - عضلانی و تمرینات حسی - عمقی انجام داده بودند، کاهش قابل توجهی در درد و توانایی عملکرد نسبت به بیمارانی که فقط یک نوع تمرینات انجام داده بودند، نشان دادند (۸).

Maurer و همکاران در بررسی اثرات تمرین ایزوکیتیک بر عضلات چهار سر ران در مقایسه با برنامه آموزشی در مبتلایان به استئوآرتروز زانو به این نتیجه رسیدند که گروه تقویت ایزوکیتیک، کاهش درد و عملکرد بهتری نسبت به گروه کنترل داشتند (۹). با توجه به شیوع زیاد، کاهش سن بیماران و عوارض استئوآرتروز زانو که باعث کاهش عملکرد و ناتوانی در نتیجه وابستگی فرد به دیگران می شود، در این راستا بر آن شدیم تا در جهت بهبود شیوه های درمانی و کاهش بار مالی بر سیستم سلامت کشور، تأثیر تمرینات ایزوکیتیک در مبتلایان به استئوآرتروز زانو را مورد مطالعه قرار دهیم.

روش کار

مطالعه حاضر کار آزمایشی بالینی تصادفی و از نوع تحقیقات نیمه تجربی می باشد. اطلاعات این مطالعه در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران با شماره (IRCT2016070727359N3) ثبت گردید. با در نظر گرفتن متغیر درد بر اساس مقیاس VAS به عنوان پیامد اولیه و مقاله Weng و همکاران در سال ۲۰۱۲ و همچنین با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، توان آزمون برابر با ۰/۸ و در آزمون دوطرفه حجم نمونه ۱۳ نفر در هر گروه برآورد گردید که با در نظر گرفتن ۱۰ درصد احتمال ریزش، حجم نمونه نهایی ۱۵ نفر در هر گروه به دست آمد. پیامد ثانویه در این مطالعه عملکرد می باشد (۸). در این مطالعه از میان بیماران مراجعه کننده به بخش فیزیوتراپی بیمارستان امام رضا (ع) شهر تبریز، ۳۰ زن مبتلا به استئوآرتروز زانو با درجه بیماری نسبتاً متوسط (درجه ۲ و ۳) که پس از بررسی های معمول کلینیکال و رادیولوژیک و تأیید تشخیص استئوآرتروز زانو، نیاز به اقدامات فیزیوتراپی داشتند، به

با کاهش شدید فاصله. از این بین بیماران با درجه ۲ و ۳ وارد مطالعه شدند. همچنین برای ارزیابی عملکرد زانو از پرسشنامه تعدیل شده Womac و برای سنجش درد از پرسشنامه مک گیل مورد استفاده قرار گرفت. اندکس Womac: این ابزار از مهم ترین مقیاس ها در ارزیابی درمان استئوآرتریت و تأثیر بر کیفیت عملکرد زندگی بیماران مبتلا به شمار می رود و شامل سه قسمت با جمعاً ۲۴ سؤال می باشد. قسمت اول شامل ۵ سؤال در مورد وجود درد موقع انجام برخی کارها (۲۰-۰)، قسمت دوم در مورد خشکی مفاصل شامل ۲ سؤال (۸-۰) و قسمت سوم وجود مشکل در انجام کارهای روزانه و فعالیت عملکردی بوده و شامل ۱۷ سؤال می باشد (۶۸-۰) که هر سؤال دارای ۵ قسمت عدم وجود، خفیف، متوسط، شدید بوده و امتیازبندی می شود (از ۴ تا ۰) نمره گذاری می شود. امتیاز بالا بیانگر شدید بودن علائم و محدودیت بیشتر است. این پرسشنامه دارای ارزش فراوان در بررسی تأثیرات مداخلات دارویی یا توان بخشی در مبتلایان به استئوآرتریت زانو است (۱۰-۱۲). روایی و پایایی نسخه فارسی این پرسشنامه توسط نیک نژاد حسینی در پایان نامه درجه دکترای تخصصی با موضوع اعتبار و پایایی ترجمه این پرسشنامه در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو تأیید شده است (۱۳).

پرسشنامه درد مک گیل در سال ۱۹۹۷ توسط ملزاک ساخته شد که دارای ۲۰ مجموعه عبارت بوده و هدف آن سنجش درک افراد از درد می باشد. هر سؤال ۵ الی ۶ گزینه دارد که به گزینه اول نمره ۱ و گزینه ششم نمره ۶ داده می شود. در دو مرتبه قبل و بعد تمرینات پرسشنامه تکمیل می گردد و نمره هر مرتبه باهم جمع شده و نمره کلی به دست می آید، که تفاوت بین آن ها نشانگر تأثیر تمرینات بر میزان درد است. همچنین کمترین نمره صفر یعنی هیچ یک از عبارات را مطابق با توصیف درد خود ندانست و بیشترین نمره ۷۵ که نشان دهنده میزان ادراک درد بالاتر در فرد پاسخ دهنده است، تعلق می گیرد. در پژوهش دورکین روایی و پایایی این پرسشنامه مورد تأیید قرار گرفته است به طوری که ضریب آلفای کرونباخ برای این ابزار بین ۰/۸۳ تا ۰/۸۷ به دست آمده است (۱۴، ۱۵).

در بخش تحلیل داده ها، برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و برای بررسی همگنی واریانس ها از آزمون لون استفاده شد. با توجه به عدم برقراری پیش فرض های آزمون های پارامتری، برای ارزیابی تغییرات درون گروهی از آزمون ویلکاکسون و برای ارزیابی تغییرات بین گروهی از آزمون من ویتنی استفاده گردید. برای مقایسه تأثیر مداخله در گروه ها از آزمون آنالیز کوواریانس استفاده شد. کلیه آزمون ها دوطرفه و در سطح معناداری ۰/۰۵ و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گردید. نمودارها در نرم افزار Graphpad نسخه ۶/۰۱ ترسیم شد.

روش نمونه گیری در دسترس انتخاب و به صورت تصادفی و با استفاده از توالی اعداد تصادفی در دو گروه قرار گرفتند. معیارهای ورود مطالعه عبارت بودند از: داشتن استئوآرتریت زانو درجه ۲ و ۳، سن بین ۴۵ تا ۶۵، کریپتاسیون هنگام حرکت مفصل، خشکی مفصل کمتر از ۳۰ دقیقه، استئوآرتریت درجه ۲ تا ۳، عدم مبتلا به سرطان، عدم حاملگی، عدم اختلال تعادل، عدم وجود جراحت پوستی در اطراف زانو، عدم ابتلا به دیابت، یافته های تحقیقی مثل استئوفیت، کاهش فاصله مفصلی. همچنین استئوآرتریت ثانویه، داشتن سابقه جراحی و یا تزریقی داخل مفصلی در عرض ۶ ماه اخیر، داشتن هرگونه بیماری نورولوژیک مختل کننده، استئوآرتریت زانوی خیلی پیشرفته، سابقه شکستگی در استخوان های اندام تحتانی با درگیری سطح مفصلی زانو، ابتلا به بیماری حاد، وجود درد در حین انجام تمرینات، تشدید درد در تمرینات به عنوان معیارهای خروج مطالعه در نظر گرفته شدند. در ابتدا فرم جمع آوری اطلاعات که از طریق آن سن، وزن، قد، میزان فعالیت بدنی، سابقه بیماری یا داروهای مصرف شده، وجود آسیب، ضربه یا جراحی در مفصل زانوی افراد مشخص می شد، توسط آزمونگر به صورت مصاحبه حضوری تکمیل و شرایط سلامتی یا بیماری و آسیب دیدگی این افراد کنترل گردید. پس از این که مطالعه به تأیید کمیته علمی گروه توان بخشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز رسید، بیماران واجد شرایط با امضای فرم رضایت آگاهانه به روش تصادفی در دو گروه آزمایش و کنترل وارد مطالعه شدند. گروه آزمایش به مدت ۱۸ جلسه تمرینات ایزو کینتیک با دستگاه بایودکس ۴ و فیزیوتراپی رایج شامل Fes و Hot Pack دریافت نمودند. در این گروه انقباضات کانستریک با فلکشن ۱۰ الی ۹۰ درجه، سرعت ۶۰ الی ۹۰ درجه بر ثانیه، ۱۰ تکرار با ۶ ست که بین ست ها ۳۰ الی ۶۰ ثانیه استراحت داده می شد. برای گروه کنترل تنها درمان فیزیوتراپی رایج در نظر گرفته شد. مصرف هرگونه داروهای ضداالتهابی غیراستروئیدی و سایر داروهای ضد درد و داروهای ضدافسردگی در طول دوره تحقیق ممنوع شد. اندازه گیری ها و ثبت اطلاعات در دو مرحله قبل از مداخله و بعد از مداخله (شش هفته پس از آخرین جلسه مداخله)، در بخش آزمایشگاه مرکز تحقیقات طب فیزیکی و توان بخشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گردید. برای توصیف درجه بندی (شدت) بیماری از معیار Kallgren-lawrence استفاده شد که به طور گسترده در کارآزمایی های بالینی مورد استفاده قرار می گیرد. در این تقسیم بندی، مفصل درگیر به ۵ قسمت تقسیم می شود (۴-۰) که وجود استئوفیت، کاهش فضای مفصلی و اسکروز تحت غضروفی، معیار تقسیم بندی است و به صورت ذیل می باشد: ۰) نرمال بودن استئوآرتریت، ۱) استئوفیت های مشکوک، ۲) استئوفیت مشخص بدون کاهش فاصله مفصلی واضح، ۳) استئوفیت های متعدد با کاهش فضای مفصلی واضح، ۴) استئوفیت های مشخص

یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۳۰ بیمار زن در محدوده سنی ۴۵ تا ۶۵ سال با استئوآرتریت زانو متوسط بر اساس معیارهای انجمن روماتولوژی آمریکا (۱۶)، تحت ۲ گروه کنترل و مداخله وارد مطالعه شدند (جدول ۱). مقایسه اطلاعات جمعیت‌شناختی و بالینی نشان داد که گروه‌ها از لحاظ متغیرهای سن ($P = ۰/۶۲۲$)، شاخص توده بدنی ($P = ۰/۵۲۶$) و درجه بیماری ($P = ۰/۷۲۴$) اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند. همچنین در دو گروه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای در نمره کل پرسش‌نامه Womac و زیر مقیاس‌های آن (درد، خشکی مفصل و عملکرد) و شدت درد مک گیل در ابتدای مطالعه مشاهده نشد ($P = ۰/۹۳۵$, $P = ۰/۸۰۶$, $P = ۰/۰۹۸$, $P > ۰/۹۹۹$, $P > ۰/۹۹۹$) (جدول ۲).

مقایسه تغییرات درون‌گروهی نشان داد که تمام پارامترها هم در گروه ایزوکتیک و هم در گروه فیزیوتراپی پس از درمان نسبت به قبل از درمان بهبود یافته بودند ($P < ۰/۰۵$). نتایج تغییرات بین گروهی حاصل از جدول ۳ نشان داد که هر چند هر دو درمان توانسته بودند پارمترهای مورد مطالعه را نسبت به قبل از درمان بهبود بخشند اما با این حال بیمارانی که برای آن‌ها تمرینات ایزوکتیک به درمان رایج فیزیوتراپی افزوده شده بود، عملکرد بهتری از بیماران گروه فیزیوتراپی در نمره کل پرسش‌نامه Womac ($P < ۰/۰۰۱$) و زیر مقیاس‌های درد ($P = ۰/۰۰۸$) و عملکرد ($P < ۰/۰۰۱$) آن و همچنین نمره شدت درد پرسش‌نامه مک گیل ($P < ۰/۰۰۱$) نشان دادند (نمودار ۱ و ۲).

جدول ۱. مشخصات جمعیت شناختی و بالینی بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو

متغیر	دامنه تغییرات (انحراف استاندارد ± میانگین)
سن (سال)	۵۲/۲۴ ± ۶/۵۷ (۴۵ - ۶۸)
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۹/۸۸ ± ۳/۶۵ (۲۳/۴۰ - ۳۷/۴۰)
درجه بندی بیماری	۲/۴۳ ± ۰/۵۲ (۲ - ۳)

جدول ۲. مشخصات جمعیت شناختی و بالینی بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو در دو گروه ایزوکتیک و فیزیوتراپی در ابتدای مطالعه

متغیر	گروه ایزوکتیک (= n۱۵) انحراف استاندارد ± میانگین	گروه فیزیوتراپی (= n۱۵) انحراف استاندارد ± میانگین	P-value*
سن (سال)	۵۱/۶۰ ± ۶/۳۵	۵۲/۸۰ ± ۶/۸۰	۰/۶۲۲
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۳۰/۵۶ ± ۴/۶۶	۲۹/۲۱ ± ۳/۰۱	۰/۵۲۶
درجه بندی بیماری	۲/۴۷ ± ۰/۵۲	۲/۴۰ ± ۰/۵۱	۰/۷۲۴
درد	۱۱/۶۷ ± ۲/۰۲	۱۱/۲۰ ± ۳/۴۸	۰/۸۰۶
خشکی مفصل	۵/۲۷ ± ۱/۲۸	۶/۰۷ ± ۱/۰۳	۰/۰۹۸
عملکرد	۴۱/۴۷ ± ۶/۸۳	۴۱/۰۰ ± ۹/۲۲	> ۰/۹۹۹
کل	۵۸/۴۰ ± ۸/۹۲	۵۸/۲۷ ± ۱۲/۰۴	۰/۹۳۵
شدت درد	۴۳/۸۳ ± ۶/۲۳	۴۳/۱۳ ± ۴/۶۵	> ۰/۹۹۹

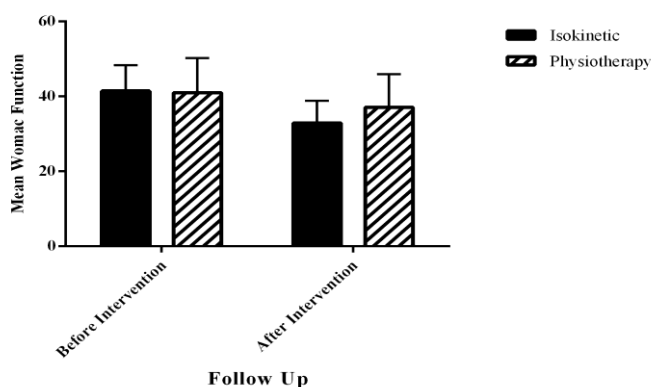
*آزمون من-ویتنی

جدول ۳. مقایسه عملکرد و شدت درد بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو در دو گروه ایزوکتیک و فیزیوتراپی

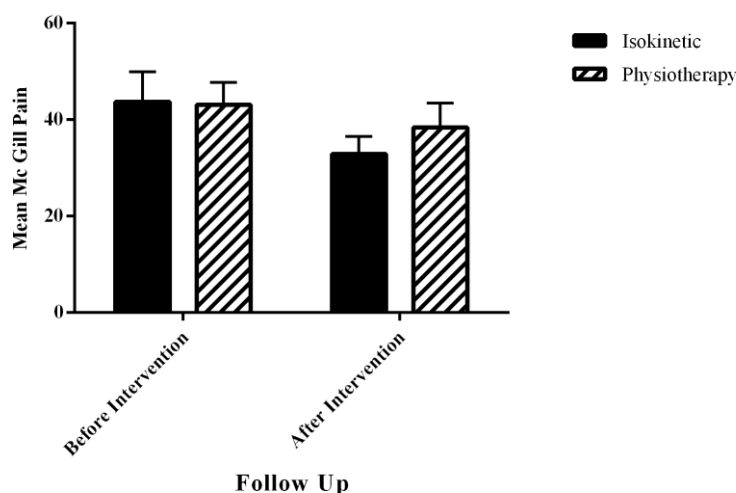
متغیر	قبل از مداخله (انحراف استاندارد ± میانگین)	بعد از مداخله (انحراف استاندارد ± میانگین)	P-value*	میانگین تغییرات (انحراف استاندارد ± میانگین)	P-value**
ایزوکتیک	۱۱/۶۷ ± ۲/۰۲	۸/۶۷ ± ۲/۵۸	۰/۰۰۱	۳/۰۰ ± ۱/۵۵	۰/۰۰۸
درد	۱۱/۲۰ ± ۳/۴۸	۹/۴۰ ± ۳/۲۹	< ۰/۰۰۱	۱/۸۰ ± ۰/۵۶	۰/۰۰۸
ایزوکتیک	۵/۲۷ ± ۱/۲۸	۴/۰۰ ± ۱/۰۶	۰/۰۰۲	۱/۳۷ ± ۰/۹۶	۰/۴۸۰
خشکی مفصل	۶/۰۷ ± ۱/۰۳۳	۵/۰۷ ± ۰/۸۸	۰/۰۰۱	۱/۰۰ ± ۰/۵۳	۰/۴۸۰
ایزوکتیک	۴۱/۴۷ ± ۶/۸۳	۳۲/۸۷ ± ۵/۹۶	۰/۰۰۱	۸/۶۰ ± ۲/۳۵	< ۰/۰۰۱
عملکرد	۴۱/۰۰ ± ۹/۲۲	۳۷/۱۳ ± ۸/۷۹	۰/۰۰۱	۳/۸۷ ± ۱/۳۰	< ۰/۰۰۱
ایزوکتیک	۵۸/۴۰ ± ۸/۹۱	۴۵/۵۳ ± ۸/۶۱	۰/۰۰۱	۱۲/۸۷ ± ۳/۱۳	< ۰/۰۰۱
کل	۵۸/۲۷ ± ۱۲/۰۳	۵۱/۶۰ ± ۱۱/۱۹	۰/۰۰۱	۶/۶۷ ± ۱/۶۳	< ۰/۰۰۱
ایزوکتیک	۴۳/۸۳ ± ۶/۲۳	۳۲/۹۳ ± ۳/۶۱	۰/۰۰۱	۱۰/۸۰ ± ۴/۹۱	< ۰/۰۰۱
شدت درد مک گیل	۴۳/۱۳ ± ۴/۶۵	۳۸/۴۰ ± ۵/۰۲	۰/۰۰۱	۴/۷۳ ± ۱/۱۶	< ۰/۰۰۱

*آزمون کروسکال والیس

**آنالیز کوواریانس



نمودار ۱. تغییرات عملکرد زانو در دو گروه ایزوکینتیک و فیزیوتراپی



نمودار ۲. تغییرات درد زانو در دو گروه ایزوکینتیک و فیزیوتراپی

بحث

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرینات ایزوکینتیک بر درد، خشکی (سفتی مفصل) و عملکرد مفصل زانو در فعالیت‌های زنان بود که در آن میزان درد، خشکی مفصل و عملکرد زانو در ۳۰ نفر در دو مرحله (۱۵ بیمار مبتلا به استئوآرتریت زانو و ۱۵ آزمودنی به ظاهر سالم) مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سن بیماران شرکت‌کننده در مطالعه حاضر $59/00 \pm 6/57$ سال بود. با توجه به این که میانگین سن گزارش‌شده در سایر مطالعات بیشتر ($59/00 \pm 6/80$: Rosa، $7/05 \pm 64/00$ weng: (۷، ۸)، از مطالعه حاضر می‌توان گفت سن شروع این بیماری در ایران کاهش پیدا کرده است. منابع علمی دیگر نیز تأکید دارند که امروزه شیوع استئوآرتریت زانو در سنین پایین رو به پیشرفت است (۱۷، ۱۸)، لذا انجام اقدامات لازم جهت پیشگیری و درمان این بیماری ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه سایر مطالعات (۷، ۸) میانگین توده بدنی در این بیماران بیشتر از حد نرمال ($29/88 \pm 3/65$) می‌باشد، لزوم توجه به وزن در این بیماران را نمایان می‌سازد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هم فیزیوتراپی و هم تمرینات ایزوکینتیک باعث بهبود در تمام پارامترهای مورد مطالعه شده است. بیماران مبتلا به استئوآرتریت معمولاً درد، ضعف عضلانی و محدودیت حرکت در مفصل دارند. استئوآرتریت در مراحل پیشرفته عدم فعالیت و به دنبال آن کاهش حجم عضله و قدرت در افراد مسن را در پی خواهد داشت. این یافته‌ها پیامد مهم برای افراد مبتلا به استئوآرتریت زانو به خصوص در درمان و جلوگیری از پیشرفت بیماری بشمار می‌آیند (۱۸-۲۰). با توجه به این که فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش تحرک مفاصل، قدرت و کارایی می‌شود، انجام ورزش‌های تقویتی می‌تواند منجر به بهبود عملکرد فیزیکی و قدرت در افراد مبتلا به استئوآرتریت زانو شود (۱۸).

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرینات ایزوکینتیک بر درد، خشکی (سفتی مفصل) و عملکرد مفصل زانو در فعالیت‌های زنان بود که در آن میزان درد، خشکی مفصل و عملکرد زانو در ۳۰ نفر در دو مرحله (۱۵ بیمار مبتلا به استئوآرتریت زانو و ۱۵ آزمودنی به ظاهر سالم) مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سن بیماران شرکت‌کننده در مطالعه حاضر $59/00 \pm 6/57$ سال بود. با توجه به این که میانگین سن گزارش‌شده در سایر مطالعات بیشتر ($59/00 \pm 6/80$: Rosa، $7/05 \pm 64/00$ weng: (۷، ۸)، از مطالعه حاضر می‌توان گفت سن شروع این بیماری در ایران کاهش پیدا کرده است. منابع علمی دیگر نیز تأکید دارند که امروزه شیوع استئوآرتریت زانو در سنین پایین رو به پیشرفت است (۱۷، ۱۸)، لذا انجام اقدامات لازم جهت پیشگیری و درمان این بیماری ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه سایر مطالعات (۷، ۸) میانگین توده بدنی در این بیماران

در ۱۳۰ زن و مرد ۸۰-۵۰ ساله مبتلا به استئوآرتریت زانو بررسی نمودند. در گروه تقویت ایزوکیتیک، کاهش درد و عملکرد بهتری نسبت به گروه برنامه آموزشی مشاهده شد. در مطالعه ما نیز میزان درد و عملکرد در جمعیت با طیف سنی ۴۵-۶۵ ساله در مبتلا به استئوآرتریت زانو گزارش شده است که سن شرکت کنندگان در مطالعه حاضر کمتر از مطالعه Maurer می باشد (۹).

Gur و همکاران در سال ۲۰۱۲ به مقایسه تأثیر تمرینات کانستریک در مقابل تمرینات ایزوکیتیک کانستریک-اکستریک بر ظرفیت عملکردی بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو پرداختند. نتایج مطالعه فوق نشان داد که تمرینات کانستریک-اکستریک نسبت به کانستریک تأثیر بیشتری بر ظرفیت عملکردی، به خصوص هنگام بالا و پایین رفتن از پله داشت. همچنین نتایج نشان داد که آموزش های گسترده ای که شامل تعداد زیادی از تکرار و انقباضات اکستریک می باشد، ایمنی بیشتر، مؤثر و قابل تحملی را برای بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو دارد که با کاهش ۰/۰۰ در نمرات درد و عملکرد با تحقیق حاضر همسو می باشد (۱۹).

Huang و همکاران در سال ۲۰۰۵ به مقایسه اثرات اولتراسوند (us) و تمرینات ایزوکیتیک در درد و وضعیت عملکرد بیماران استئوآرتریت زانو پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تمرینات ایزوکیتیک باعث کاهش درد بافت نرم در اطراف مفصل و بهبود عملکرد در بیماران استئوآرتریت زانو می شود که با نتایج مطالعه حاضر همسو می باشد (۲۰). از محدودیت های حجم کم نمونه مطالعه حاضر می توان به محدود بودن زمان مطالعه و همچنین وجود تنها یک عدد دستگاه بایودکس که اجازه بررسی تعداد بیشتر نمونه را نمی داد، اشاره نمود.

نتیجه گیری

در نهایت با توجه به منابع علمی مختلف (۱۷، ۱۸) باید توجه داشت درمان های مفید توان بخشی در استئوآرتریت زانو شامل تغییر روش زندگی، اقدامات فیزیوتراپی، و تمرین های تقویتی و همچنین تزریق کورتیکواستروئیدها به صورت داخل مفصلی می باشد. اگرچه در موارد مقاوم به درمان، طب سوزنی و حتی جراحی تعویض مفصل پیشنهاد شده اند، ولی اساس درمان، پیشگیری و اصلاح اختلالات بیومکانیکی، تقویت عضلات چهار سر ران و بهبود عملکرد عضلات زانو می باشد. در مجموع استفاده از تمرینات ایزوکیتیک در بیماران استئوآرتریت زانو منجر به بهبود عملکرد و کاهش درد زانو می شود؛ بنابراین توصیه می شود این بیماران جهت بهبود عملکرد و کاهش درد مفصل زانو از تمرینات ایزوکیتیک در کنار فیزیوتراپی و دیگر تمرینات بهره مند شوند، چرا که تمرینات ایزوکیتیک، می توانند به عنوان یک روش تمرینی ایمن و مؤثر در بهبود عملکرد، کاهش درد مفصل افراد مبتلا به استئوآرتریت زانو مؤثر قرار گیرد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات ایزوکیتیک به عنوان یک روش درمانی بیش از فیزیوتراپی منجر به کاهش میزان درد مفصل زانو در زنان مبتلا به استئوآرتریت زانو می شود. Jegu و همکاران در سال ۲۰۱۴ طی شش هفته بر روی ۸۰ آزمودنی ۴۰ تا ۷۵ سال، تأثیر انقباضات اکستریک و کانستریک در توان بخشی بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو را مورد مقایسه قرار دادند. این پژوهشگران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات اکستریک از تأثیر بیشتری بر بهبود درد نسبت به تمرینات کانستریک برخوردار بودند. تحقیق حاضر تمرینات کانستریک را در بهبود میزان درد ناشی از استئوآرتریت زانو مؤثرتر از فیزیوتراپی ارزیابی می کند. این پژوهشگران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات ایزوکیتیک از تأثیر بیشتری بر بهبود درد و نمره کل womac نسبت به گروه کنترل برخوردار بودند (۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات ایزوکیتیک به عنوان یک روش درمانی منجر به بهبود خشکی مفصل زانو در زنان مبتلا به استئوآرتریت زانو می شود. Rosa و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۳۳ نفر از افراد استئوآرتریت ۴۵ تا ۷۵ ساله اثربخشی ورزش ایزوکیتیک در مقابل ایزومتریک را در بیماران استئوآرتریت زانو در ۸ هفته مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که ورزش ایزومتریک منجر به توسعه کار مکانیکی و ورزش ایزوکیتیک منجر به تحرک بهتر مفصل ها می شود و تمرینات ایزوکیتیک اثر بهتری از تمرینات ایزومتریک برای قدرت عضلانی، درد و خشکی مفصل در بیماران دارد که با مطالعه حاضر از نظر تأثیر تمرینات ایزوکیتیک همسو می باشد (۷).

در بررسی میزان عملکرد، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که برنامه تمرینات ایزوکیتیک به عنوان یک روش درمانی مناسب بهبود عملکرد مفصل زانو در زنان مبتلا به استئوآرتریت را به دنبال دارد. در مطالعه Weng و همکاران که در سال ۲۰۰۹ تأثیر تکنیک های انقباضی مختلف در نتیجه ی تمرین های ایزوکیتیک در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو را در ۱۳۲ بیمار با استئوآرتریت مزمن و پیشرفته (دو طرفه زانو درجه ۲) در ۴ گروه مورد (۱). ایزوکیتیک ۲. ایزوکیتیک به همراه تمرینات کششی، ۳. ایزوکیتیک به همراه تمرینات کششی و تمرینات عصبی عضلانی - حسی عمقی ۴. کنترل) مورد بررسی قرار دادند، به این نتیجه رسیدند که بیمارانی که تمرینات ایزوکیتیک به همراه تمرینات کششی و تمرینات عصبی عضلانی - حسی عمقی (گروه ۳) انجام داده بودند کاهش قابل توجهی در درد و توانایی عملکرد نسبت به بیماران سایر گروه ها داشتند (۸). نتایج مطالعه فوق از این نظر که انجام تمرینات ترکیبی، درد و توانایی عملکرد بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو را به طور قابل توجهی بهبود می بخشد، همسو می باشد. Maurer و همکاران در سال ۱۹۹۹ اثرات تمرین ایزوکیتیک در مقابل برنامه آموزشی را بر عضلات چهار سر ران

پیشنهادهات

انجام مطالعه‌ای که تأثیر تمرینات ایزوکینتیک، ایزومتریک و فیزیوتراپی را هم در کوتاه مدت و هم در بلندمدت مورد بررسی قرار دهد، مورد نیاز می‌باشد. توصیه می‌شود هر سه درمان (تمرینات اکستریک، تمرینات کانستریک و فیزیوتراپی) را با هم در کوتاه مدت و هم در بلندمدت مورد بررسی قرار دهند. و به طور مشابه روی آقایان انجام گیرد. تمرینات ایزوکینتیک با تمرینات دیگر و شناخت محدودیت‌ها و مزایای آن بررسی گردد. تأثیر این روش بر روی زنان و مردان مقایسه شود. استفاده از تمرینات ایزوکینتیک برای افزایش عملکرد و کاهش دردهای سایر نواحی بدن در بین بیماران مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

قدردانی

این مطالعه بر اساس تحلیل ثانویه بخشی از اطلاعات مستخرج از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد حرکات اصلاحی و آسیب‌شناسی ورزشی شماره پایان‌نامه (۱۱۲۲۱۴۰۲۹۴۲۰۵۱) در دانشگاه آزاد واحد بروجرد تنظیم گردید. بدین‌وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد بروجرد و همچنین مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تبریز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند و نیز از تمامی بیمارانی که ما را در اجرای این مطالعه یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع IR.TBZMED.REC.1395.275 به تأیید رسیده است.

منابع مالی

این مطالعه بر اساس تحلیل ثانویه بخشی از اطلاعات مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد "حرکات اصلاحی" آمنه عبداللهی بوده و فاقد منابع مالی پشتیبان بوده است.

منابع متقابل مشارکت مؤلفان

منافع متقابلی از تألیف و انتشار یافته‌های طرح، تعارضی با منافع نویسندگان و حامیان مالی نداشت.

مشارکت مؤلفان

عبداللهی آ، گودرزی ب و همکاران، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همکاران همچنین مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده اند.

References

- Ettinger W, Burns R, Messier S, Applegate W, Rejeski W, Morgan T. A randomized trial comparing aerobic exercise and resistance exercise with a health education program in older adults with knee osteoarthritis. *The Fitness Arthritis and Seniors Trial (FAST) JAMA* 1997; **277**: 25-31. doi: 10.1001/jama.1997.03540250033028
- Adelman A M, Daly M P. 20 Common problems in geriatrics: McGraw-Hill Professional Pub; 2001.
- Lawrence R C, Helmick C G, Arnett F C, Deyo R A, Felson D T, Giannini E H, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis & Rheumatism* 1998; **41**(5): 778-799. doi: 10.1002/1529-0131
- Jegu A-G, Pereira B, Andant N, Coudeyre E. Effect of eccentric isokinetic strengthening in the rehabilitation of patients with knee osteoarthritis: Isogo, a randomized trial. *Trials* 2014; **15**(1): 106. doi: 10.1186/1745-6215-15-106
- Carr A J. Beyond disability: measuring the social and personal consequences of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 1999; **7**(2): 230-238. doi: 10.1053/joca.1998.0154
- Pipes T V, Wilmore J H. Isokinetic vs isotonic strength training in adult men. *Medicine and science in sports* 1974; **7**(4): 262-274. doi: 10.1249/00005768
- Rosa U H, Tlapanco J V, Maya C L, Ríos E V, González L M, Daza ERV, et al. Comparison of the effectiveness of isokinetic vs isometric therapeutic exercise in patients with osteoarthritis of knee. *Reumatología Clínica (English Edition)*. 2012; **8**(1): 10-14. doi: 10.1016/j.reuma.2011.08.003
- Weng M-C, Lee C-L, Chen C-H, Hsu J-J, Lee W-D, Huang M-H, et al. Effects of different stretching techniques on the outcomes of isokinetic exercise in patients with knee osteoarthritis. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 2009; **25**(6): 306-315. doi: 10.1016/S1607-551X

9. Maurer B T, Stern A G, Kinossian B, Cook K D, Schumacher H R. Osteoarthritis of the knee: isokinetic quadriceps exercise versus an educational intervention. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 1999; **80**(10): 1293-1299. doi: 10.1016/S0003-9993
10. Xie F, Li S-C, Goeree R, Tarride J-E, O'Reilly D, Lo N-N, et al. Validation of Chinese Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) in patients scheduled for total knee replacement. *Quality of Life Research* 2008; **17**(4): 595. doi: 10.1007/s11136-008-9340-7
11. McConnell S, Kolopack P, Davis A M. The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties. *Arthritis Care & Research* 2001; **45**(5): 453-461. doi: 10.1002/1529-0131
12. Hawker G, Melfi C, Paul J, Green R, Bombardier C. Comparison of a generic (SF-36) and a disease specific (WOMAC) (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index) instrument in the measurement of outcomes after knee replacement surgery. *The Journal of Rheumatology* 1995; **22**(6): 1193-1196. doi: 10.1002/1529-0131(200110)45:5
13. Niknejhod Hoseini SH, Eftekhari Sadat B. Reliability and Validity of the Persian Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) in patients with Knee Osteoarthritis: *Tabriz University of Medical sciences* 2011. doi: 10.15171/jarcm
14. Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975; **1**(3): 277-299. doi: 10.1016/0304-3959(75)90044-5
15. Dworkin R H, Turk D C, Revicki D A, Harding G, Coyne K S, Peirce-Sandner S, et al. Development and initial validation of an expanded and revised version of the Short-form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ-2). *Pain* 2009; **144**(1): 35-42. doi: 10.1016/j.pain.2009.02.007
16. Reginster J Y. The prevalence and burden of arthritis. *Rheumatology* 2002; **41**suppl 1: 3-6. doi: 10.1093/rheumatology/41.suppl_1.3
17. Akinbo S, Aiyejusunle C, Akinyemi O, Adesegun S, Danesi M. Comparison of the therapeutic efficacy of phonophoresis and iontophoresis using dexamethasone sodium phosphate in the management of patients with knee osteoarthritis. *The Nigerian Postgraduate Medical Journal* 2007; **14**(3): 190-194. doi: 10.1093/rheumatology/41.suppl_1.3
18. Neustadt D H. Intra-articular injections for osteoarthritis of the knee. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2006; **73**(10): 897. doi: 10.1093/rheumatology/kev089.083
19. Gür H, Çakın N, Akova B, Okay E, Küçüköğlu S. Concentric versus combined concentric-eccentric isokinetic training: effects on functional capacity and symptoms in patients with osteoarthrosis of the knee. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2002; **83**(3): 308-316. doi: 10.1053/apmr.2002.30620
20. Huang M H, Lin Y-S, Lee C-L, Yang R-C. Use of ultrasound to increase effectiveness of isokinetic exercise for knee osteoarthritis. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2005; **86**(8): 1545-1551. doi: 10.1016/j.apmr.2005.02.007

Original Article

Pyruvate kinase deficiency and its gene mutations in newborns with jaundice in East Azerbaijan province year 2014

Zeinab Gholami¹ , Abbasali Hossein Pourfeizi^{2*} , Majid Mahallei³, Majid Farshdousti Hagh², Aliakbar Movassaghpour Akbari²

¹Department of Immunology, School of Medicine, Stem Cells Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³Department of Pediatric, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: pourfeizi@yahoo.com, pourfeizi@tbzmed.ac.ir

Received: 7 March 2017 Accepted: 18 June 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):65-71

Abstract

Background: Jaundice is a relatively common finding in newborns and deficiency of pyruvate kinase (PK) in Emden Meyerhoff pathway of glycolysis in Erythrocytes can be one of the etiologic factors in its pathogenesis. It is responsible for hereditary non-spherocytic hemolytic anemia. In this study the prevalence of PK deficiency was determined in newborns with jaundice in East Azerbaijan province, Iran.

Methods: In a five month period in 2014, among all the newborns admitted to the neonatal ward of Children's Hospital of Tabriz Medical University, those with non-conjugated hyperbilirubinemia were included in this study. Routine Lab. results were collected from hospital records. PK activity was determined by Coupled Enzyme Assay by using ELISA technique. Pyruvate kinase normal range was determined in 30 umbilical cord blood samples of healthy normal newborns. A reduction more than 60% of the mean normal value labeled as deficiency. Common PK-LR gene mutations were studied by PCR-RFLP method

Results: Two hundred neonates with indirect hyperbilirubinemia, out of a total 1750 admitted newborns were included. Lab. normal mean and range of PK activities were detected as 4.1 and 3.52-8.45 mili-unit/ml (mU/ml) respectively. In 32 out of 200 (16%) of jaundiced neonates, a decrease in PK activity was detected (mean 1.98 ± 0.24 mU/ml). Meanwhile only 4 out of 200 neonates (2%) were G6PD deficient. Sixteen out of 32 PK deficient patients (50%) were heterozygous for G1529A PK-LR gene mutation, while the G1168A mutation was not detected in our patients.

Conclusion: A relatively high prevalence of PK deficiency was found in our newborns with jaundice in East Azerbaijan province, Iran. So PK deficiency should be considered in the differential diagnosis of newborns with jaundice. Further detailed molecular studies are recommended.

Keyword: Neonatal jaundice, Pyruvate Kinase deficiency, Mutations, East Azerbaijan province.

How to cite this article: Gholami Z, Hossein Pourfeizi A, Mahallei M, Farshdousti Hagh M, Movassaghpour Akbari A. [Pyruvate Kinase deficiency and its gene mutations in newborns with jaundice in East Azerbaijan province year 2014]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):65-71. Persian.

مقاله پژوهشی

کمبود آنزیم پیروات کیناز و جهش‌های شایع در ژن آن در نوزادان مبتلا به زردی دوره نوزادی در استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۳

زینب غلامی^۱، عباسعلی حسین پور فیضی^{۲*}، مجید محله‌ای^۳، مجید فرش دوستی حق^۴، علی اکبر موثق پور اکبری^۵

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و علوم انتقال خون، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولهای بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۳ گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول؛ ایمیل pourfeizi@tbzmed.ac.ir و pourfeizi@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۸ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز: فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۶۵-۷۱

چکیده

زمینه: زردی یکی از یافته‌های شایع در دوره نوزادی است و کمبود آنزیم پیروات کیناز در مسیر امبدن میرهوف گلیکولیز در ایتروسیت‌ها می‌تواند یکی از دلایل آن باشد. این کمبود، مسئول ایجاد آنمی همولیتیک غیراسفروسیتیک ارثی می‌باشد. در این مطالعه بررسی فراوانی کمبود آنزیم پیروات کیناز در نوزادان مبتلا به زردی استان آذربایجان شرقی برای اولین بار انجام گرفت.

روش کار: در یک بازه زمانی پنج ماهه از میان ۱۷۵۰ نوزاد بستری شده در بخش نوزادان بیمارستان کودکان، ۲۰۰ نوزاد با هیپر بیلی‌روبینمی غیرگونژوگه برای بررسی فعالیت آنزیم پیروات کیناز انتخاب شدند. داده‌های آزمایشگاهی و بالینی بیماران از پرونده بیماران جمع‌آوری گردید. ابتدا فعالیت آنزیم پیروات کیناز توسط روش جفت آنزیمی و سپس فراوانی دو جهش شایع G1168A و G1529A به روش PCR-RFLP مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: ابتدا میزان فعالیت آنزیم پیروات کیناز در ۳۰ نمونه خون بند ناف نرمال اندازه‌گیری و دامنه‌ی آن ۳/۵۲-۸/۴۵ mU مشخص گردید. کاهش بیش از ۶۰ درصد از میانگین محدوده نرمال آنزیم، کمبود تلقی گردید. در ۳۲ نوزاد مبتلا به زردی، کمبود فعالیت آنزیم پیروات کیناز مشاهده شد (۱۶٪)، درحالی‌که در ۴ نوزاد (۲٪) کمبود آنزیم G6PD وجود داشت. ۱۶ نفر از ۳۲ بیمار نسبت به جهش G1529A هتروزیگوت بودند و این در حالی بود که جهش G1168A در هیچ کدام یک از بیماران شناسایی نگردید.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، شیوع نسبتاً بالایی از کمبود پیروات کیناز در نوزادان اکتربیک در استان آذربایجان شرقی نشان داده شد. بنابراین کمبود این آنزیم باید به عنوان یک تشخیص اصلی در بررسی نوزادان با زردی در نظر گرفته شود. مطالعات مولکولی بیشتری در جمعیت این منطقه پیشنهاد می‌گردد.

کلید واژه‌ها: زردی نوزادی، کمبود آنزیم پیروات کیناز، موتاسیون ژنی، استان آذربایجان شرقی.

نحوه استناد به این مقاله: غلامی ز، حسین پور فیضی ع، محله‌ای م، فرش دوستی حق م، موثق پور اکبری ع. کمبود آنزیم پیروات کیناز و جهش‌های شایع در ژن آن در نوزادان مبتلا به زردی دوره نوزادی در استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۳. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۶۵-۷۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کریئو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

پیرووات کیناز و طیف جهش‌های موجود در آن در گروه‌های نژادی مختلف در مناطق جغرافیایی متعدد بررسی و شناسایی شده است (۱۳-۱۴). در یک مطالعه صورت گرفته در استان فارس فراوانی نقص آنزیم پیرووات کیناز و انواع جهش‌های موجود در ژن پیرووات کیناز در نوزادان مبتلا به زردی مورد بررسی قرار گرفته و شیوع کمبود پیرووات کیناز ۱۰/۴۸ درصد گزارش گردیده است (۱۵). در این مطالعه فراوانی کمبود آنزیم پیرووات کیناز و جهش‌های شایع در ژن آن در نوزادان مبتلا به زردی در استان آذربایجان شرقی مورد مطالعه قرار گرفت تا در صورت وجود نرخ افزایش یافته از بروز بیماری بیانگر این مطلب خواهد بود که علاوه بر بررسی نقص گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز، کمبود پیرووات کیناز نیز باید به عنوان یک علت جداگانه در نوزادان ایکتریک در نظر گرفته شود.

روش کار

در یک دوره پنج ماهه از میان کلیه نوزادان بستری شده در بیمارستان کودکان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز، همه نوزادان ترم ایکتریک با مقادیر بیلی‌روبین توتال بالای ۱۷g/dl جهت مطالعات بعدی انتخاب شدند. حجم نمونه براساس مطالعات صورت پذیرفته و روشهای آماری تعیین حجم جامعه آماری و هم چنین براساس میزان مراجعه‌کنندگان به مراکز درمانی تعیین گردید. معیارهای خروج از مطالعه شامل وجود کلستاز، هموگلوبینوپاتی‌ها، پلی‌سایتمی، ترومای حین زایمان، ناسازگاری گروه‌های خونی از نظر ABO و Rh و نارسایی و کم وزن بودن نوزاد بود. در هیچ یک از نوزادان انتخاب شده تعویض یا تزریق خون صورت نپذیرفته بود و نوزادانی که علت اختصاصی ایکترشان تشخیص داده شده بود از مطالعه کنار گذاشته شدند. میزان بیلی‌روبین توتال و مستقیم و غیرمستقیم، غلظت هموگلوبین، هماتوکریت، شمارش گلبولهای قرمز، تعیین گروه خونی، درصد رتیکولوسیت، و تست کومبس مستقیم با روشهای استاندارد آنالیز و تعیین شده و در پرونده بیماران موجود بودند. بعد از دریافت رضایت آگاهانه از والدین نوزادان، حدود ۳ میلی لیتر خون تام در ویالهای CBC جمع آوری گردید و فعالیت آنزیمی طی ۴۸ ساعت بعد از زمان خونگیری اندازه گیری گردید. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پیرووات کیناز توسط کیت اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم (شرکت سیگما آلد ریچ، امریکا) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت صورت پذیرفت. غلظت آنزیم براساس روش جفت آنزیمی اندازه‌گیری و نتایج در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان پیرووات تولیدی توسط دستگاه الیزا ریدر (Lab System Auto LIA II, Finland) خوانده شد. یک واحد از آنزیم پیرووات کیناز مقداری از آنزیم می‌باشد که یک گروه فسفات را از فسفوانول پیرووات به آدنوزین دی فسفات برای تولید یک

وجود زردی یکی از مشکلات شایع دوره نوزادی است که سبب بستری شدن نوزادان در بیمارستان طی ۲ هفته اول زندگیشان می‌گردد (۱). عوامل ایجاد کننده زردی دوره نوزادی متعدد می‌باشند که اختلالات آنزیمی گلوبول قرمز یکی از این عوامل دخیل می‌باشند (۲). کمبود آنزیم پیرووات کیناز یکی از شایعترین اختلالات آنزیمی در مسیر امیدن میرهوف از گلیکولیز در انسان بوده که همراه با نقص آنزیم گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز از عوامل اصلی ایجاد کننده آنمی همولیتیک غیراسفروسیتی ارثی می‌باشند (۳-۴). کمبود پیرووات کیناز به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد و اولین بار توسط والتین و همکاران در سال ۱۹۶۱ شناسایی گردید. علائم بالینی در بیماران هموزیگوت و یا هتروزیگوت‌های ترکیبی برای دو آلل جهش یافته بروز می‌یابد و معمولاً زمانی مشاهده می‌شود که میزان فعالیت آنزیم پیرووات کیناز ۶۰ درصد نسبت به فعالیت نرمال آن در افراد سالم کاهش می‌یابد (۵). در این بیماری شدت همولیز متغیر بوده و از دامنه بسیار ملایم و جبران‌پذیر تا آنمی‌های شدید و تهدید کننده زندگی در دوره نوزادی و زردی‌های مستلزم تعویض خون و تزریقات خون متناوب، متفاوت می‌باشند (۵-۳). این تفاوت در علائم بالینی به نوع نقص مولکولی ایجاد شده بستگی دارد. آنمی در نوزادان با افزایش سن تمایل به بهبودی دارد، در حالیکه در بزرگسالان همولیز همواره وجود داشته و گاهی در طی عفونتهای حاد و بارداری شدت همولیز و کم‌خونی افزایش می‌یابد (۶). سایر علائم بالینی شامل زردی، بزرگی طحال و سنگ کیسه صفرا می‌باشند (۷). گرانباری آهن در بیماران که تزریقات خونی متعدد داشته‌اند گزارش شده است که استفاده از شلاتورهای آهن در این بیماران ضروری می‌باشد (۸). پیرووات کیناز اریتروئیدی آخرین مرحله از مسیر گلیکولیز را کاتالیز می‌کند و عملکرد اصلی آن در اریتروسیتها کاتالیز تشکیل پیرووات و آدنوزین تری فسفات از فسفو- انول پیرووات و آدنوزین دی فسفات می‌باشد (۹). آنزیم پیرووات کیناز دارای چهار ایزوفرم می‌باشد و اریتروسیتها حاوی ایزوآنزیم اریتروئیدی هستند (۳-۴). ایزوفرمهای اریتروئیدی و کبدی در ایجاد آنمی همولیتیک غیراسفروسیتی مزمن دخیل هستند و جهش در آنها سبب نقص یا کاهش در عملکرد آنزیم پیرووات کیناز می‌گردد (۱۱-۱۰). ژن پیرووات کیناز روی کروموزوم شماره ۱ قرار دارد و طول cDNA آن ۲۰۶۰ باز می‌باشد (۱۱). این ژن حاوی ۱۲ اگزون می‌باشد که ۱۰ اگزون آن بین ۲ ایزوآنزیم مشابه و اگزون ۱ و ۲ به ترتیب اختصاصی رده اریتروئیدی و کبدی می‌باشد (۱۲). آنزیم پیرووات کیناز ۵۷۴ اسیدآمینه داشته و دارای ساختمان هموترامری می‌باشد که علاوه بر کنترل تغییرات متابولیک در مسیر گلیکولیز در متابولیسم سلولی نیز نقش ضروری و حیاتی دارد (۷). بیش از ۳۰۰ جهش مختلف در ژن پیرووات کیناز شناسایی شده‌اند که اکثراً شامل جهش‌های نقطه‌ای و جابجایی می‌باشند (۶). فراوانی کمبود آنزیم

از میانگین محدوده نرمال آنزیم، کمبود تلقی گردید. از ۲۰۰ نوزاد (۵۷/۵٪ نوزاد پسر، ۴۲/۵٪ نوزاد دختر) ۳۲ نفر مبتلا به کاهش در فعالیت آنزیم پیروات کیناز بودند (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین و انحراف استاندارد ($\pm$ SD) میانگین) متغیرهای عمومی در افراد مورد مطالعه		
متغیر	نوزادان با کمبود پیروات کیناز (n=32)	نوزادان بدون کمبود پیروات کیناز (n=168)
سن (روز)	۷/۶±۲/۲	۸±۳/۱
وزن تولد (گرم)	۳۳۳۰±۴۶۶	۳۱۶۲±۴۵۳

جدول ۳ پارامترهای مختلف آزمایشگاهی را در دو گروه نشان می دهد. فعالیت آنزیم پیروات کیناز در گروه بیماران با کمبود پیروات کیناز ۱/۳۹-۲/۱۹ mU با میانگین ۱/۹۸ mU بود، در حالیکه محدوده-ی فعالیت آنزیم پیروات کیناز در سایر نوزادان مورد بررسی ۳/۵۵-۷/۲۳ mU با میانگین ۴/۸ mU تعیین گردید ($P < 0.05$). ۶ مورد از بیماران فعالیت آنزیمی کمتر از ۲ mU را داشتند. در مورد متغیرهای کمی نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پیروات کیناز و بیلی روبین توتال و غیر کونژکه بین دو گروه نوزادان با و بدون کمبود پیروات کیناز تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). در گروه بیماران با کمبود پیروات کیناز ارتباط منفی میان متغیر بیلی روبین توتال و فعالیت آنزیم پیروات کیناز مشاهده گردید.

جدول ۳: پارامترهای آزمایشگاهی در نوزادان با و بدون کمبود پیروات کیناز

متغیر	نوزادان با کمبود پیروات کیناز (n=32)	سایر نوزادان بدون کمبود پیروات کیناز (n=168)	P Value
فعالیت پیروات کیناز*	۱/۹۸±۰/۲۴	۴/۸۸±۰/۹۱	<0.05
بیلی روبین توتال*	۲/۱۸±۳/۰۱	۱۹/۵±۲/۹۵	<0.05
بیلی روبین غیر کونژوگه	۲۱/۲۸±۰/۴۹	۱۸/۹۵±۰/۱۲	<0.05
بیلی روبین کونژوگه	۰/۵۱±۰/۱۲	۰/۵۷±۰/۵۷	غیر معنی دار
هموگلوبین	۱۷/۹۱±۴/۰۱	۱۷/۵±۴	غیر معنی دار
هماتوکریت	۵۱/۱۲±۵/۵۹	۴۸/۵±۸	غیر معنی دار
MCV	۱۰۰/۷۴±۶/۴۵	۹۸/۵±۵/۹	غیر معنی دار
MCH	۳۵/۸±۲/۲۴	۳۴/۹±۲/۴	غیر معنی دار
شمارش رتیک	۳/۷۹±۱/۰۴	۲/۴±۳/۵۱	غیر معنی دار

طی مطالعات مولکولی ۶۴ کروموزوم در ۳۲ بیمار با کمبود پیروات کیناز مورد مطالعه قرار گرفت. در نتایج حاصله جهش G1529A در ۱۶ کروموزوم ملاحظه گردید، در حالیکه حضور جهش G1168A شناسایی نشد. نتایج توالی یابی با نتایج حاصل از روش PCR-RFLP منطبق بودند.

میکرومول پیروات در دقیقه در دمای ۲۵°C انتقال می دهد. نتایج در واحد Mili-unit/ml (mU) گزارش گردید. به منظور تعیین محدوده نرمال آنزیم پیروات کیناز برای این نوزادان، ۳۰ نمونه خون بند ناف از نوزادان سالم دنیا آمده که از نظر بالینی و هماتولوژیک علائمی مبنی بر زردی نوزادی طی ۷۲ ساعت بعد از زمان تولدشان نداشتند، جمع آوری و میزان فعالیت آنزیم پیروات کیناز در آنها تعیین گردید. در نهایت محدوده مرجع، میانگین و انحراف معیار محاسبه و تعیین گردیدند. برای بررسی مولکولی ژن پیروات کیناز، ابتدا DNA ژنومیک از لکوسیت های خون تام بیماران با کمبود آنزیم پیروات کیناز توسط روش استاندارد نمک اشباع جداسازی و استخراج گردید (۱۶). به منظور تعیین فراوانی دو جهش شایع G1168A و G1529A ژن PK-LR به ترتیب دو اگزون ۹ و ۱۱ با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از ۲۰۰ نانوگرم DNA در ۲۵ میکرومول مخلوط PCR تکثیر یافت. انجام واکنش PCR تحت شرایط زیر صورت گرفت: دناتوراسیون اولیه در ۹۰°C به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون ۶۰ ثانیه در ۹۵°C، اتصال ۴۵ ثانیه در ۵۳°C و گسترش ۶۰ ثانیه در ۷۲°C و گسترش نهایی ۴ دقیقه در دمای ۷۲°C. پرایمرهای استفاده شده برای بررسی جهش ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده

اگزون ۹	Forward: 5'- 'gggtcccccagtcacagtgtg-3'	Reverse: 5'- 'gggtatgggaagggttggttc-3'
اگزون ۱۱	Forward: 5'- 'cggtccaccacttcttgcgtg-3'	Reverse: 5'- 'gctcctgatacaaatggttagg-3'

جهت بررسی جهش ها از روش RFLP استفاده گردید. برای هضم محصولات PCR از آنزیم های محدودالتر BsrD1 (ER0411, Thermo Scientific, USA) و StyI (ER1261, Thermo Scientific, USA) به ترتیب برای جهش های G1168A و G1529A در اگزون های ۹ و ۱۱ استفاده گردید. برای تایید ژنوتیپ-های بدست آمده از روش PCR-RFLP چند نمونه به صورت تصادفی جهت توالی یابی DNA ارسال شدند. برای توصیف متغیرها از آمار توصیفی (فراوانی، درصد، میانگین و انحراف معیار) و برای تجزیه و تحلیل یافته ها از آزمون استنباطی استفاده شد. بررسی ارتباط میان متغیرها توسط آزمون تفاوت میانگین برای گروه های مستقل و آزمون رابطه مجذور کای و مدل رگرسیونی در سطح معنی داری برابر ۰/۰۵ با استفاده از نرم افزار SPSS (21) صورت گرفت.

یافته ها

از تعداد ۱۷۵۰ نوزاد بستری شده در محدوده زمانی ۵ ماهه، تعداد ۲۰۰ نوزاد وارد مطالعه شدند. ابتدا محدوده نرمال فعالیت آنزیم پیروات کیناز از ۳۰ نمونه خون بند ناف نوزادان سالن غیر همگروه، ۳/۵۲-۸/۴۵ mU با میانگین ۶/۰۱ تعیین گردید. کاهش بیش از ۶۰٪

بحث

زردی و افزایش بیلی روبین یکی از مشکلات اصلی شایع در دوران نوزادی می‌باشد (۱۷). به طور متوسط در ۶۰٪ نوزادان ترم و ۸۰٪ نوزادان نارس وجود هیپر بیلی روبینمی گزارش گردیده است که در اکثر موارد این بیماری خوش خیم بوده، اما در موارد شدید و بدون درمان افزایش بیلی روبین غیرکونژوگه نورو توکسیک بوده و خطر بالینی متعاقب آن پیدایش کرنیکتروس ناشی از اثرات سمی بیلی روبین روی مغز می‌باشد (۱). بجز نقص گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز و فسفوگلیسرات کیناز که وابسته به کروموزوم X هستند، ۱۲ اختلال آنزیمی گلوبولهای قرمز که سبب ایجاد آنمی همولیتیک غیراسفروسیتی ارثی می‌شوند به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسند (۱۸). این نظریه وجود دارد که حدود ۸۰ درصد از آنمی‌های همولیتیک غیراسفروسیتی ارثی به دلیل کمبود آنزیم پیرووات کیناز و نقص G6PD ایجاد می‌شود (۱۹-۱۸). اختلال در فعالیت آنزیم پیرووات کیناز به صورت ناهنجاریهای متفاوتی در گلوبولهای قرمز انسان عرضه می‌شود به صورتی که فعالیت افزایش یافته آن سبب پلی سایتمی و کمبود فعالیت آنزیمی منجر به نقص آنزیم پیرووات کیناز و آنمی همولیتیک می‌شود (۱۲). بررسی‌های اپیدمیولوژیک صورت گرفته نشان داده است که فراوانی کمبود پیرووات کیناز در آمریکا ۱ درصد، آفریقا ۲/۴ درصد و در جمعیت کل افراد سفیدپوست ۱:۲۰۰۰۰۰ می‌باشد (۲۱-۲۰). فراوانی کمبود آنزیم پیرووات کیناز در نوزادان کشورهای ژاپن ۳ در صد، چین ۳/۴٪ و در نوزادان ایکتریک کشورهای هندوستان ۳/۲۱٪، عربستان ۶٪ و همچنین در بین مردم عادی کشورهای ترکیه ۷/۴٪، آلمان ۱/۴٪ می‌باشد (۲۷-۲۲). در مطالعه‌ای که توسط Yavarian و همکاران در شیراز انجام گرفته است از ۲۱۱ نوزاد با هیپر بیلی روبینمی ۲۲ نوزاد کاهش در فعالیت آنزیم پیرووات کیناز را داشتند (۱۰/۴٪) (۱۵)، در حالیکه در مطالعه حاضر نشان داده شد که ۳۲ بیمار از ۲۰۰ نوزاد (۱۶٪) با هیپر بیلی روبینمی غیرکونژوگه مبتلا به کمبود پیرووات کیناز می‌باشند که این تعداد از نظر فراوانی بیماری در منطقه ما قابل تامل می‌باشد. همچنین در این مطالعه فراوانی کمبود آنزیم G6PD ۲٪ بدست آمد که با گزارش موجود از مطالعه قبلی صورت گرفته در استان آذربایجان شرقی (۲/۲۸٪) مطابقت دارد (۲۸). در گروه بیماران با کاهش فعالیت پیرووات کیناز میزان بیلی روبین توتال افزایش می‌یابد. مطالعات مورفولوژی نیز نشان داد که بیماران با کمبود پیرووات کیناز دارای اریتروسیت‌های نرموسیتیک با درجاتی از آنیزوسیتوز و پوینکیلوسیتوز همراه با ماکروسیتوز و پیکنوسیت می‌باشند. در بیماران با کمبود پیرووات کیناز توصیف و شناسایی جهش‌های عامل بیماری اهمیت بسزایی دارد و یک توضیح بنیادی از رخداد بیماری را فراهم می‌نماید (۴). در مطالعه حاضر علاوه بر تعیین فراوانی بیماری کمبود پیرووات کیناز، ۳۲ بیمار از نظر دو جهش شایع ژن پیرووات کیناز که

بیماریزایی و شیوع بالای آن‌ها در مطالعات قبلی به اثبات رسیده بود مورد بررسی قرار گرفتند که ۵۰٪ بیماران برای جهش G1529A هتروزیگوت بودند. کمبود پیرووات کیناز مرتبط با جهش G1529A باعث کمبود سطح آنزیم R-PK داخل سلولی و متعاقب آن کاهش ATP شده و همولیز رخ می‌دهد (۷-۶). در ۱۶ بیمار هتروزیگوت میانگین فعالیت آنزیم پیرووات کیناز ۱/۱۸ mU می‌باشد. در بین بیماران برای دو جهش بررسی شده ژنوتیپ هموزیگوت مشاهده نگردید. در مطالعات انجام یافته در سطوح وسیع‌تر نشان داده شده است که هتروزیگوت یا هموزیگوت بودن جهش به نوع و موقعیت جهش متاثر کننده ژن پیرووات کیناز بستگی دارد و علائم بالینی بیماری در اکثر موارد منعکس کننده ارتباط میان فاکتورهای اکتسابی و ژنتیک تعریف شده بیماری می‌باشد (۳۰-۲۹ و ۴). مطالعات مولکولی صورت گرفته در سایر کشورها نشان داده است که جهش G1529A شایعترین جهش موجود در سفیدپوستان آمریکا با فراوانی ۴۲٪ و اروپای شمالی و مرکزی از جمله کشورهای فرانسه و آلمان با فراوانی ۴۱٪ می‌باشد (۴ و ۶). در اروپای جنوبی و مردمان آفریقایی- آمریکایی تبار شایعترین جهش G1456T با فراوانی ۳۲٪ در کشور اسپانیا و ۲۹٪ در کشورهای ایتالیا و پرتغال می‌باشد (۴). در این مناطق جهش G1529A شیوع بسیار نادری دارد. در آسیا شایعترین جهش C1468T می‌باشد (۴ و ۳۱). در هندوستان شایعترین جهش-ها G1436A (۱۸/۳۳٪)، G992A (۱۱/۶۶٪) و C1456T با فراوانی ۱۱/۶۶٪ می‌باشند (۳۱). در ترکیه جهش‌های یافت شده، C1528A، C1623C، G1623C و C1678G می‌باشند (۳۲). در ایران نیز طی معالعه کوهورت صورت گرفته بین مردم جنوب کشور، شایعترین جهش‌ها G1168A (۱۸/۱۱٪)، G1529A (۱۶/۱۱٪)، G1492T، G1456T و G1594T (۱۱/۱٪) و جهش G1291A با فراوانی ۱۰٪ گزارش گردیدند (۱۲).

نتیجه‌گیری

امروزه با توجه به افزایش تعداد نوزادان بستری شده در بیمارستانها به دلیل هیپر بیلی روبینمی، کاهش روز های بستری بیمارستانی بعد از زایمان، محدودیت‌های پیگیری نوزادان در سطح جامعه بعد از ترخیص، لزوم پیشگیری از کرنیکتروس بعنوان یکی از علل عقب ماندگیهای جسمی - هوشی و افزایش اطلاعات جامعه پزشکی از نقش آنزیم پیرووات کیناز این نتیجه حاصل می‌گردد که علاوه بر بررسی فعلی نقص گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز، کمبود آنزیم پیرووات کیناز نیز باید به عنوان یکی از تشخیصهای اصلی برای نوزادان مبتلا به ایکتر در نظر گرفته شده و مورد آزمایش روتین قرار گیرد.. در پایان پیشنهاد می‌شود که این بررسی در بین تعداد بیشتری از نوزادان مبتلا به هیپر بیلی روبینمی غیرکونژوگه صورت گرفته و

منافع متقابل

منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

نویسنده اول زغلامی، نویسنده دوم و رابط ع- حسین پورفیضی و سایر همکاران م- محله ای، م- فرش دوستی حق و ع- موثق پوراکبری طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند و ع- حسین پورفیضی به عنوان نویسنده مسئول، مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

تعداد بیشتری از جهش های موجود در ژن پیرووات کیناز نیز در سطح مولکولی مورد بررسی قرار گیرند.

قدردانی

این پژوهش برگرفته از انجام پایان نامه به شماره ۹۲/۲-۴/۲ در دانشگاه علوم پزشکی تبریز می باشد. بدین وسیله از کلیه کارکنان مرکز تحقیقات سلول های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در صدف پنجاه و دومین جلسه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز استان آذربایجان شرقی در تاریخ ۹۲/۱۲/۵ به شماره مرجع ۵/۴/۱۱۰۴۳ به تایید رسیده است.

References

1. Ali R, Ahmed S, Qadir M, Ahmad KH. Icterus Neonatorum in Near Term and Term Infants. *SQU Med Journal* 2012; **12**(2): 153-160.
2. Christensen R D, Nussenzveig R H, Yaish H M, Henry E, Eggert L D, Agarwal A M. Causes of hemolysis in neonates with extreme hyperbilirubinemia. *Perinatal Journal* 2014; **34**: 616-619. doi: 10.1038/jp.2014.68.
3. Zanella A, Fermo E, Bianchi P, Roberto Chiarelli L, Valentini G. Pyruvate kinase deficiency: The genotype phenotype association. *Journal of Blood Reviews* 2007; **21**: 217-231. doi: 10.1016 /j.blre.2007.01.001.
4. Zanella A. Red cell pyruvate kinase deficiency: from genetics to clinical manifestations. *Bailliere's Clinical Hematology* 2000; **13**(1): 57-81.
5. Perseu L, Giagu N, Satta S, Sollaino M.C, Congiu R, Galanello R. Red cell pyruvate kinase deficiency in Southern Sardinia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2010; **6**: 280-283.
6. Zanella A, Fermo E, Bianchi P, Valentini G. Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. *British Journal of Hematology* 2005; **130**: 11-25. doi: 10/1111/j.1365-2141.2005.05527.X.
7. Zanella A, Bianchi P, Fermo E. Pyruvate kinase deficiency. *Hematological /the Hematology Journal* 2007; **92**: 721-723. doi: 10.3324/haematol.11469.
8. Mojzikova R, Koralkova P, Holub D, Zidova Z, Pospisilova D, Cermak J, et al. Iron status in patients with pyruvate kinase deficiency: neonatal hyperferritinemia associated with a novel frameshift deletion in the PKLR gene (p.Arg518fs), and low hepcidin to ferritin ratios. *Br J Haematol* 2014; **165**: 556-563. doi: 10.1111/bjh.12779.
9. Miwa S, Fujii H. Pyruvate Kinase Deficiency. *Journal of Clinical Biochemistry* 1990; **23**: 155-157. doi: 10.1172/JCI117846.
10. Beutler E, Baronciani L. Mutations in Pymvate Kinase. *Journal of Human Mutation* 1996; **7**: 1-6. doi: 10.1002/(SICI)1098-1004
11. Gupta V, Bamezai R. Human pyruvate kinase M2: A multifunctional protein. *Protein Sciences* 2010; **19**: 2031-2044. doi: 10.1002/pro.505.
12. Yavarian M, Karimi M, Shahriary M, Afrasiabi A R. Prevalence of pyruvate kinase deficiency among the south Iranian population: Quantitative assay and molecular analysis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2008; **40**: 308-311. doi: 10.1016/j.bcmd.2007.08.008.
13. Pissard S, Max-Audit I, Skopinski L, Vasson A, Vivien P, Bimet C, et al. Pyruvate kinase deficiency in France: a 3- year study reveals 27 new mutations. *British Journal of Haematology* 2006; **133**: 683-689. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06076.x.
14. Percy M J, van Wijk R, Haggan S, Savage G A, Boyd K, Dempsey S, et al. Pyruvate kinase deficient hemolytic anemia in the Northern Irish population. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2007; **39**: 189-194. doi: 10.1016/j.bcmd.2007.05.
15. Yavarian M, Shahian M, Karimi M, Rezaie N. Prevalence of Pyruvate Kinase Deficiency among the Newborns (Shiraz-Iran). *Iranian Journal of Blood and Cancer* 2007; **1**(3): 89-93.
16. Miller S A, Dykes D D, Pole sky H F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1998; **16**(3): 12-15.
17. Pissard S, Montalembert M, Bachir D, Max-Audit I, Goossens M, Wajcman H, et al. Pyruvate Kinase

- (PK) Deficiency in Newborns: The Pitfalls of Diagnosis. *The Journal of Pediatrics* 2007; **10**(39): 443-445. doi: 10.1016/j.jpeds.2007.01.039.
18. Murray N, Roberts I. Haemolytic disease of the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; **92**: 83-88. doi: 10.1136/ad.2005.076794.
 19. Diez A, Gilsanz F, Martinez J, Perez-Benavente S, Meza N, Bautista J. Life-threatening nonspherocytic hemolytic anemia in a patient with a null mutation in the PKLR gene and no compensatory PKM gene expression. *Blood Journal* 2005; **106**: 1851-1856. doi: 10.1182/blood-2005-02-0555.
 20. Miwa S, Fujii H. Molecular basis of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia. *Am J Hematol* 1996; **51**: 122-132.
 21. Beutler E, Gelbart T. Estimating the prevalence of pyruvate kinase deficiency from the gene frequency in the general white population. *Journal of the American Society of Hematology* 2000; **95**(11): 3585-3588. doi: 10.1007/978-1-4684-2457-73
 22. Ishida Y, Miwa S, Fujii H, Fujinami N, Takegawa S, Yamato K. Thirteen cases of pyruvate kinase deficiency found in Japan. *Am J Hematol* 1981; **10**: 239-250. doi: 10.1002/ajh.2830100303
 23. Fung R, Keung Y K, Chung G. Screening of Pyruvate Kinase Deficiency and G6PD Deficiency in Chinese Newborn in Hong Kong. *Arch. Dis. Childh* 1969; **44**: 373-376.
 24. Kedar P, Warang P, Colah R, Mohanty D. Red Cell Pyruvate Kinase Deficiency in Neonatal Jaundice Cases in India. *Indian Journal of Pediatrics* 2006; **73**(11): 985-988. doi: 10.1007/bf02758302
 25. Abu-Melha A M, Ahmed M A M, Knox-Macaulay H, Al-Sowayan S A, El-Yahia A. Erythrocyte Pyruvate Kinase Deficiency in Newborns of Eastern Saudi Arabia. *Acta Haematol* 1991; **85**:192-194. doi: 10.1159/000204890
 26. Akin H, Baykal-Erkilic A, Aksu A, Yucel G, Gumuslu S. Prevalence of erythrocyte pyruvate kinase deficiency and normal values of enzyme in a Turkish population. *Hum Hered Journal* 1997; **47**(1): 42-46. doi: 10.1159/000204890
 27. Frequency of glutathione reductase, pyruvate kinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a Spanish population. *Hum. Hered.* 1979; **29**: 310-313. doi: 10.1159/000153063
 28. Ghorashi Z, Soltani Ahari H, Ghorashi S. Glucose 6 - Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Jaundiced Neonates in Tabriz Children's Hospital. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences* 2003; **29**(3): 89-93. (Persian).
 29. Zanella A, Bianchi P, Baronciani L, Zappa M, Bredi E, Vercellati C, et al. Molecular Characterization of PK-LR Gene in Pyruvate Kinase Deficient Italian Patients. *Blood Journal* 1997; **89**: 3847-3852. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02711.x
 30. Keitt A. Pyruvate Kinase Deficiency and Related Disorders of Red Cell Glycolysis. *American Journal of Medicine* 1966; **41**:1-24. doi: 10.1016/0002-9343(66)90036-2
 31. Warang P, Kedar P, Ghosh K, Colah R. Molecular and clinical heterogeneity in pyruvate kinase deficiency in India. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2013; **4C**:1-5. doi: 10.1016/j.bcmd.2013.05.006.
 32. Sule U, Fatma G. Molecular Analyses of Pyruvate Kinase Deficient Turkish Patients from a Single Center. *Pediatric Hematology and Oncology* 2015; **32**: 354-361. doi: 10.3109/08880018.2015.1010671

Original Article

The effect of 14 weeks of endurance training with two different Intensity on serum irisin level, gene expression of skeletal muscle PGC1- α and FNDC5 and subcutaneous adipose tissue UCP1 in obese rats

Mahbanou Ghaderi¹, Hamid Mohebbi^{2*}, Bahram Soltani³

¹PhD Student of Exercise Physiology, School of physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran

²Department of Exercise Physiology, School of physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran

³Department of Pharmacology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Guilan, Iran

*Corresponding author; E-mail: mohebbi_h@yahoo.com

Received: 22 April 2017 Accepted: 31 July 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):72-81

Abstract

Background: Irisin is a new myokine that has a beneficial effects of exercise on energy metabolism. However, irisin response to different intensities of endurance training is not completely understood.

Methods: In the current experimental study, 18 male Wistar rats were fed a high-fat diet and 6 rats were nourished a standard diet for 12 weeks. After 12 weeks, obese rats were randomly divided into 3 groups: high-intensity training (34 m/min ~85% VO₂max), moderate-intensity training (28 m/min ~70% VO₂max) and control. Exercise groups trained 5 days/week for 12 weeks on a rodent treadmill. Serum irisin level and gene expression changes were measured using ELISA and Real Time-PCR method, respectively.

Results: In high and moderate-intensity endurance training expression of PGC1- α (P=0.001 and P=0.001), FNDC5 (P=0.013 and P=0.049) and UCP1 (P=0.001 and P=0.001) were significantly more than the control group. Serum irisin level only after high-intensity training was more than the control group (P=0.014). A positive correlation was observed between serum irisin and UCP1 in both of high (P=0.017) and moderate-intensity (P=0.046) training groups.

Conclusion: High-intensity endurance training has a positive effect on the level of serum irisin. Also, there is a positive correlation between irisin and UCP1 gene expression in subcutaneous adipose tissue. However, irisin isn't the only factor affecting on exercise-induced UCP1 gene expression.

Keyword: Exercise training, FNDC5 protein, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator1- α , Uncoupling protein 1.

How to cite this article: Ghaderi M, Mohebbi H, Soltani B. [The Effect of 14 Weeks of Endurance Training with Two different Intensity on Serum Irisin Level, Gene Expression of Skeletal Muscle PGC1- α and FNDC5 and Subcutaneous Adipose Tissue UCP1 in Obese Rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):72-81. Persian.

مقاله پژوهشی

تأثیر ۱۴ هفته تمرین استقامتی با دو شدت مختلف بر سطح آیریزین سرم، بیان ژن PGC1- α و FNDC5 عضله ی اسکلتی و UCP1 چربی زیرپوستی موش های چاقمهیانو قادری^۱، حمید محبی^۲، بهرام سلطانی^۳

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
^۳ گروه فارماکولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، گیلان، ایران
 * نویسنده مسوول: ایمیل: mohebbi_h@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۷۲-۸۱

چکیده

زمینه: آیریزین مایوکاین جدیدی است که اثرات مفید ورزش بر متابولیسم انرژی را میانجی گری می کند. با این حال پاسخ آیریزین به شدت های مختلف تمرین استقامتی به طور کامل شناخته نشده است.

روش کار: در مطالعه ی تجربی حاضر، ۱۸ سر موش نر ویستار، ۱۲ هفته با غذای پرچرب و ۶ سر با غذای استاندارد تغذیه شدند. پس از ۱۲ هفته، موش های چاق به صورت تصادفی به ۳ گروه تمرین شدت بالا (۳۴ متر بر دقیقه معادل VO_{2max} /۸۵)، تمرین شدت متوسط (۲۸ متر بر دقیقه معادل VO_{2max} /۷۰) و کنترل تقسیم شدند. گروه های تمرینی ۱۴ هفته، هر هفته ۵ روز روی تردمیل جوندگان دویدند. سطح آیریزین سرم و تغییرات بیان ژن به ترتیب به روش الایزا و RT-PCR اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمون های تی مستقل، تحلیل واریانس یک طرفه و ضریب همبستگی پیرسون در سطح $P \leq 0.05$ تحلیل شدند.

یافته ها: در تمرین شدت بالا و شدت متوسط بیان ژن های PGC1- α ($P=0.001$ ، $P=0.001$)، FNDC5 ($P=0.013$ ، $P=0.049$) و UCP1 ($P=0.001$) به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. سطح آیریزین سرم تنها پس از تمرین شدت بالا بیشتر از گروه کنترل بود ($P=0.014$). ارتباط مثبت معنی داری بین آیریزین سرم و UCP1 mRNA در هر دو گروه تمرین شدت بالا ($P=0.017$) و شدت متوسط ($P=0.046$) مشاهده شد. **نتیجه گیری:** تمرین استقامتی شدت بالا اثر مثبتی بر سطح آیریزین سرم دارد. همچنین بین آیریزین و بیان ژن UCP1 در چربی زیرپوستی ارتباط مثبتی وجود دارد. با این حال، آیریزین تنها عامل مؤثر بر بیان ژن UCP1 ناشی از ورزش نیست.

کلید واژه ها: تمرین ورزشی، پروتئین FNDC5، فاکتور فعال کننده ی همکار گیرنده ی گامای فعال شده با تکثیر پروگسیزوم، پروتئین جفت نشده ی ۱

نحوه استناد به این مقاله: قادری م، محبی ح، سلطانی ب. تأثیر ۱۴ هفته تمرین استقامتی با دو شدت مختلف بر سطح آیریزین سرم، بیان ژن PGC1- α و FNDC5 عضله ی اسکلتی و UCP1 چربی زیرپوستی موش های چاق. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۷۲-۸۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کریئو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

تعادل بین انرژی دریافتی و مصرفی مسؤول حفظ وزن بدن می‌باشند و اختلال در این تعادل ممکن است منجر به کاهش وزن، بی‌اشتهایی، اضافه‌وزن یا چاقی شود (۱). به‌خوبی مشخص شده است که ورزش نقش مهمی در تنظیم وزن و فعالیت متابولیک کل بدن ایفا می‌کند (۲). اثرات مفید ورزش در تنظیم متابولیک ممکن است از طریق رهایی سایتوکاین‌های عضلانی (مایوکاین) میانجی-گری شود (۳). بوستروم و همکاران در سال ۲۰۱۲ یک پپتید مترشح از بافت عضلانی به نام آیریزین شناسایی کردند که به‌نظر می‌رسد رابطه‌ی بین عضله‌ی اسکلتی و سایر بافت‌های بدن را میانجی‌گری می‌کند (۴). آیریزین به‌عنوان یک مایوکاین حساس به ورزش در تنظیم هموستاز انرژی نقش ویژه‌ای ایفا می‌کند و به‌طور بالقوه به‌عنوان یک راهبرد درمانی برای چاقی و دیابت در نظر گرفته شده است (۵). افزایش در بیان $PGC1-\alpha$ (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α Fibronectin type III domain containing 5) FNDC5 غشایی را فعال می‌کند و FNDC5 به‌طور پروتئولیکی شکسته شده و به شکل آیریزین وارد جریان خون می‌شود (۶). پیشنهاد شده است که آیریزین برخی از اثرات مفید ورزش بر متابولیسم انرژی را از طریق قهوه‌ای کردن بافت چربی سفید و افزایش مصرف انرژی کل بدن میانجی‌گری می‌کند (۱،۴). از آنجایی که بافت چربی قهوه‌ای اثرات ضدچاقی و ضد دیابتی دارد (۴)، آیریزین به‌عنوان یک عامل مفید برای درمان اختلالات متابولیک مطرح شده است (۲،۷).

افزایش آیریزین و بیان ژن پیش‌ساز آن FNDC5 در پاسخ به اغلب فعالیت‌های ورزشی حاد (۵، ۸ و ۹) و برخی از پروتکل‌های تمرین مقاومتی (۱۰) و استقامتی طولانی مدت (۴) مشاهده شده است. با این حال، مطالعات دیگری نیز وجود دارند که تغییری در پاسخ آیریزین و FNDC5 mRNA پس از تمرینات طولانی مدت گزارش نکرده‌اند (۱۴-۱۱،۹). برای مثال، Brenmoehl و همکاران (۲۰۱۴) پس از ۳ هفته دویدن موش‌ها روی چرخ گردان علی‌رغم افزایش ۱/۵ برابری در $PGC1-\alpha$ mRNA تغییری در سطح آیریزین سرم و FNDC5 mRNA عضله‌ی اسکلتی گزارش نکردند (۱۲). پاسخ به ورزش به عواملی مانند شدت، مدت و نوع تمرین بستگی دارد (۷). به‌طوری که نشان داده شده است، تمرین استقامتی طولانی مدت افزایش مداومی در بیان ژن $PGC1-\alpha$ ایجاد می‌کند (۱۵). شدت تمرین نیز از عوامل کلیدی مؤثر در فعالیت $PGC1-\alpha$ عضله‌ی اسکلتی است (۱۶) و از جمله متغیرهای تمرینی است که می‌تواند بر تغییرات آیریزین مؤثر باشد. این احتمال وجود دارد که تمرین ورزشی با شدت‌های بالاتر در مقایسه با شدت‌های پایین‌تر به‌دلیل درگیری بیشتر انواع مختلف تارهای عضلانی و ایجاد تغییراتی مانند افزایش سطح لاکتات و اپی‌نفرین جریان خون و همچنین تخلیه‌ی فسفوکراتین موجب

تحریک و بیان بیشتر $PGC1-\alpha$ mRNA و FNDC5 (۱۷) و در نتیجه ترشح بیشتر آیریزین شود. بنابراین، ممکن است شدت-های مختلف تمرین استقامتی با تحریک و بیان متفاوت $PGC1-\alpha$ mRNA پاسخ‌های متفاوت FNDC5 و آیریزین را در پی داشته باشد. با این حال، بر اساس اطلاعات ما، این فرضیه تاکنون در نتیجه‌ی تمرین ورزشی طولانی مدت به‌ویژه در موش‌های چاق مورد بررسی قرار نگرفته است و توجه ناکافی به چنین موضوعی، ضرورت پژوهش تازه‌ای را ایجاب می‌کند. همچنین، نشان داده شده است که آیریزین با بیان ژن UCP1 (Uncoupling protein 1) در سلول‌های چربی سفید به‌ویژه چربی زیرپوستی منجر به قهوه‌ای شدن این بافت می‌شود. به‌طوری که کشت سلول‌های چربی سفید موش با FNDC5 نو ترکیب منجر به بیان ژن‌های چربی قهوه‌ای شده است (۴). با این حال، Raschke و همکاران (۲۰۱۳) اثری از FNDC5 نو ترکیب یا آیریزین بر بیان ژن‌های قهوه‌ای شدن مشاهده نکردند (۱۸). از این‌رو بررسی اثر بالقوه‌ی آیریزین بر بیان ژن UCP1 چربی سفید زیرپوستی در نتیجه‌ی تمرینات طولانی مدت مورد نیاز است. بنابراین، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی طولانی مدت با دو شدت متفاوت بر بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ و FNDC5 عضله‌ی اسکلتی و سطح آیریزین سرم بود. همچنین ما بررسی کردیم که آیا تمرین استقامتی طولانی مدت می‌تواند منجر به بیان ژن قهوه‌ای شدن (UCP1 mRNA) در چربی سفید زیرپوستی شود و آیا این قهوه‌ای شدن با آیریزین در ارتباط است یا نه؟

روش کار

در مطالعه‌ی تجربی حاضر، از ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار (میانگین وزن $157/07 \pm 6/29$ گرم) که در مؤسسه‌ی واکسن و سرم سازی رازی پرورش و تکثیر یافته بودند استفاده گردید. موش‌ها بعد از انتقال به حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان به‌منظور آشنایی با محیط جدید به-مدت ۲ هفته بدون هیچ‌گونه اعمال مداخله‌ای در قفس‌های پلی کربنات شفاف (هر قفس ۳ سر) نگهداری شدند که در این مدت دسترسی آسان به آب و غذا داشتند. پس از دوره‌ی سازگاری، موش‌ها وزن‌کشی شده و ۱۸ سر به‌مدت ۱۲ هفته در شرایط بی-حرکتی و مصرف غذای پرچرب (۶۰ درصد چربی) قرار گرفتند. شش سر نیز برای مقایسه‌ی وزنی با گروه دریافت‌کننده‌ی غذای پرچرب، غذای استاندارد (۳۵ درصد چربی) مصرف کردند. در پایان ۱۲ هفته، زمانی که موش‌ها چاق محسوب شدند (وزن موش-های دریافت‌کننده‌ی رژیم پرچرب به ۱۰ تا ۲۵ درصد بیشتر از گروه تغذیه شده با غذای استاندارد رسید) (۱۹)، براساس وزن همسان‌سازی شده و به‌صورت تصادفی به ۳ گروه تمرین شدت

بدن) بی‌هوش شدند. سپس بلافاصله با برش شکم و قفسه‌ی سینه، خون به‌طور مستقیم از قلب موش گرفته شد. به‌منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم به‌دست آمده بعد از انتقال به میکروتیوپ‌های معین تا زمان سنجش آیریزین در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت آیریزین سرم به روش الیزا و با استفاده از کیت آیریزین (شرکت ZellBio, GmbH ulm, کشور آلمان) و دستگاه الیزا ریدر (دستگاه کارنورجنت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییر برون آزمون و حساسیت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب ۱۰ درصد و ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. جهت اندازه‌گیری متغیرهای بافتی، عضله‌ی دوقلو (به‌عنوان عضله‌ی ترکیبی) و چربی زیرپوستی ناحیه‌ی کشاله‌ی ران از پای راست حیوان جدا شدند. نمونه‌ی بافتی با سرم شسته و به محلول RNA Later (شرکت بنوژن ایران) آغشته شد. سپس به داخل میکروکرایو متقل و در نیتروژن مایع منجمد گردید و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. RNA تام با استفاده از کیت شرکت دنازیست استخراج و کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به‌وسیله‌ی الکتروفورز و نانودراپ ارزیابی شد. به‌منظور جلوگیری از تکثیر احتمالی مربوط به DNA ژنومی که همراه RNA استخراج می‌شود، نمونه‌های استخراج شده با DNaseI (Thermo Fisher) تیمار شدند. ساخت cDNA با استفاده از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit ساخت شرکت Thermo fisher انجام شد. طراحی پرایمر ژن‌های Act (به‌عنوان ژن خانه گردان)، PGC1- α ، FNDC5 و UCP1 با استفاده از نرم‌افزارهای Primer3 (<http://primer3.ut.ee>) و PrimerBLAST انجام شد (جدول ۲). صحت ستنز cDNA از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای ژن GAPDH (موجود در کیت ستنز cDNA) ارزیابی و بعد از تأیید صحت ستنز cDNA، واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی (Real time-PCR) با استفاده از کیت GreenHot Master Mix شرکت Bioron انجام شد. هر واکنش Real Time-PCR شامل ۱ میکرولیتر cDNA رقیق شده (نسبت ۱ به ۱۰)، ۰/۳ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۰/۳ میکرومولار، ۶/۲۵ میکرولیتر Master Mix و ۴/۶۵ میکرولیتر آب بود. از دستگاه (Bio-Rad CFX96) برای Real time-PCR استفاده شد. اختصاصی بودن تکثیر در Real time-PCR با ارزیابی منحنی و پیک ذوب و الکتروفورز ژل آگاروز ارزیابی شد. برای کمی سازی مقادیر بیان ژن‌های هدف از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد (۲۳).

توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک بررسی شد. از آزمون تی مستقل برای مقایسه‌ی میانگین وزن قبل و بعد از مرحله‌ی چاق شدن و از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-

بالا ۶ سر)، تمرین شدت متوسط (۶ سر) و گروه کنترل (۶ سر) تقسیم شدند. برنامه‌ی تمرینی به‌مدت ۱۴ هفته، هر هفته ۵ روز روی نوارگردان ۵ کاناله جونندگان (ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان- کشور ایران) انجام شد. تمرین در هفته‌ی اول به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه انجام شد. از هفته‌ی دوم، هر روز مدت و سرعت تمرین افزایش یافت تا در ابتدای هفته‌ی چهارم به میزان نهایی تعیین شده برای هر گروه رسید و از هفته‌ی چهارم تا چهاردهم موش‌ها با شدت‌های تعیین شده روی نوارگردان دویدند. تمرین شدت متوسط با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه (معادل ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) به مدت ۶۰ دقیقه و تمرین شدت بالا با سرعت ۳۴ متر بر دقیقه (معادل ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) به مدت ۴۹ دقیقه انجام شد (۲۰). جهت یکسان‌سازی مسافت طی شده در دو گروه (۱۶۸۰ متر) مدت زمان دویدن گروه تمرین شدت بالا با استفاده از فرمول سرعت (زمان مسافت= سرعت) به‌دست آمد. شیب دستگاه در تمام دوره‌ی تمرین صفر بود و از مجموع زمان دویدن در هر جلسه ۵ دقیقه‌ی ابتدایی برای گرم کردن (افزایش تدریجی سرعت) و ۵ دقیقه‌ی انتهایی برای سرد کردن (کاهش تدریجی سرعت) در نظر گرفته شد. جهت تحریک موش‌ها به دویدن از شوک الکتریکی ۰/۱ میلی آمپر استفاده گردید. در طی این مدت موش‌های گروه کنترل هیچ تمرین ورزشی انجام نمی‌دادند و تنها به‌منظور یکسان‌سازی عوامل خارجی (جابه‌جا کردن، دستکاری و صدای نوارگردان)، در درون قفس در کنار نوارگردان قرار داده می‌شدند و هر جلسه ۵ دقیقه روی نوارگردان خاموش قرار می‌گرفتند. تمام جلسات تمرین در بعد از ظهر (۱۵-۱۸) انجام شد. در تمام دوره‌ی پژوهش موش‌ها تحت شرایط کنترل شده‌ی دما (23 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد)، نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت (60 ± 5 درصد) نگهداری شدند. پژوهش تجربی حاضر پس از تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان با کد IR.GUMS.REC.1395.389 و با رعایت دستورالعمل حمایت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد. موش‌ها در مرحله‌ی چاق شدن، از غذای پرچرب (۶۰ درصد چربی) و در مرحله‌ی تمرین از غذای استاندارد (۳۵ درصد چربی) (۲۱) تهیه‌شده از پلت‌سازی انستیتو سرم سازی رازی تغذیه شدند که جزئیات آن در جدول ۱ ارائه شده است. در مرحله‌ی چاق شدن حیوانات به آب و غذا دسترسی آسان داشتند اما در دوره‌ی تمرین براساس وزن‌کشی هفتگی و با توجه به جیره‌ی طبیعی ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز (۲۲) غذا برای هر موش در قفس‌ها قرار داده شد. نمونه‌گیری خونی و بافتی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی انجام گرفت. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیب کانامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زیلازین (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن

WayANOVA) برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای مورد مطالعه در بین گروه‌های مختلف در مرحله‌ی تمرین استفاده شد و در صورت مشاهده‌ی معنی‌داری آزمون‌های تعقیبی Tukey و Tamhane's T2 به کار گرفته شدند. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای مورد پژوهش نیز از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ و در سطح $P \leq 0.05$ انجام گرفت.

یافته‌ها

قبل از شروع مرحله‌ی چاق شدن در میانگین وزن موش‌های مصرف کننده‌ی غذای استاندارد ($180/67 \pm 7/17$ گرم) و غذای پرچرب ($180/96 \pm 8/60$ گرم) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اما در پایان ۱۲ هفته در میانگین وزن موش‌هایی که غذای پرچرب مصرف کرده بودند ($410/06 \pm 8/56$ گرم) نسبت به موش‌های تغذیه شده با غذای استاندارد ($331/17 \pm 1/47$ گرم) افزایش معنی‌داری مشاهده شد (حدود ۱۹ درصد، $P=0/001$). قبل از شروع مرحله‌ی تمرین میانگین وزن موش‌ها در سه گروه تمرین شدت بالا، تمرین شدت متوسط و کنترل به ترتیب $83/0 \pm 410/83$ ، $92/0 \pm 410/00$ و $97/9 \pm 409/33$ گرم بود که تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها وجود نداشت. اما در انتهای برنامه‌ی تمرینی، میانگین وزن در هر دو گروه تمرین شدت بالا و شدت متوسط به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (به ترتیب $80/6 \pm 407/33$ گرم و $12/8 \pm 408/50$ گرم در مقابل $02/8 \pm 425/67$ گرم، $P=0/009$ ، $P=0/015$). بین دو گروه تمرین شدت

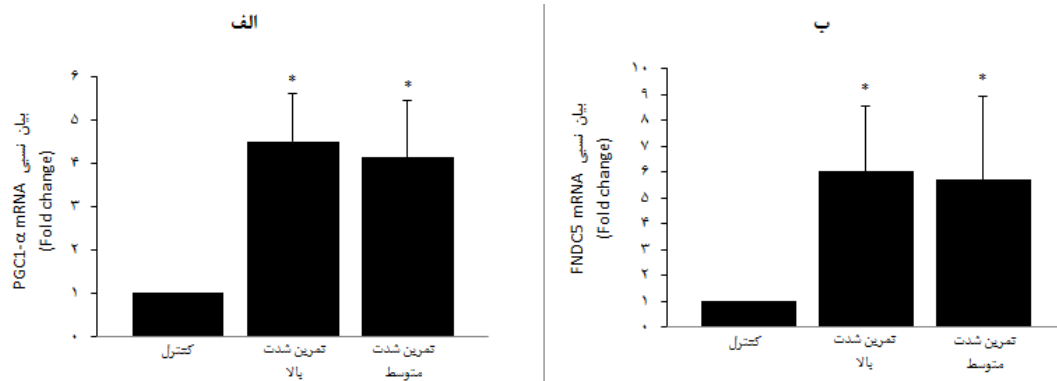
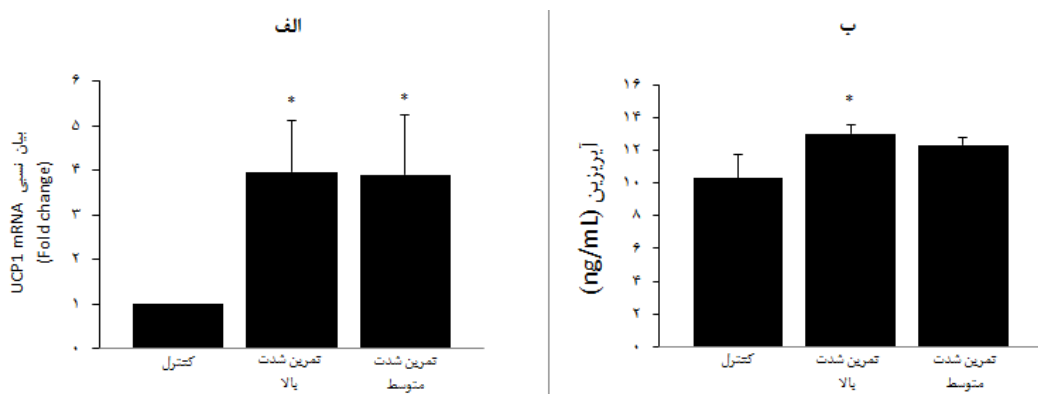
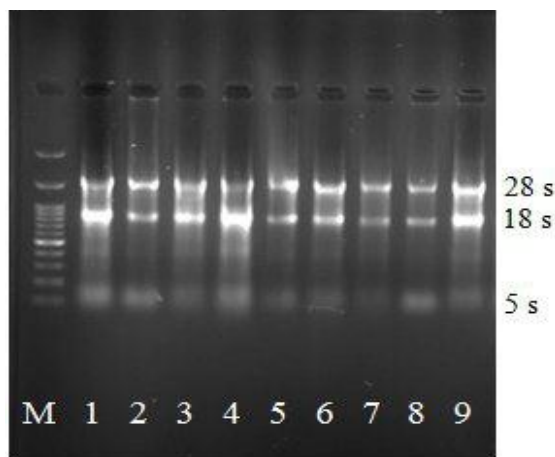
بالا و شدت متوسط نیز تفاوت معنی‌داری در میانگین وزن مشاهده نشد. پس از ۱۴ هفته تمرین استقامتی بیان نسبی $PGC1-\alpha$ mRNA در هر دو گروه تمرین شدت بالا و شدت متوسط به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/001$). بیان نسبی $FNDC5$ mRNA نیز در هر دو گروه تمرین شدت بالا و شدت متوسط در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود (به ترتیب: $P=0/013$ ، $P=0/049$). اما در مقایسه‌ی بین دو شدت تمرینی در بیان نسبی $PGC1-\alpha$ mRNA و $FNDC5$ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱). بیان نسبی $UCP1$ mRNA چربی زیرپوستی نیز در هر دو گروه تمرین شدت بالا و شدت متوسط به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/001$). بین تمرین شدت بالا و شدت متوسط در بیان نسبی $UCP1$ mRNA چربی زیرپوستی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۲، الف). بررسی میانگین آیریزین سرم ۳ گروه پس از ۱۴ هفته تمرین استقامتی نشان داد که بین گروه تمرین شدت بالا و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد و سطح آیریزین در گروه تمرین شدت بالا نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($057/0 \pm 13/03$ در مقابل $48/1 \pm 10/28$ نانوگرم بر میلی لیتر، $P=0/014$). اما در سطح آیریزین سرم بین گروه تمرین شدت متوسط و گروه کنترل و همچنین بین دو شدت تمرینی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲، ب). نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که در هر دو گروه تمرین شدت بالا و شدت متوسط ارتباط مثبت معنی‌داری بین سطح آیریزین سرم و $UCP1$ mRNA چربی زیرپوستی وجود دارد (به ترتیب: $892/0 \pm 0/17$ و $819/0 \pm 0/46$ ، $P=0/046$).

جدول ۱: مواد تشکیل دهنده‌ی غذای موش (۲۱)

مواد تشکیل دهنده	رژیم غذایی پرچرب (گرم بر کیلوگرم)	رژیم غذایی استاندارد (گرم بر کیلوگرم)
گندم	۲۳۴/۵	۲۳۴/۵
جو	۱۴۰/۶۶	۱۵۰/۶۶
ذرت	۴۲	۲۵۱/۳
سبوس	۲۰	۳۰/۲
کنجاله‌ی سویا	۱۵۰	۱۰۰/۵
پودر یونجه	۲۰/۱	۲۰/۱
نمک	۸/۳	۸/۳
مخلوط املاح	۰/۹	۰/۹
مولتی ویتامین	۰/۹	۰/۹
ویتامین E	۶/۷	۶/۷
ویتامین D۳	۱/۶۷	۱/۶۷
ویتامین C	۱/۶۷	۱/۶۷
شیر خشک	۲۵/۱	۲۵/۱
پودر گوشت	۱۶۷/۵	۱۶۷/۵
روغن سویا	۱۸۰	-
انرژی (Kcal/g)	۳/۵۸	۲/۵۸
پروتئین (درصد)	۱۰/۱	۱۱/۱
کربوهیدرات (درصد)	۳۰/۱	۴۷/۱
چربی (درصد)	۶۰/۱	۳۵/۱

جدول ۲: لیست پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

طول قطعه	پرایمر معکوس	پرایمر رفتی	نماد ژن
۲۴۶	GAGCCACCAATCCACACAGA	CCAGCCTTCCTTCCTGGGTA	Act
۱۱۴	CTCTCAGTTCTGTCCGCGTT	GGGAGTCTGAAAGGGCCAAG	PGC1- α
۱۱۶	CGCAGCATCCTCACATCCTT	GTAACCGTCAGGCACCTCAA	FNDC5
۱۳۱	GTCGTCCCTTTCCACAGTGTG	GAGGTGGTGAAGGTCAGAATGC	UCP1

نمودار ۱: بیان نسبی PGC1- α mRNA (الف) و FNDC5 mRNA (ب) در گروه‌های مختلف. *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($P \leq 0.05$).نمودار ۲: بیان نسبی UCP1 mRNA (الف) و سطح آیریزین سرم (ب) در گروه‌های مختلف. *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($P \leq 0.05$).

تصویر ۱: نمونه الکتروفورز RNA استخراج شده. M: نشانگر ۱۰۰ جفت باز، ۹-۱: نمونه RNAهای استخراج شده

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر، افزایش بیان $PGC1-\alpha$ mRNA و $FNDC5$ عضله‌ی اسکلتی و $UCP1$ چربی زیرپوستی را پس از ۱۴ هفته تمرین استقامتی با شدت بالا و شدت متوسط نسبت به گروه کنترل نشان داد. اما افزایش آیریزین سرم تنها پس از تمرین با شدت بالا مشاهده شد. با این حال بین آیریزین سرم و $UCP1$ mRNA در هر دو شدت تمرینی ارتباط مثبت معنی‌داری وجود داشت. در مقایسه‌ی بین گروه‌های تمرینی نیز در هیچ یک از متغیرهای پژوهش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

آیریزین یک مایوکاین وابسته به $PGC1-\alpha$ است و در نتیجه‌ی شکست پروتئولیتیکی $FNDC5$ عضله‌ی اسکلتی وارد جریان خون می‌شود (۴،۱۱) و نقش مهمی در متابولیسم انرژی و تحمل گلوکز دارد و می‌تواند منجر به قهوه‌ای شدن سلول‌های چربی سفید شود (۴). آیریزین به‌عنوان یک مایوکاین ناشی از ورزش شناخته شده است و $Bostrom$ و همکاران (۲۰۱۲) ترشح آن در انسان و موش را وابسته به تمرین استقامتی طولانی مدت مطرح کرده‌اند (۴)، با این حال بسیاری از مطالعات نتایج متناقضی گزارش کرده‌اند. به‌طوری که $Czarkowska$ و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند پس از ۶ هفته دویدن با شدت متوسط روی نوارگردان سطح آیریزین جریان خون موش‌های ویستار تغییری نداشت (۱۴). Seo و همکاران (۲۰۱۴) نیز عدم تغییر آیریزین پلاسمای موش‌های اسپراگ داولی را پس از ۴ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط گزارش کردند (۱۳). $Hecksteden$ و همکاران (۲۰۱۳) و Huh و همکاران (۲۰۱۲) نیز عدم تغییر سطح آیریزین جریان خون را در آزمودنی‌های انسانی به‌ترتیب پس از ۲۶ هفته تمرین استقامتی و ۸ هفته تمرین اینتروال سرعتی (۴ یا ۶ نوبت دوی ۸۰ متر سرعت) که یک پروتکل تمرینی غیرمعمول و متفاوت با سایر مطالعات بود، نشان دادند (۹،۲۴). نتایج مطالعه‌ی حاضر در مقایسه با مطالعات قبلی عدم افزایش معنی‌دار آیریزین سرم را در تمرین با شدت متوسط نشان داد. اما سطح آیریزین در تمرین با شدت بالا نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. در رابطه با اثر شدت‌های مختلف تمرین استقامتی طولانی مدت بر تغییرات سطح آیریزین سرم در آزمودنی‌های چاق اطلاعات کاملی در دسترس نیست. در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که شدت طی یک دوره تمرین طولانی مدت می‌تواند پاسخ آیریزین را تحت تأثیر قرار دهد. نشان داده شده است که تمرین استقامتی سبب افزایش مداوم در بیان $PGC1-\alpha$ mRNA می‌شود (۱۵) و زمانی که تمرین با شدت بالا اجرا شود منجر به افزایش سطح لاکتات و اپی نفرین خون و همچنین تخلیه‌ی ذخایر انرژی (فسفوکراتین و ATP) می‌شود که تمام این سیگنال‌ها تحریک و فعالیت $PGC1-\alpha$ و احتمالاً $FNDC5$ را افزایش می‌دهند (۱۷).

برای روشن شدن سازوکارهای افزایش آیریزین ناشی از ورزش، در این مطالعه، عامل‌های بالادست پیشنهاد شده برای آیریزین یعنی $PGC1-\alpha$ و $FNDC5$ عضله‌ی دوقلو، به‌عنوان یک عضله‌ی ترکیبی که در فعالیت دویدن روی نوارگردان درگیر هست، در سطح mRNA اندازه‌گیری شدند. نتایج افزایش $PGC1-\alpha$ mRNA و $FNDC5$ را در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل نشان داد. $Bostrom$ و همکاران (۲۰۱۲) افزایش دو برابری $PGC1-\alpha$ mRNA را در نتیجه‌ی ۳ هفته دویدن موش‌ها به‌صورت آزادانه روی چرخ گردان، گزارش کردند. همچنین نشان دادند که افزایش $FNDC5$ mRNA در نتیجه‌ی بیان بیش از اندازه‌ی $PGC1-\alpha$ رخ می‌دهد که این افزایش در $FNDC5$ می‌تواند بعد از تمرین ورزشی در انسان و موش مشاهده شود (۴). $Brenmoehl$ و همکاران (۲۰۱۴) افزایش ۱/۵ برابری $PGC1-\alpha$ mRNA را پس از ۳ هفته دویدن روی چرخ گردان نشان دادند، اما تغییری در بیان $FNDC5$ mRNA و سطح آیریزین سرم نسبت به گروه کنترل مشاهده نکردند (۱۲). $Patin$ و همکاران (۲۰۱۴)، $Timmons$ و همکاران (۲۰۱۲) و $Fain$ و همکاران (۲۰۱۳) نیز پاسخ روشنی از $FNDC5$ mRNA عضله‌ی اسکلتی به تمرین ورزشی در انسان و خوک نیافتند (۲۷-۲۵). $Norheim$ و همکاران (۲۰۱۴) علی‌رغم این که افزایش بیان $PGC1-\alpha$ mRNA و $FNDC5$ عضله‌ی اسکلتی را پس از ۱۲ هفته تمرین نشان دادند، اما افزایشی در سطح آیریزین پلاسما در مردان ۴۵ تا ۶۰ ساله گزارش نکردند. آن‌ها عنوان کردند که احتمالاً عوامل یا مکانیسم‌های ناشناخته‌ی دیگری برای ترشح آیریزین از عضله وجود دارد (۱۱). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تمرین استقامتی مستقل از شدت تمرینی منجر به افزایش بیان $PGC1-\alpha$ mRNA و $FNDC5$ نسبت به گروه کنترل می‌شود. اما سطح آیریزین سرم تنها پس از تمرین با شدت بالا افزایش معنی‌داری نشان داد و افزایش در بیان ژن $FNDC5$ در تمرین شدت متوسط با افزایش معنی‌دار در سطح آیریزین همراه نبود. این نشان می‌دهد که علاوه بر تنظیم رونویسی $FNDC5$ ، عوامل یا فرایندهای دیگری ممکن است در رهایی آیریزین از عضله درگیر باشند. نشان داده شده است که تمرین ورزشی با شدت بالا محصولات متابولیکی و شرایط شناخته شده‌ای مانند تخلیه‌ی گلیکوزن، افزایش سطح ADP، H⁺ و درجه‌ی حرارت بدن را منجر می‌شود. کاهش PH و افزایش دما از جمله عواملی هستند که می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز بر شکست پروتئولیتیکی $FNDC5$ اثرگذار باشند (۲۸). بنابراین، این احتمال وجود دارد که تفاوت بودن این تغییرات در دو گروه تمرینی منجر به میزان شکست متفاوت $FNDC5$ و در نتیجه رهایی متفاوت آیریزین به داخل جریان خون شده باشد. با این حال، در مطالعه‌ی حاضر رابطه‌ی بین تغییرات

نسبت داد. برای مثال، گزارش شده است که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان PGC1- α mRNA چربی زیرپوستی می‌شود (۲۹) و این عامل یک محرک برای بیان UCP1 mRNA است (۳۰) که می‌تواند مستقل از آیریزین عمل کند. با این حال، برای درک بهتر این موضوع، پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده همراه با آیریزین و بیان ژن UCP1، تغییرات در بیان PGC1- α mRNA بافت چربی سفید نیز در پاسخ به تمرینات ورزشی ارزیابی گردد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد، تمرین استقامتی مستقل از شدت تمرین سبب افزایش بیان PGC1- α mRNA و FNDC5 عضله‌ی اسکلتی می‌شود. اما در شکست FNDC5 و رهایی آیریزین به داخل جریان خون شدت تمرین عامل مهمی است. به‌طوری که شدت بالاتر تمرین سبب افزایش سطح سرمی این مایوکاین می‌شود. همچنین ارتباط مثبت بین آیریزین و UCP1 اهمیت وجود آیریزین برای بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی و متعاقب آن کاهش وزن بدن در نتیجه-ی تمرین استقامتی را نشان می‌دهد.

قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله‌ی دکتری مصوب در دانشگاه گیلان می‌باشد. بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نمایم و رساله فاقد شماره می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان گیلان با کد IR.GUMS.REC.1395.389 به تأیید رسیده است.

منابع مالی

منابع مالی توسط محققین این مطالعه تامین شده است.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

م ق، ح م و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را برعهده داشته‌اند. تمام همکاران نسخه‌ی نهایی را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

این عوامل با ترشح آیریزین ارزیابی نشد و بررسی چنین موضوعی در پژوهش‌های آینده جذاب خواهد بود.

از طرفی دیگر، پیشنهاد شده است که آیریزین از طریق افزایش بیان UCP1 mRNA چربی سفید و افزایش هزینه‌ی انرژی کل بدن برخی از اثرات مفید ورزش را میانجی‌گری می‌کند (۴). در مطالعه-ی حاضر بررسی شد که آیا ۱۴ هفته تمرین استقامتی با دو شدت متفاوت می‌تواند سبب بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی در موش‌های چاق شود؟ و در صورت مشاهده‌ی اثر ورزش آیا این اثر می‌تواند از طریق آیریزین باشد؟ نتایج ما افزایش بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی را پس از تمرین استقامتی با هر دوشدت بالا و متوسط نشان داد. همچنین کاهش وزن در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود. Bostrom و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی را پس از تمرینات استقامتی در موش و انسان گزارش و بیان کرده‌اند که افزایش متوسط در سطح آیریزین پلاسما منجر به افزایش قابل توجه در بیان UCP1 mRNA چربی سفید، افزایش هزینه‌ی انرژی و کاهش وزن بدن می‌شود. آن‌ها پیشنهاد کردند، وقتی چنین افزایشی در نتیجه‌ی ورزش در انسان و موش مشاهده می‌شود، این احتمال وجود دارد که آیریزین مسؤل برخی از اثرات ورزش بر قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید و افزایش هزینه‌ی انرژی کل بدن باشد (۴). Norheim و همکاران (۲۰۱۴) اگرچه افزایش بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی را پس از ۱۲ هفته تمرین استقامتی در مردان نشان دادند، اما این افزایش با افزایش در سطح آیریزین پلاسما همراه نبود و ارتباطی بین سطح آیریزین و UCP1 mRNA گزارش نکردند. آن‌ها بیان کردند، احتمالاً آیریزین تنها اثرات پاراکراین و اتوکراین دارد. با این حال در مطالعه‌ی آن‌ها ارتباطی بین FNDC5 و UCP1 چربی زیرپوستی مشاهده نشد (۱۱). در مطالعه‌ی حاضر در تمرین شدت بالا افزایش سطح آیریزین سرم با افزایش معنی‌دار بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی و کاهش وزن بدن همراه بود. اما، در تمرین شدت متوسط علی‌رغم افزایش غیرمعنی‌دار آیریزین سرم افزایش بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی و کاهش وزن بدن معنی‌دار بود. این نتایج نشان می‌دهند که آیریزین احتمالاً تنها عامل مؤثر در بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی نیست. با این حال، با مشاهده‌ی ارتباط مثبت معنی‌دار بین آیریزین و بیان UCP1 mRNA در هر دو تمرین شدت بالا و شدت متوسط، می‌توان گفت که آیریزین در بیان ژن UCP1 نقش مهمی ایفا می‌کند. عوامل دیگری مستقل از آیریزین ممکن است بر بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی در پاسخ به ورزش اثر بگذارند و بخشی از افزایش بیان UCP1 mRNA در مطالعه‌ی حاضر را پس از تمرین با شدت متوسط که مستقل از افزایش آیریزین بود، تا حدودی می‌توان به این عوامل

References

1. Pardo M, Crujeiras A B, Amil M, Aguera Z, Jiménez-Murcia S, Baños R, et al. Association of irisin with fat mass, resting energy expenditure, and daily activity in conditions of extreme body mass index. *Int J Endocrinol* 2014; **2014**: 857270.
2. Arias-Loste M T, Ranchal I, Romero-Gómez M, Crespo J. Irisin, a link among fatty liver disease, physical inactivity and insulin resistance. *Int J Mol Sci* 2014; **15**(12): 23163-23178. doi: 10.3390/ijms151223163
3. Huh J Y, Siopi A, Mougios V, Park KH, Mantzoros C S. Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; **100**(3): E453-E457.
4. Boström P, Wu J, Jedrychowski M P, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; **481**(7382): 463-468. doi: 10.1038/nature10777
5. Nygaard H, Slettaløkken G, Vegge G, Hollan I, Whist J E, Strand T, et al. Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PLoS One* 2015; **10**(3): e0121367. doi: 10.1371/journal.pone.0121367
6. Huerta A E, Prieto-Hontoria P L, Fernandez-Galilea M, Sainz N, Cuervo M, Martinez JA, et al. Circulating irisin and glucose metabolism in overweight/obese women: effects of α -lipoic acid and eicosapentaenoic acid. *J Physiol Biochem* 2015; **71**(3): 547-558. doi: 10.1007/s13105-015-0400-5
7. Huh J Y, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, et al. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; **99**(11): E2154-E2161. doi: 10.1210/jc.2014-1437
8. Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita M, Koyama K. High-intensity exercise causes greater irisin response compared with low-intensity exercise under similar energy consumption. *Tohoku J Exp Med* 2014; **233**(2): 135-140. doi: 10.1620/tjem.233.135
9. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* 2012; **61**(12): 1725-38.
10. Zhao J, Su Z, Qu C, Dong Y. Effects of 12 Weeks Resistance Training on Serum Irisin in Older Male Adults. *Front Physiol* 2017; **8**: 321-329. doi: 10.3389/fphys.2017.00171
11. Norheim F, Langleite T M, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim H K, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J* 2014; **281**(3): 739-749. doi: 10.1111/febs.12619
12. Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K, Schering L, Langhammer M, Hoeflich A, et al. Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci* 2014; **10**(3): 338-349. doi: 10.7150/ijbs.7972
13. Seo D Y, Kwak H B, Lee S R, Cho Y S, Song I S, Kim N, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutr Res Pract* 2014; **8**(2): 177-182. doi: 10.4162/nrp.2014.8.2.177
14. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Gala K, Sobol M, Paczek L. One session of exercise or endurance training does not influence serum levels of irisin in rats. *J Physiol Pharmacol* 2014; **65**(3): 449-454.
15. Novelle M G, Contreras C, Romero-Picó A, López M, Diéguez C. Irisin, two years later. *Int J Endocrinol* 2013; **2013**: 746281.
16. Egan B, Carson B P, Garcia-Roves P M, Chibalin A V, Sarsfield F M, Barron N, et al. Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *J Physiol* 2010; **88**(10): 1779-1790. doi: 10.1113/jphysiol.2010.188011
17. Baar K. Nutrition and the adaptation to endurance training. *Sports Med* 2014; **44**(1): 5-12. doi: 10.1007/s40279-014-0146-1
18. Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, et al. Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS One* 2013; **8**(9): e73680. doi: 10.1371/journal.pone.0073680
19. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev* 2010; **23**(02): 270-299. doi: 10.1017/S0954422410000168
20. Garekani E T, Mohebbi H, Kraemer R R, Fathi R. Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. *Peptides* 2011; **32**(5): 1008-1012. doi: 10.1016/j.peptides.2011.01.027
21. Mohebbi H, Hasan nia S, Rohani H, Pirouz nia N, Daliri Joupari M. Effect of Diet-Induced Obesity and Endurance Training-Induced weight Reduction on Plasma Leptin in C57BL/6 Mice. *Olympic* 2013; **21**(2): 99-112. (Persian)
22. Fathi R, Ghanbari-Niaki A, Rahbarizadeh F, Hedayati M, Ghahramanloo E, Farshidi Z. The Effect of Exercise on Plasma Acylated Ghrelin Concentrations and Gastrocnemius Muscle mRNA Expression in

- Male Rats. *Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism* 2009; **10**(5): 519-526. (Persian)
23. Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods* 2001; **25**(4): 402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
 24. Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, Kraushaar J, Morsch A, Ruppenthal S, et al. Irisin and exercise training in humans—results from a randomized controlled training trial. *BMC Med* 2013; **11**(1): 235. doi: 10.1186/1741-7015-11-235
 25. Besse-Patin A, Montastier E, Vinel C, Castan-Laurell I, Louche K, Dray C, et al. Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int J Obes* 2014; **38**(5): 707-713. doi: 10.1038/ijo.2013.158
 26. Timmons J A, Baar K, Davidsen P K, Atherton P J. Is irisin a human exercise gene? *Nature* 2012; **488**(7413): E9-E10. doi: 10.1038/nature11364
 27. Fain J N, Company J M, Booth F W, Laughlin M H, Padilla J, Jenkins N T, et al. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism* 2013; **62**(10): 1503-1511. doi: 10.1016/j.metabol.2013.05.021
 28. Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Proteolytic mRNA expression in response to acute resistance exercise in human single skeletal muscle fibers. *J Appl Physiol* 2006; **101**(5): 1442-1450. doi: 10.1152/japplphysiol.00438.2006
 29. Sutherland L N, Bomhof M R, Capozzi L C, Basaraba S A, Wright D C. Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue. *J Physiol* 2009; **587**(7): 1607-1617. doi: 10.1113/jphysiol.2008.165464
 30. Bonet M L, Oliver P, Palou A. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* 2013; **1831**(5): 969-985.

Original Article

Effect of hydro alcoholic extract of pumpkins seed on the renal and hepatic serum variables and histological changes in adult female rats

Samaneh Motamed Jahromi 

School of Medical Science, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran, Educational Development Center, Bandarabas University of Medical Sciences, Bandarabas, Iran

*Corresponding author; E-mail: Sanammorsal400500@yahoo.com

Received: 26 February 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):82-91

Abstract

Background: The nature is a rich source of medicinal compounds in plants. Some of them are hidden in plants. Pumpkin seeds have long been used in Traditional medicine of many countries. Due to the unavailability of sufficient scientific evidence on the effects of this substance on the liver and kidneys, this study was designed.

Methods: In this experimental study, 40 rats immature Wistar (in the range of weight 10 ± 180 g and the age of 60 days) and divided into 5 groups of 8 animals: three experimental groups, control and sham groups. Extract the experimental groups (20, 50, 100 mg dose of pumpkin seed extract/kg) was injected intraperitoneally for 21 consecutive days. One day after the last injection blood samples from rats to evaluate serum levels of ALT, AST, ALP, total protein, albumin, bilirubin, uric acid, creatinine and liver and kidney were removed for histological studies.

Results: No significant changes in serum levels of ALT, AST, total protein, albumin, bilirubin, uric acid, creatinine compared was found in experimental group. The serum ALP 3 in the experimental group had a significant decrease. Totally, no changes were observed in liver tissue but the diameter of the Boman's capsule and the glomerulus and kidney cortex in the experimental group had a significant decrease.

Conclusion: Extract of pumpkin seeds has been able to significantly reduce the serum ALP and as well as on kidney tissue to reduce the diameter of glomeruli and Bowman's capsule and the cortex.

Keyword: Kidney- Liver- Mature -Pumpkin Seeds- Rats.

How to cite this article: Motamed Jahromi S. [Effect of hydro alcoholic extract of pumpkins seed on the renal and hepatic serum variables and histological changes in adult female rats.]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):82-91. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدرو الکلی تخمه کدو تنبل بر میزان متغیرهای کلیوی و کبدی و تغییرات بافتی این دو ارگان در موشهای صحرایی ماده بالغ

سمانه معتمد جهرمی*

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران، مرکز مطالعات و توسعه آموزش علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس، بندرعباس، ایران
* نویسنده مسؤل؛ ایمیل: Sanammorsal400500@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۸ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۸۲-۹۱

چکیده

زمینه: طبیعت، منبعی غنی از ترکیبات دارویی می باشد که بخشی از آنها در گیاهان نهفته اند. تخمه کدو تنبل به مدت طولانی در طب سنتی بسیاری از کشورها استفاده می شود. با توجه به در دسترس نبودن شواهد علمی کافی در خصوص میزان تأثیر این ماده بر کبد و کلیه این تحقیق طراحی و اجرا گردید. **روش کار:** در این تحقیق تجربی ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار (در محدوده وزنی 180 ± 10 گرم و سن ۶۰ روز) انتخاب و به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی: سه گروه تجربی، کنترل و شش تقسیم شدند. به گروه های تجربی عصاره (با دوزهای ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل) به مدت ۲۱ روز متوالی به صورت درون صفاقی تزریق شد. یک روز بعد از آخرین تزریق خونگیری از موشها جهت بررسی سطح سرمی ALT، AST، ALP، پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین، اسید اوریک، کراتینین به عمل آمد و کبد و کلیه و کبد آنها نیز برای مطالعات بافت شناسی برداشته شد.

یافته ها: در بررسی های انجام شده، تغییر معنی داری در سطح سرمی ALT، AST، پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین، اسید اوریک، کراتینین نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید. میزان سرمی ALP در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار را نشان داد. از نظر مطالعات بافتی تغییری در بافت کبد مشاهده نشد ولی قطر کپسول بومن و گلومرول و بخش قشری کلیه در گروه تجربی ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می دهد. **بحث و نتیجه گیری:** عصاره تخمه کدو تنبل توانسته است میزان سرمی ALP را به طور معنی دار کاهش دهد و همچنین بر روی بافت کلیه گروه تجربی ۲ و ۳ باعث کاهش قطر کپسول بومن و گلومرول و بخش قشری شده است.

کلید واژه ها: بالغ، تخمه کدو، کلیه، کبد، موش صحرایی

نحوه استناد به این مقاله: معتمد جهرمی س. اثر عصاره هیدرو الکلی تخمه کدو تنبل بر میزان متغیرهای کلیوی و کبدی و تغییرات بافتی این دو ارگان در موشهای صحرایی ماده بالغ. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۸۲-۹۱

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

طبیعت، منبعی غنی از ترکیبات دارویی است که بخشی از آنها در گیاهان نهفته اند. به طوری که از هزاران سال پیش این گیاهان کاربرد زیادی به عنوان داروهای سنتی داشته اند. اخیراً در کشورهای در حال توسعه به دلیل اثرهای جانبی داروهای سنتزی، استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماریها و استفاده از آنتی اکسیدانهای طبیعی در کارخانه های مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام می باشد (۱).

تخمه کدو تنبل حاوی ۹۴ گرم آب، ۱/۱ گرم پروتئین، ۰/۱ گرم چربی، ۶/۳ گرم نشاسته، ۲۸ میلی گرم کلسیم، ۳۰ میلی گرم فسفر، ۰/۴ میلی گرم آهن، ۲/۲ میلی گرم پتاسیم، ۴۰۰ واحد ویتامین A، ۰/۰۵ میلی گرم ویتامین B1، ۰/۰۹ میلی گرم ویتامین B2، ۱ میلی گرم ویتامین B3، ۲۲ میلی گرم ویتامین C و همچنین یک منبع خوب روی و اسیدهای چرب غیر اشباع و فیتواسترول ها (β -sitosterol) است. اسیدهای چرب در دانه کدو تنبل شامل اسید پالمیتیک، اسید استریک، اسید اولئیک و اسید لینولئیک می باشد و همچنین دارای پروتئین ها، ویتامین ها، آنتی اکسیدان، کاروتنوئیدها و توکوفرول غنی می باشد. مشخص شده که این ترکیبات بر بافت های بدن اثرات مثبت دارند (۲، ۳). کدو تنبل به مدت طولانی در طب سنتی بسیاری از کشورها، از جمله چین، آرژانتین، هند، مکزیک، برزیل و کره استفاده می شود (۴). کدو تنبل و دانه های آن، یک غذای معروف بومی سرخپوستان آمریکایی است و دارای خواص درمانی و تغذیه ای منحصر به فرد است. دانه کدو تنبل در برخی از غذاهای اروپایی، به طور عمده در بخش های جنوبی، اتریش، مجارستان و اسلونی استفاده می شود. امروزه تولید کنندگان تجاری کدو تنبل، ایالات متحده، مکزیک، هند و چین می باشند (۵).

مطالعه Salimi و همکاران نشان داد که بعلت اثرهای جانبی داروهای شیمیایی، حساسیت افراد زیادی به برخی از این داروها و مقاوم شدن بسیاری از بیماریها در برابر داروهای شیمیایی نظر محققان به استفاده از فرآورده های گیاهی در زمینه های مختلف معطوف شده است (۶). گیاهان دارویی به گروهی از گیاهان گفته می شود که دارای ماده مؤثره است و در درمان اکثر بیماری یا پیشگیری از بروز آنها مورد استفاده قرار می گیرد (۷). دانشمندان در بسیاری از کشورها با شتابی وصف ناپذیر برای شناسایی گیاهان دارویی، خواص و ترکیبات آنها در تلاشند. کشور ما ایران به دلیل تنوع آب و هوایی، مکان مناسبی برای رویش گیاهان دارویی است (۸). همچنین در طب سنتی به عنوان دانشی که از میراث گذشتگان به ما رسیده و مبتنی بر طبیعت است، گیاهان دارویی جایگاه ویژه ای دارند (۷).

از جمله خواص کدو، ادرار آور و برطرف کننده ی یرقان می باشد. کدو حلوایی سینه را نرم می کند و تب بر می باشد. برای درمان کم خوابی مفید است و بافت های بدن را مستحکم می کند و قوای جسمی و روحی را افزایش می دهد. طبیعتی سرد دارد و تسکین دهنده ی صفرا است. آب کدوی خام سرشار از ویتامین های B3، B2، B1 و نیاسین و همچنین دارای مواد معدنی قلیایی، کلسیم و پتاسیم است. ضماد کوبیده ی کدو برای سردرد و درد شقیقه بسیار سودمند است. خوردن روغن کدو برای معالجه ی افسردگی و تشنج بسیار مفید است (۱۰). کدو دارای مقدار زیادی ماده ضد سرطان و آنتی اکسیدان به نام کاروتنوئید می باشد. پوست کدو در درمان بواسیر، خون ریزی معده و روده مفید است (۱۱).

با توجه به تمام موارد فوق تاکنون و کمبود منابع (فقدان یا کمبود تحقیقات انجام شده) اثر مصرف بالای کدو بر پارامترهای بدن مورد مطالعه قرار نگرفته است، لذا هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی تخمه کدو در دوزهای بالا بر بافت کلیه و کبد و آنزیم های کبدی و کلیوی است.

روش کار

این مطالعه از نوع علوم پایه می باشد که به صورت یک مطالعه تجربی و کاربردی با جامعه پژوهش موش های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار انجام گردید. در این مطالعه جهت رسیدن به نتایج به بررسی سطح سرمی ALT، AST، ALP، پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین، اسید اوریک، کراتینین پرداخته و کلیه و کبد آنها نیز برای مطالعات بافت شناسی برداشته شد. رعایت ملاحظات اخلاقی از قبیل مطالعه بر روی نمونه حیوانی به جای نمونه انسانی، مراقبت و رعایت نظافت موشها در طول دو هر مطالعه و بیهوشی سریع و مرگ بدون درد موشهای صحرایی انجام گردید.

در این تحقیق حجم نمونه به روش نمونه گیری آسان انتخاب و با استفاده از جدول اعداد تصادفی موش های نمونه بین گروه ها تقسیم شدند. حیوانات به صورت تجربی و به تعداد ۴۰ سرموش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار در محدوده ی وزنی 10 ± 180 گرم و سن ۶۰ روز به صورت جداگانه و به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه های تجربی ۲، ۳ و ۴ کنترل و شش تقسیم شدند.

موشهای صحرایی از مرکز پرورش خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم تهیه شد و در همین مرکز کارهای عملی انجام گرفت. غذای مصرفی آن ها به صورت آماده تهیه شد که به آن ها Pellet می گویند. از آب لوله کشی شده جهت تأمین آب مصرفی حیوانات استفاده شد. درجه حرارت محیط نگهداری

مراحل انجام شده ۱۶ گرم عصاره خشک به دست آمد و بقیه تفاله بوده است، پس عصاره حاصل به دست آمده ۱۶ درصد است. در نهایت دوز کشنده دارو تعیین گردید و سپس دوزهای حداقل و متوسط و حداکثر تزریق شد (۱۲).

بررسی میکروسکوپی بافت کلیه و کبد:

پس از خونگیری ناحیه شکمی برش زده شد و کبد و کلیه توسط اسکالپل و پنس از بافت های چربی اطراف جدا گردید. کبد و کلیه تمامی حیوانات جدا و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند، سپس هر کدام از آنها وارد یک شیشه حاوی فرمالین ۱۰٪ کرده و برای مدت ۱۴ روز در محلول فرمالین نگهداری شدند. سپس کبد و کلیه ها به صورت جداگانه به آزمایشگاه بافت شناسی بیمارستان شهید مطهری جهرم جهت تهیه لام ارسال می-گردید.

اسلایدهای تهیه شده از بخش های مختلف بافتهای کبد و کلیه به صورت جداگانه امکان مطالعه بافتی را فراهم نمود. در هر اسلاید به ترتیب میزان احتقان و پرخونی عروق، آترزی بافتی، میانگین اندازه لوله های کلیوی و میزان تخریب بافت کبدی (برخی از پارامترهای بافتی کبد شامل از بین رفتن نظم رو به مرکز هپاتوسیت ها، پرخونی، اتساع وریدها، نکروز هپاتوسیت ها، تجمع سلول های کوپفر، ارتشاح سلول های آماسی و تغییرات فضای پورتال) توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰× در ۱۰ میدان دید (مجموعاً ۵۰ میدان دید در هر حیوان) مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. سپس میانگین آنها در هر گروه مشخص و با گروه های دیگر مقایسه گردید (۱۲).

تعیین دوز عصاره تخمه کدو تنبل:

چند غلظت از عصاره کدو تنبل را به صورت تصادفی انتخاب و به ۵ گروه ۸ تایی از موش ها تزریق کردیم. در هر گروهی که نیمی از موشها مرده، دوز مصرفی به عنوان LD50 انتخاب شد که برابر با ۴۰۰mg/kg بود، غلظت های حداکثر، متوسط و حداقل تعیین شد. لازم به ذکر می باشد عصاره تخمه کدو تنبل از مرکز تهیه عصاره دانشگاه پزشکی شیراز تهیه شد. طبق دستور العمل در هر لیتر از عصاره تهیه شده ۴۰۰ میلی گرم عصاره خالص وجود داشت که با توجه به وزن موش ها که حدود ۲۰۰ گرم بودند در تعیین LD50 هر میلی لیتر از این عصاره به ۵ موش تزریق شد.

برای تهیه دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره اولیه با سرم فیزیولوژی به نسبت دو برابر رقیق شد. حال با توجه به وزن موش ها، موش های بالغ (وزن ۲۰۰ گرم) روزانه ۰/۲ سی سی و موش های نابالغ (وزن ۱۰۰ گرم) روزانه ۰/۱ سی سی از این محلول دریافت کردند (۱۲).

۲۳±۲ درجه سانتی گراد و دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ در نظر گرفته شد. قفس های نگهداری حیوانات از جنس پلی کربنات به ابعاد ۲۰×۳۰×۵۰ سانتی متر با سقف مشبک بود. کف قفس ها از خاک اره و تراشه چوب پوشیده شده بود. کف اتاق و تجهیزات موجود در آن توسط ساونل ضد عفونی می شدند و همچنین هر دو روز یکبار قفس ها خالی و تمیز و ضد عفونی می شدند. در طول دوره تیمار حیوانات دسترسی به آب و غذا داشتند و شرایط نگهداری برای تمام حیوانات یکسان بود. گروه های تجربی به ترتیب ۰/۱ میلی لیتر محلول ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره تخمه کدو تنبل و گروه شم ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی و توسط سرنگ انسولین به مدت ۲۱ روز متوالی هر روز ساعت ۱۰ صبح دریافت کردند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد (۱۲).

در انتهای پژوهش (روز ۲۲) پس از توزین حیوانات به طور مستقیم از قلب حیوانات به کمک سرنگ ۵ سی سی (تحت بیهوشی به وسیله دی اتیل اتر) خون گیری انجام شد و سرم آنها توسط دستگاه سانتریفیوژ (به مدت ۱۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه) جمع آوری شدند و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس به منظور سنجش ALT، AST، ALP، پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین، اسید اوریک، کراتینین و نیترژن اوره خون نگهداری گردید.

برای اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمی خون از کیت های اندازه گیری زیست شیمی ساخت ایران و به روش رنگ سنجی و دستگاه اتوآنالایزر مدل Selectera XL ساخت هلند استفاده شد.

تهیه عصاره هیدرو الکلی (۸۰٪) تخمه کدو تنبل به روش زیر انجام شد:

جهت عصاره گیری از روش سوکسله استفاده گردید که ۱۰۰ گرم از دانه های کدو تنبل خشک را به صورت پودر در آورده و در ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ مخلوط کرده و مدت سه روز در هوای آزمایشگاه در دستگاه پرکولاتور نگهداری شد. بعد از سه روز عصاره را به وسیله شیر پایین دستگاه قطره قطره جمع آوری گردید. اتانول ۸۰٪ را به دستگاه اضافه شد تا مادامی که عصاره بدست آمده را بی رنگ نشان دهد و این نشان دهنده آن است که دیگر عصاره ای وجود ندارد و بعد از این مرحله جهت شفاف سازی مخلوط حاصل را از کاغذ صافی عبور دادیم، سپس عصاره بدست آمده را در دستگاه روتاری در درجه حرارت ۴۰°C تبخیر کردیم تا عصاره ای غلیظ به دست آمد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه دسی کاتور تحت خلاء قوی به مدت ۲۴ ساعت قرار دادیم تا رطوبت کاملاً گرفته شده و خشک شد سپس عصاره خشک به دست آمده را وزن کرده و راندمان آن را به دست آوردیم، که برای ۱۰۰g پودر تخمه کدو تنبل بعد از

به گروه کنترل کاهش دهند و گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم میزان ALP را نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داد (جدول ۲).

گروه شاهد و گروهها دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم تغییر معنی داری از نظر غلظت های BUN، کراتنین، UA، نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (جدول ۲).

اثر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو بر میزان متغیر های بافتی کبد و کلیه:

در هیچکدام از گروههای مورد بررسی، عصاره تخمه کدو تنبل بر بافت کبد تغییرات معنی داری را از لحاظ پرخونی کبد، ارتشاح سلولهای آماسی، نکروز هپاتوسیتی، واکوئل شدن سلول، روشن شدن سیتوپلاسم و تغییرات فضای پورتال اعمال نکرد. قطر بخش قشری کلیه و قطر کپسول بومن و قطر گلومرول در گروههای دریافت کننده دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می دهد (جدول ۲ و شکل ۱).

گروه شاهد و گروهها دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم تغییر معنی داری از نظر بخش مرکزی کلیه و قطر لوله دیستال و پروکسیمال و قطر فضای ادراری و قطر لوله هنله نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (جدول ۲).

اثر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو بر میزان سرمی LH و FSH و استروژن و پروژسترون به علت انتخاب موشهای صحرایی بالغ ماده:

در خلال مطالعه حاضر به علت انتخاب نوع موش ماده مطالعه بر روی هورمونهای جنسی ماده شامل بررسی سطح پارامترهای LH، FSH و استروژن و پروژسترون موجود در خون نیز انجام پذیرفت. روش انجام کار شبیه به همان روش خونگیری و آزمایشگاهی پارمترهای کبدی و کلیوی بود و برای مشخص شدن و هم سیکل کردن موش های صحرایی از تمام آنها اسمیر واژنی تهیه شد تا اطمینان حاصل گردد که همگی در یک فاز از سیکل استروس قرار دارند و همچنین غلظت هورمونهای LH و FSH و استروژن و پروژسترون موجود در سرم خون حیوانات با استفاده از کیت های مخصوص هر کدام (شرکت پیشتاز طب) به روش الیزا در آزمایشگاه تشخیص طبی هنری جهرم اندازه گیری شد. نتایج حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری طبق همان روشی که برای تجزیه و تحلیل آماری آنزیم های کبد و کلیه توضیح داده شده است انجام گرفت و در نهایت نتایج گروههای مختلف با گروه شاهد و کنترل مقایسه گردید.

برای تهیه دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن با سرم فیزیولوژی به نسبت دو برابر رقیق شد. حال با توجه به وزن موش ها، موش های بالغ (وزن ۲۰۰ گرم) روزانه ۰/۲ سی سی و موش های نابالغ (وزن ۱۰۰ گرم) روزانه ۰/۱ سی سی از این محلول دریافت کردند (۱۲).

برای تهیه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن با سرم فیزیولوژی به نسبت دو برابر رقیق شد. حال با توجه به وزن موش ها، موش های بالغ (وزن ۲۰۰ گرم) روزانه ۰/۲ سی سی و موش های نابالغ (وزن ۱۰۰ گرم) روزانه ۰/۱ سی سی از این محلول دریافت کردند. (۱۲).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA استفاده شد. محاسبات آماری و ارزیابی نرمال بودن توزیع داده ها توسط نرم افزار SPSS در سطح معنی داری ۵ درصد انجام گردید. معیار ورود، موش های صحرایی ماده بالغ سالم نژاد ویستار و معیار خروج، مرگ حیوان بود.

یافته ها

یافته و نتایج آزمایشگاهی:

اثر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل بر وزن بدن :

با توجه به وزن گیری انجام شده در روز اول و روز آخر و مقایسه بین گروههای شاهد و گروههای دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، بر طبق جدول ۱ چنین می توان نتیجه گرفت که گروه شاهد و گروهها دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم تغییر معنی داری از نظر وزن بدن نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (جدول ۱).

اثر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو بر میزان متغیرهای سرمی کبد و کلیه:

نتایج حاصل با توجه به آزمایشات انجام شده بر میزان متغیرهای سرمی کبد و کلیه و همچنین بافت کلیه و بر طبق جدول ۲ بدین شرح می باشد:

گروه شاهد و گروهها دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییر معنی داری بر میزان غلظت های AST، ALT، آلبومین، Total protein و بیلی روبین نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (جدول ۲).

گروه شاهد تغییر معنی داری از نظر غلظت ALP نسبت به گروه کنترل نشان نداد. گروه دریافت کننده دوز ۲۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم توانستند به صورت غیر معنی دار میزان ALP را نسبت

جدول ۱: میزان متغیر وزنی مورد بررسی در گروه های مختلف

تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل	
۱۶۷/۲۵±۴/۴۸a	۱۷۰/۱۲±۴/۱۰a	۱۶۳/۳۷±۱/۳۸a	۱۶۳/۳۷±۱/۴۵a	۱۶۴/۳۷±۱/۴۰a	وزن روز اول kg
۱۸۷/۸۷±۲/۶۴a	۱۸۳/۲۵±۳/۸۹a	۱۸۵/۰±۵/۶۴a	۱۹۲/۱۲±۱/۵۰a	۱۹۱/۱۲±۱/۵۸a	وزن روز آخر kg

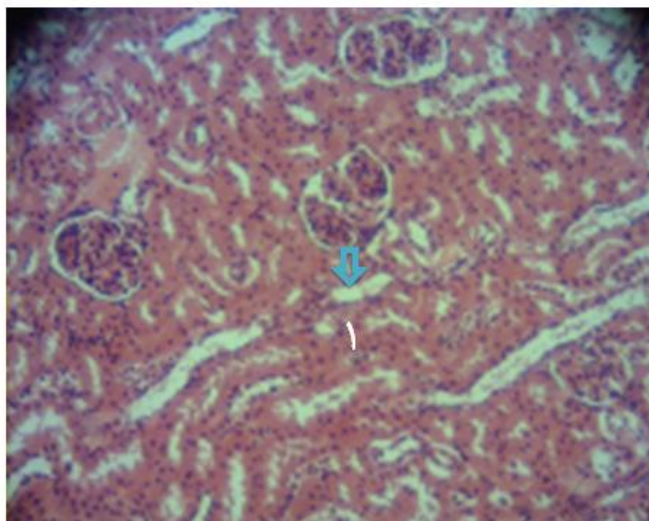
جدول ۲: میزان متغیرهای سرمی کبد و کلیه و بافت کلیه مورد بررسی در گروه های مختلف

• میزان متغیرهای سرمی کبد مورد بررسی در گروه های مختلف

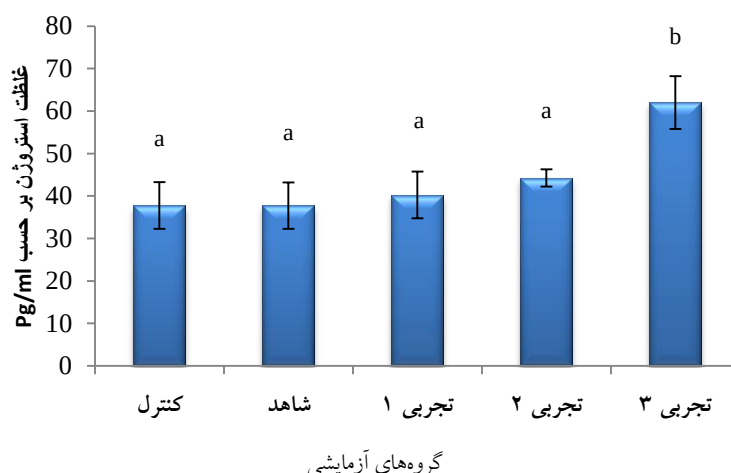
تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل	
۱۶۷±۱۰/۲۲۹ a	۱۷۱/۵±۱۴/۹۷ a	۱۸۳/۵±۱۷/۳۲۴ a	۱۷۵/۵±۱۲/۰۹۶ a	۱۷۵/۵±۱۲/۰۹۶ a	OT(AST) UL
۵۷/۱۲۵±۲/۶۰۱ a	۶۷±۴/۷۱۳ a	۷۳±۸/۵۷۹ a	۶۰±۳/۵۲۱ a	۵۹/۵±۳/۵۲۰ a	PT(ALT) UL
۴۵۹/۶۲۵±۴۸/۸۴۳ a	۵۳۶/۳۷۵±۵۰/۶۹۳ ab	۵۰۱/۷۵±۵۰/۴۴۷ ab	۶۷۰/۷۵±۴۲/۱	۶۶۶/۷۵±۴۲/۰۳۱ b	ALP(UL)
۷/۱۵۰±۱/۱۳۳ a	۷/۷۸۷±۲/۲۳۳ a	۷/۵۶۲±۱/۳۷۷ a	۷/۵±۱/۱ a	۷/۴۶۲±۱/۷۴ a	(Total protein mg /dl)
۳/۹۷±۰/۸۳ a	۳/۹۵±۱/۰۶ a	۳/۹±۰/۶۱ a	۳/۹۷۷±۱/۰ a	۳/۹۸۷±۱/۰۴ a	(Albumin mg /dl)
۰/۹۱±۰/۰۷a	۰/۸۹±۰/۰۶a	۰/۸۸±۰/۰۳a	۰/۸۹±۰/۰۱a	۰/۹±۰a	بیلی روبین (mg /dl)

• میزان متغیرهای سرمی و بافتی کلیه مورد بررسی در گروه های مختلف

تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل	
۲۱/۷۵±۱/۵۲۰ a	۲۱/۶۲۵±۸/۰۰a	۲۱/۱۲۵±۴/۷۹ a	۲۳/۲۴±۹/۰۲ a	۲۴/۲۵±۹/۰۱ a	BUN(mg /dl)
۷۹۲۵±۰/۲۷ a	۷۸۵۰±۰/۳۹ a	۷۹۷۵±۰/۲۱ a	۷۸۲۵±۰/۴۶ a	۷۸۶۲۵±۰/۴۷ a	Creatinin(mg /dl)
۵/۱۳۷±۶/۷۸ a	۷/۶۷۵±۱/۱۹۹ a	۷/۹±۱/۱۵۵ a	۵/۹۹۰±۹/۱۴ a	۵/۹۸۷±۹/۱۱ a	UA(mg /dl)
av۴۷/۳۷±۷۳/۸۴	۷۹۹/۱۲±۶۴/۸۶a	۱۰۰۷/۳۷±۲۵/۸۳b	۱۰۴۸/۱±۱۶/۰۰b	۱۰۴۱/۲۵±۱۶/۳۰b	قطر کورتکس (میلی متر)
۱۸۳۶/۱۲±۱۳۵/۵۳a	۲۰۱۲/۱۲۵±۱۸۸/۸۳a	۲۱۶۶/۰۰±۱۲۹/۰۷a	۲۰۸۰/۵۰±۳۹/۰۰a	۲۰۸۳/۵۰±۳۹/۱۳a	قطر مدولا (میلی متر)
۳۳۹/۴۷±۹/۱۵a	۳۴۳/۷۵±۸/۱۱ab	۳۶۷/۸۳±۹/۶۲bc	۳۸۰/۴۲±۵/۰۰c	۳۸۴/۴۱±۵/۱۵c	قطر گلو مرون (میلی متر)
۴۱۲/۷۷±۱۰/۶۹ab	۴۰۶/۴۲±۸/۵۸a	۴۳۸/۰۸±۱۴/۵۰bc	۴۵۰/۱۲±۱/۵c	۴۴۶/۷۴±۴/۰c	قطر کپسول بومن (میلی متر)
۷۳/۴۲±۵/۷۹a	۶۳/۵۸±۵/۵۵a	۷۱/۲۹±۸/۶۵a	۶۲/۲۰±۷/۷۰a	۶۲/۳۳±۷/۷۵a	قطر فضای ادراری (میلی متر)
۱۷۲/۶۷±۵/۷۷a	۱۶۳/۴۷±۶/۶۳a	۱۷۸/۵۴±۶/۵۹a	۱۸۲/۰۱±۶/۴۹a	۱۸۳/۴۱±۴/۵۶a	قطر لوله پروکسیمال (میلی متر)
۱۶۰/۷۲±۵/۵۲a	۱۶۳/۷۲±۵/۷۵a	۱۷۷/۴۱±۹/۵۶a	۱۸۱/۸۹±۸/۱۸a	۱۸۲/۲۰±۶/۱۴a	قطر لوله دیستال (میلی متر)
۱۲۲/۰۵±۶/۱۵a	۱۱۰/۶۶±۱/۴۵a	۱۲۱/۹۱±۵/۷۶a	۱۴۱/۹۰±۹/۲۰a	۱۴۲/۶۶±۵/۳۱a	قطر لوله هنله (میلی متر)



شکل ۱: کاهش معنی دار قطر بخش قشری کلیه و قطر کپسول بومن و قطر گلو مرون^۱ در گروه های دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نسبت به گروه کنترل (هماتوکسیلین -ئوئوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)



نمودار ۱: مقایسه گروه‌های مورد بررسی از نظر غلظت استروژن بعد از تأثیر عصاره تخمه کدو تنبل در کلیه گروه‌های بالغ ستون‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند اختلاف معنی داری با هم ندارند ($p < 0.05$)

در مصرف کنندگان غذای غنی سازی شده با تخمه کدو تنبل می شود و لیکن در مطالعه‌ی حاضر گروه شاهد و گروه‌ها دریافت کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییر معنی داری از نظر وزن بدن نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (۱۳).

نتایج مطالعه ی Hyounjeong و همکاران نشان داد که کدو تنبل اثر کاهنده قوی چربی در یک رژیم غذایی افراد چاق مدل حیوانی دارد که عمدتاً به دلیل تأثیر آن بر سستز و تخریب محصولات چربی در بدن است و همچنین آن را می توان به عنوان تنظیم کننده متابولیک از مسیرهای ساخت و تجزیه چربی-ها به حساب آورد (۱۴) و همچنین کدو تنبل دارای خواص بالقوه کاهندگی قند خون می باشد و در رژیم غذایی افراد دیابتی کاربرد دارد (۱). حضور اسیدهای چرب غیر اشباع مانند اسیداولئیک و اسیدلینولئیک دردانه کدو تنبل، باعث کاهش سطح کلسترول در موش های صحرایی می شود (۱۵ و ۱۶). با توجه به اینکه کبد عضو بسیار مهم بدن در سوخت و ساز چربی می باشد، در مطالعه حاضر نیز که اثر تخمه کدو بر آنزیم های کبد و کلیه مورد بررسی قرار گرفت، میزان سرمی ALP در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار را نشان داد.

از کل فسفر موجود در بدن ۸۰ درصد آن در استخوانها موجود است و ۲۰ درصد آن در دیگر قسمتهای بدن وجود دارد. از آنجا که ۳۰ میلی گرم فسفر در هر کیلوگرم تخم کدو وجود دارد و فسفر در ابتدای روده جذب می شود، این ماده سریعتر از کلسیم وارد خون شده و ذخایر بدن را تکمیل می کند. میزان متوسط فسفر در خون ۳ تا ۴ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر است. ویتامین D به جذب فسفر همانند کلسیم کمک می کند. لازم به ذکر است که مصرف بیش از اندازه فسفر موجب کاهش جذب کلسیم می شود. زیرا این دو عنصر در ورود به سلولهای روده

نتایج مربوط به بررسی هورمون های جنسی ماده در موش های صحرایی ماده بالغ

نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون FSH در گروه های مختلف بالغ نشان داد که گروه تجربی ۳ نسبت به گروه های تجربی ۱ و ۲ و کنترل افزایش معنی داری دارد. ولی در گروه های دیگر تغییر معنی داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون LH در گروه های مختلف بالغ نشان داد که گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری دارد. ولی در گروه های دیگر تغییر معنی داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون پروژسترون در گروه های مختلف بالغ تغییر معنی داری را نشان نداد. با توجه به تحقیق حاضر می توان گفت که احتمالاً عصاره هیدرو الکلی تخمه کدو دارای اثرات مثبت بر بافت تخمدان و همچنین محور هورمونی هیپوفیز گناد می باشد و باعث تغییرات معنی داری در سطح فولیکول های تخمدان و همچنین هورمون های جنسی ماده نیز می شود.

بحث

اثرهای جانبی داروهای شیمیایی، حساسیت افراد به برخی از این داروها و مقاوم شدن بسیاری از بیماری ها در برابر داروهای شیمیایی باعث می شود که بار دیگر نظر و توجه دانشمندان و محققان به استفاده از فرآورده های گیاهی در زمینه های مختلف معطوف گردد (۶). مطالعه Bataineh و همکاران نشان داد که مصرف تخمه کدو باعث افزایش قابل توجهی در میزان وزن بدن

بنابراین، دانه کدو تنبل که حاوی β -sitosterol است می تواند به حفظ سلامت انسان کمک کند (۲۴). در مطالعه حاضر و بررسی های انجام شده تغییر معنی داری در سطح سرمی AST, ALT, پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین، اسید اوریک، کراتینین نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد.

هورمون های استروژنی، اصلی ترین نقش را در تنظیم رشد، تکوین، هومئوستازی و مرگ سلولی برنامه ریزی شده در تخمدان دارند. به طوری که در زمان یائسگی که همراه با قطع عملکرد تخمدانی و اتمام فولیکولهای تخمدانی است، تولید دوره ای استروژن قطع می شود (۲۵). مطالعاتی که توسط Raicht و همکاران و Awad و همکاران انجام شد نشان داد که تخمه کدو تنبل حاوی فیتواستروژن می باشد که دارای بسیاری از اثرات زیستی از جمله، فعالیت استروژنیک و فعالیت ضد سرطانی است (۲۶ و ۲۷). فیتواستروژن ها دو گروه هستند: ۱- فلاونوئیدها ۲- غیر فلاونوئیدها. فیتو استروژن های مصرفی در غذای انسانی در گروه فلاونوئیدها قرار دارند و شامل ایزوفلاون ها هستند. ایزوفلاون ها استروژن های گیاهی هستند که مشابه هورمون استروژن زنانه به گیرنده استروژنی سلول ها در ارگان های مختلف بدن انسان متصل می شوند (۲۸). با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه ای که توسط Gossell-Williams و همکاران انجام گرفت، تخمه کدو تنبل سرشار از فیتو استروژن است که مصرف آن در زنان یائسه باعث کاهش علائم اصلی یائسگی مانند گرگرفتگی، درد مفاصل (به دلیل عدم وجود فعالیت پاراتورمونی استروژن) و سردرد می شود (۲۹). نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر در گروه موشهای بالغ دریافت کننده دوز حداکثر افزایش معنی دار در میزان هورمون استروژن نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. با توجه به اینکه افزایش میزان LH سبب افزایش تولید آندوژن ها می شود (۳۰) و در تحقیق حاضر میزان LH در گروه تجربی ۳ (گروه حداکثر) بالغ افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل داشته است، افزایش میزان استروژن در این گروه قابل توجیه است. در مطالعه حاضر به علت تغییر بر میزان استروژن، احتمال تأثیر آن بر نتایج و مارکهای مورد مطالعاتی کبد و کلیه وجود دارد که این مورد مطالعات بیشتر را در آینده می طلبد.

نتیجه گیری

عصاره تخمه کدو تنبل توانسته است میزان سرمی ALP در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل را به طور معنی دار کاهش دهد و همچنین بر روی بافت کلیه گروه تجربی ۲ و ۳ باعث کاهش قطر کپسول بومن و گلومرول و بخش قشری شده است.

رقابت می کنند. میزان فسفر در خون، توسط هورمونی به نام پاراتورمون کنترل می شود. در صورتی که مصرف فسفر خیلی بیش از کلسیم باشد مثلاً فرد عادت به خوردن گوشت زیاد و لبنیات کم داشته باشد، حالتی در فرد بوجود می آید که به آن هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه گویند که موجب افزایش گردش املاح در استخوان شده و محتوی کلسیم استخوان را کاهش می دهد. بنابراین عوارض مصرف زیاد فسفر عبارتند از: کاهش تراکم استخوان، کاهش توده استخوانی، شکستگی استخوان و اختلال در رشد. اگر فسفر دریافتی بیش از حد نیاز باشد میزان اضافی آن از ادرار دفع می شود. مقدار نیاز بدن به فسفر روزانه ۷۰۰ تا ۱۲۰۰ میلی گرم در روز است. بنابراین این احتمال وجود دارد که زیادی فسفر در کلیه رسوب کند و باعث اختلال عملکرد کلیه شود (۱۷). با وجود اثر ضد التهابی تخمه کدو در مفاصل بر خلاف دارو ها، سطح چربی های مضر (لیپید پراکسیدها) را در اتصالات مفاصل افزایش نمی دهد و در واقع از پیشرفت آرتروز جلوگیری می کند. تخمه کدو، اگر به عنوان یک میان وعده خورده شود، یک منبع خوب روی و اسیدهای چرب غیر اشباع و فیتواستریولها (β -sitosterol) است که می تواند از بیماری های مزمن جلوگیری کند (۱۹، ۱۸، ۲۰ و ۲۱).

همچنین با توجه به این نکته که در مصرف داروهای گیاهی نیز در این زمانه توسط افراد غیر آگاه، زیاده روی و افراط می شود، علاوه بر این چون تخم کدو دارای مصرف زیادی در جامعه است و همچنین قطره تخم کدو به عنوان درمان پروستات استفاده می شود (۱۷)، این احتمال وجود دارد که مصرف بالای داروهای گیاهی به نوبه خود خطرناک باشد و بر سایر بافتهای بدن تأثیرگذار باشد. مطالعات انجام شده نشان داد که وجود پتاسیم در تخمه کدو تنبل باعث کاهش وقوع سنگ مجاری ادراری اگزالات کلسیم می شود و همچنین تخمه کدو در کاهش خطر بیماری مثانه مؤثر است و همچنین تأثیر تخمه کدو در درمان علائم مجرای ادراری تحتانی و هیپرپلازی خوش خیم پروستات نیز گزارش شده است (۲۲ و ۹). مطالعات نشان داده اند که ۲۸ میلی گرم کلسیم، ۳۰ میلی گرم فسفر در یک گرم تخمه کدو وجود دارد و در مطالعه حاضر تأثیر عصاره تخمه کدو بر بافت کلیه را مورد بررسی قرار داد و نشان داد که قطر کپسول بومن و گلومرول و بخش قشری کلیه در گروه تجربی ۳ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است (۳ و ۲).

کدو تنبل دارای مقدار قابل توجهی از آنتی اکسیدان ها، توکوفرول و کاروتنوئیدها است. بنابراین، کدو تنبل به طور بالقوه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است که ممکن است برای پیشگیری از دیابت و بیماران با آسیب عروقی مفید باشد (۲۳).

β -Sitosterol دارای بسیاری از اثرات زیستی از جمله کاهش کلسترول، فعالیت استروژنی و فعالیت ضد سرطانی است.

قدردانی

از کلیه دست اندرکارانی که در رسیدن به اهداف و نتایج این مقاله نقش داشته اند، تشکر و قدردانی می شود.

ملاحظات اخلاقی

رعایت ملاحظات اخلاقی از قبیل مطالعه بر روی نمونه حیوانی به جای نمونه انسانی، مراقبت و رعایت نظافت موشها در طول مطالعه و بیهوشی سریع و مرگ بدون درد موشهای صحرایی انجام گردید. لازم به ذکر است، مقاله مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جهرم با کد اخلاق jums.REC.1393.071 می باشد.

منافع متقابل

اینجانب به عنوان نویسنده مسئول اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

س. م طراح، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی را خوانده و تأیید کرده است.

References

- Asghari J, Mazaheritehrani M. Extraction of tannin from *Eucalyptus camaldulensis* Dehn and trimyristin from *Myristica fragrans* Houtt by using microwave irradiation. *Iranian J Medicinal and Aromatic Plants* 2010; **26**(2): 185-195. Persian.
- Pretre R, Robert J, Mirescu D. Pathophysiology, recognition and management of pneumoretroperitoneum. *J Surg* 1993; **80**: 1138-1140. doi: 10.1002/bjs.1800800923
- Ripetti V, Caricato M, Arullani A. Rectal perforation, retro pneumoperitoneum, and pneumomediastinum after stapling procedure for prolapsed hemorrhoids: report of a case and subsequent considerations. *J Dis Colon Rectum* 2002; **45**: 268-270. doi: 10.1007/s10350-004-6159-3
- Stevenson D G, Eller F J, Wang L. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *J Agric Food Chem* 2007; **55**: 4005-4013. doi: 10.1021/jf0706979
- Murkovic M, Hillebrand A, Winkler H. Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.). *J Forsch* 1996; **202**: 275-278. doi: 10.1007/BF01206096
- Salimi M, Ebrahimi A, Shojaee Asadieh Z. Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2010; **26**(2): 156-147. Persian.
- Davazdah Emami S. The use of medicinal plants. Tehran. *Agricultural Research Center in Isfahan*, 2003; PP: 113. Persian.
- Kianmehr. Knowledge of medicinal plants. Tehran, Atiz pub. 2012; PP: 224. Persian.
- Farbin S, Davidson P, Shockley L. Perforation of the sigmoid colon by hydrostatic pressure of a public water fountain. *J Emerg Med* 1996; **14**: 703-706. doi: 10.1016/S0736-4679(96)00179-5
- Rad K. *Pharmacies at home*. Sixth edition. Tehran, bridge paplition, 2011; PP: 344 (Persian).
- Q khaoshbin. *Miracle plants*. Fourth edition. Tehran. 2013, PP: 480. (Persian).
- Marianna N, Tzortzis N, Elizabeth F. Antioxidant and lipoxxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *J Food Research International* 2009; **42**: 641-646. doi: 10.1016/j.foodres.2009.02.003
- Bataineh Z M, Hani I H, Al-Alami J R. Zinc in normal and pathological human prostate gland. *J Saudi Med* 2008; **23**(2): 218-220.
- Hyounjeong C, Haekwan E, Kyoungcheol P. A water-soluble extract from *Cucurbita moschata* shows ant obesity effects by controlling lipid metabolism in a high fat diet-induced obesity mouse model. *J BBRC* 2007; **359**: 419-425. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.05.107
- Takada R, Saitoh M, Mori T. Dietary gamma linolenic acid-enriched oil reduces body fat content and induces liver enzyme activities relating to fatty acid beta oxidation in rats. *J Nutr* 1994; **124**: 469-474.
- Gerhard I I, Patek A, Monga B. Mastodynion (R) bei weiblicher Sterilitat. *J Forsch Komplementarmed* 1998; **5**: 272-278. doi: 10.1159/000021154
- <http://www.mahshar.com/nutrition/features/fosfor.htm>
- Sabudak T. Fatty acid composition of seed and leaf oils of pumpkin, walnut, almond, maize, sunflower and melon. *J Chem Nat Compd* 2007; **43**: 465-467. doi: 10.1007/s10600-007-0163-5
- Ryan E, Galvin K, O'Connor T P. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *J Plant Foods Hum Nutr* 2007; **62**: 85-91. doi: 10.1007/s11130-007-0046-8
- Phillips K M, Ruggio D M, Ashraf-Khorassani M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 9436-9445. doi: 10.1021/jf051505h
- Kumar SA, Sudhahar V, Varalakshmi P. Protective role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative in combating oxidative hepatocellular injury in hypercholesterolemic thermogenesis. *J Atherosclerosis* 2006; **189**: 115-122. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.11.037

22. Dreikorn K. The role of phototherapy in treating lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *J World. Urol* 2002; **19**: 426-435. doi: 10.1007/s00345-002-0247-6
23. Yadav M, Jain S, Tomar R. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *J Nutr Res Rev* 2010; **23**: 184-190. doi: 10.1017/S0954422410000107
24. Bradvord PG, Awad AB. Phytosterols as anticancer dietary components. *Molecular Nutr J* 2007; **151**(2): 161-170. doi: 10.1002/mnfr.200600164
25. Quirk P G, patchell V B, Colyer Y. Conformational Effect of serine phosphorylation in phospholamban peptides. *European J Biochemistry* 1996; **236**: 85-91. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.00085.x
26. Awad A B, Fink C S. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 2003; **130**: 2127-2130.
27. Raicht R F, Cohen B I, Fazzini E P. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *J Cancer Res* 2000; **40**: 403-405.
28. Kershaw D R. *Animal diversity*. 2010; 4th ed, London, Chapman and hall. PP: 418. doi: 10.1017/s002555720000677x
29. Gossell-Williams M, Hyde C, Hunter T. Improvement in HDL cholesterol in postmenopausal women supplemented with pumpkin seed oil: pilot study. *J Climacteric* 2011; **14**(5): 558-564.
30. Speroff L, Fritz M. Anovulation and the polycystic ovary. *Journal of Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility* 2012; **7**: 465-498.

Original Article

Assessment of patient safety culture from viewpoint of nurses working in Tabriz Sina educational and treatment center

Zahra Motazedi¹, Ebrahim Mohammadi Beilankohi², Javad Taherinia², Elnaz Asghari³, Mohammad Arshadi Bostanabad², Hossein Alikhah^{4*}

¹Infectious and Tropical Disease Research Center, Sina Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Department of Nursing, Sina Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³PhD Student in Nursing, School of Nursing and Midwifery, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Department of Emergency Medicine, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran

*Corresponding author; E-mail: Alikhah@tbzmed.ac.ir

Received: 21 May 2017 Accepted: 15 February 2018 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):92-99

Abstract

Background: Patient safety has become one of the main concerns of healthcare provider organizations, given that it is one of the basic principles of health care; because the error in the care process can sometimes lead to injury or even death. The present study aimed to investigate the patient safety culture from the viewpoint of nurses working in Sina Tabriz Educational Center in 2017.

Methods: The present descriptive-correlation study with simple random sampling was conducted to assess the nurses' view using a standard and validated questionnaire and HSOPSC (hospital survey on patient safety culture) in 12 dimensions.

Results: The average percentage of positive responses to dimensions of the safety culture was 56.85%. The mean score of "Teamwork within the ward" with the highest score were 82.22% and the average "Transfer and shift in hospital" in the hospital with the lowest score was 28.15%. There was a significant reverse relationship between safety culture and work experience in the hospital ($P < 0.01$, $r = -.480$).

Conclusion: Reporting errors with a non-reciprocal response approach and encouraging self-reporting errors in order to correct processes need for culture is more than ever. Considering the positive impact of hospital management on the development of the dimensions of the safety culture and the removal of barriers to patient safety, it is necessary that the problems associated with each dimension of safety culture are identified and low safety culture dimensions are promoted.

Keyword: Safety Culture, Patient, Nurse, Educational and Treatment Center.

How to cite this article: Motazedi Z, Mohammadi Beilankohi E, Taherinia J, Asghari E, Arshadi Bostanabad M, Alikhah H. [Assessment of Patient Safety Culture from Viewpoint of Nurses working in Tabriz Sina Educational and Treatment Center]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):92-99. Persian.

مقاله پژوهشی

بررسی فرهنگ ایمنی بیمار از دیدگاه پرستاران شاغل در مرکز آموزشی درمانی سینا در تبریز

زهره معتضدی^۱، ابراهیم محمدی بیلانکوهی^۲، جواد طاهری نیا^۳، ال ناز اصغری^۴، محمد ارشدی بستان آباد^۵، حسین علیخواه^{۶*}

^۱ مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، کارشناس ارشد مدیریت خدمات پرستاری، کارشناس هماهنگ کننده ایمنی، مرکز آموزشی درمانی سینا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ گروه پرستاری مرکز آموزشی درمانی سینا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۳ دانشجوی دکترای پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۴ گروه طب اورژانس، دانشکده علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران

* نویسنده مسؤول: ایمیل: alikhah@tbzmed.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۹۲-۹۹

چکیده

زمینه: ایمنی بیمار با توجه به این که یکی از اصول اساسی مراقبت سلامت می باشد، به یکی از بزرگترین نگرانی های سازمان های ارائه دهنده مراقبت های بهداشتی درمانی تبدیل شده است؛ چرا که خطا در فرآیند مراقبت گاهی اوقات می تواند منجر به آسیب و حتی مرگ بیمار شود. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی فرهنگ ایمنی بیمار از دیدگاه پرستاران شاغل در مرکز آموزشی درمانی سینا در تبریز در سال ۱۳۹۶ می پردازد.

روش کار: پژوهش حاضر یک مطالعه توصیفی - همبستگی با شیوه نمونه گیری تصادفی ساده می باشد که با استفاده از پرسشنامه استاندارد و معتبر به بررسی دیدگاه پرستاران با ابزار HSOPSC در ۱۲ بعد پرداخته است. حجم نمونه حداقل ۱۴۵ نفر برآورد شد. آنالیز داده ها با استفاده از ویراست نوزدهم نرم افزار SPSS و آمار توصیفی و استنباطی انجام شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته ها: میانگین کلی درصد پاسخ های مثبت به ابعاد فرهنگ ایمنی ۵۶/۸۵٪ بود. میانگین بعد «وجود کار تیمی در داخل بخش» با ۸۲/۲۲٪ بیشترین امتیاز و میانگین بعد «انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان» با ۲۸/۱۵٪ کمترین نمره را به خود اختصاص داد. بین فرهنگ ایمنی و سابقه کار در بیمارستان ارتباط آماری معکوس و معناداری وجود دارد ($P < 0/01$ $r = 0/480$).

نتیجه گیری: گزارش دهی خطاها با رویکرد پاسخ غیرتنبیهی و تشویق موارد خوداظهاری خطا، نیازمند فرهنگ سازی بیش از پیش می باشد. با عنایت به تاثیر مثبت مدیریت بیمارستان در فرهنگ سازی ابعاد فرهنگ ایمنی و رفع موانع مرتبط با ایمنی بیمار، نیاز است حیطه هایی از ابعاد فرهنگ ایمنی که دارای امتیاز پایین هستند، ارتقا یابند.

کلید واژه ها: فرهنگ ایمنی، بیمار، پرستار، مرکز آموزشی - درمانی

نحوه استناد به این مقاله: معتضدی ز، محمدی بیلانکوهی ا، طاهری نیا ج، اصغری ا، ارشدی بستان آباد م، علیخواه ح. بررسی فرهنگ ایمنی بیمار از دیدگاه پرستاران شاغل در مرکز آموزشی درمانی سینا در تبریز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۹۲-۹۹

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپیروایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

فرهنگ ایمنی بیمار (Patient Safety Culture)، یک چالش جهانی سلامتی و بیانگر نمود عملی درک، نگرش، و باور کارکنان سلامت در رابطه با ایمنی بیمار در طی ارائه مراقبت می‌باشد (۱). ایمنی بیمار یک رشته جدید در عرصه سلامت است که تاکید بر گزارش، تجزیه و تحلیل و پیشگیری از خطاهای پزشکی می‌کند که اغلب منجر به رویدادهای نامطلوب در مراقبت های بهداشتی می‌شود. ایمنی بیمار یکی از اصول اساسی مراقبت سلامت است (۲) و ایمنی یکی از اجزای حیاتی کیفیت مراقبت بهداشتی می‌باشد (۳). سازمانی از فرهنگ ایمنی برخوردار است که ماهیت پرخطر فعالیت‌های سازمان را بپذیرد و شرایطی را ایجاد کند که افراد سازمان آزادانه و بدون ترس از تنبیه، موارد خطا و نزدیک به خطا را گزارش نمایند و در این راستا انتظار می‌رود تمام رده‌های سازمان جهت جستجوی راه حل با هم همکاری نمایند و از طرفی سازمان هم تمایل لازم را جهت هدایت منابع برای رسیدگی به مشکلات ایمنی داشته باشد (۴).

با عنایت به اینکه در سراسر جهان از هر ۱۰ بیمار ۱ نفر تحت تاثیر خطاهای پزشکی قرار می‌گیرد، از این رو سازمان جهانی بهداشت، ایمنی بیمار را به عنوان یک نگرانی آندمیک معرفی کرده (۵) و این موضوع به یکی از بزرگترین نگرانی‌های سازمان‌های ارائه دهنده مراقبت‌های بهداشتی درمانی تبدیل شده است (۶)؛ چرا که خطا در فرآیند مراقبت گاهی اوقات می‌تواند منجر به آسیب و حتی مرگ بیمار شود (۷). نتایج مطالعه بر روی بیش از ۱۴۰۰۰ پرونده پزشکی در استرالیا نشان می‌دهد که ۱۶/۶٪ از بیماران، دچار رویدادهای نامطلوب ناشی از مراقبت‌های پزشکی می‌شوند که از این بین ۷۷/۱٪ رویدادهای نامطلوب منجر به ناتوانی موقت، ۱۳/۷٪ منجر به ناتوانی دائمی و ۴/۹٪ منجر به مرگ بیماران می‌شود (۸) و این در حالی است که بیشترین علت بروز حوادث شغلی در ۵۳٪ بی احتیاطی افراد بوده است (۹).

هیچ مسئله‌ای مانند آسیب رسیدن به بیمار با فلسفه مراقبت-های بهداشتی مغایرت ندارد، اما اقدامات و رویه‌های درمانی همیشه بی خطر نیست و امکان رخداد خطاهای پزشکی و وقایع تهدیدکننده ایمنی بیمار همواره وجود دارد (۱۰). از طرفی افزایش توجه عموم نسبت به موضوع خطاهای پزشکی و ایمنی بیمار، وزارت بهداشت موضوع ایمنی بیمار را در اولویت برنامه‌های خود قرار داده است (۱۱).

به گفته موسسه پزشکی ایالات متحده بزرگترین چالش برای حرکت به سمت نظام سلامت امن‌تر، تغییر فرهنگ به سمتی بود که به جای سرزنش افراد به خاطر اشتباهشان و مدنظر قرار دادن خطا به عنوان نارسایی فردی، موضوع خطای حادث شده با دید سیستمیک بررسی شود تا فرصت‌هایی جهت بهبود سیستم و جلوگیری از آسیب فراهم شود. اینجاست که فرهنگ ایمنی عامل

شکل‌گیری این عملکرد می‌باشد که بسیاری از رفتارهای متخصصان مراقبت بهداشتی را در این مسیر که ایمنی بیمار را سرلوحه یکی از بالاترین اولویت‌های خودشان مدنظر قرار دهند، هدایت می‌کند (۱۲). قبل از اینکه مراکز درمانی بتوانند به انجام وظایف خود بیندیشند باید سطوح ایمنی و امنیت خود را بررسی و در جهت بهبود و ارتقاء آن تلاش نمایند (۱۳). با توجه به اینکه نحوه ارائه خدمات پرستاری از سوی یک پرستار بازتابی از هویت فرهنگی پرستار است که بر روی عملکرد حرفه‌ای او در ارائه خدمات تاثیر می‌گذارد، لذا تلاش پرستاران در جهت افزایش پتانسیل فرهنگ ایمنی بالا در مراقبت منجر به بهبود پیامدهای بیمار خواهد شد (۱۴).

مطالعات نشان داده‌اند که بین فرهنگ ایمنی و کاهش رویدادهای نامطلوب، خطاهای دارویی، طول مدت بستری در بیمارستان، پذیرش مجدد و مرگ و میر ارتباط وجود دارد و از طرفی ارتقاء فرهنگ ایمنی بیمار منجر به بهبود پیامدهای بیمار و عملکرد بیمارستان می‌شود (۱۵). پرستاران به دلیل نقش حیاتی در امر مراقبت بیماران در یک موقعیت منحصر به فرد جهت ارتقاء ایمنی بیماران قرار دارند و این موقعیت بینش مورد نیاز جهت شناسایی و رسیدگی به خطاها را به پرستاران می‌دهد (۱۶). کاهش چشمگیر خطاها زمانی امکان پذیر است که پرستاران علل خطاها را درک نموده، آن‌ها را تشخیص دهند و بر مداخلات مبتنی بر شواهد و بهبود استراتژی‌ها تکیه کنند (۱۷).

با توجه به اینکه ساختارهای بیمارستانی و خط مشی‌های سازمانی می‌تواند در بروز خطاها نقش بازدارنده یا تسهیل کننده ایفا نمایند و با عنایت به جایگاه ویژه بیمار و موضوع فرهنگ ایمنی محوری در سیستم‌های بهداشتی (۱۸)، مطالعه پیش رو به بررسی ارتباط بین فرهنگ ایمنی با عملکرد ایمن پرستاران در مرکز آموزشی درمانی سینا تبریز در سال ۱۳۹۶ می‌پردازد.

روش کار

پژوهش حاضر مطالعه توصیفی-همبستگی بوده و جامعه پژوهش پرستاران شاغل در مرکز آموزشی درمانی سینا می‌باشد. روش نمونه‌گیری به شیوه تصادفی ساده از روی لیست نهایی پرستاران در مرکز بوده و پژوهشگر در شیفت‌های صبح، عصر و شب به مرکز مراجعه نموده و پس از توضیح هدف از مطالعه و اخذ رضایت آگاهانه، پرسشنامه را به تمام نمونه‌هایی که حاضر به شرکت در مطالعه بودند جهت تکمیل ارائه نموده است. برای تعیین حجم نمونه، لبه خطا (margin of error) برابر ۵ درصد، فاصله اطمینان برابر ۹۵٪ و گستره پاسخ (the response distribution) برابر ۸۰٪ در نظر گرفته شد. بر اساس این معیارها حجم نمونه حداقل ۱۴۵ نفر در نظر گرفته شد. داشتن حداقل ۶

های بالینی مرکز ۵۶/۸۵٪ بوده و متوسط به بالا گزارش می شود. در بررسی و تحلیل ابعاد فرهنگ ایمنی بر اساس سوالات پرسشنامه ۱۰ بعد کلی انتظارات و اعمال مدیر یا سرپرست در خصوص ارتقاء ایمنی، یادگیری سازمانی، کار تیمی در داخل بخش، انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان، انتقادات و پیشنهادات و ارتباط باز در مورد خطا، ارتباطات صریح و روشن، کار تیمی بین واحدهای بیمارستان، پشتیبانی مدیریت بیمارستان از ایمنی موجود، کارکنان و مسائل کاری مربوط به آن‌ها و پاسخ غیرتنبیهی به خطا مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین درصد پاسخ های مثبت به ترتیب مربوط به وجود کار تیمی در داخل بخش با ۸۲/۲۲٪، یادگیری سازمانی با ۷۹/۴۳٪ و انتقادات، پیشنهادات و ارتباط باز در مورد خطا با ۷۱/۶۳٪ بود. میانگین گویه های بعد انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان با ۲۸/۱۵٪ کمترین نمره را به خود اختصاص داد. آزمون های تحلیل فوق نشان دادند بین فرهنگ ایمنی و سابقه کار در بیمارستان ارتباط آماری معکوس و معناداری وجود دارد ($P < 0.01$, $r = -0.480$).

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی فرهنگ ایمنی بیمار از دیدگاه پرستاران شاغل در مرکز آموزشی درمانی سینا در تبریز در سال ۱۳۹۶ انجام شد و نشان داد که میانگین سطوح ابعاد فرهنگ ایمنی در بخش های بالینی مرکز، متوسط به بالا گزارش می شود. همچنین در بررسی و تحلیل ابعاد فرهنگ ایمنی بر اساس سوالات پرسشنامه ۱۰ بعد کلی انتظارات و اعمال مدیر یا سرپرست در خصوص ارتقاء ایمنی، یادگیری سازمانی، کار تیمی در داخل بخش، انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان، انتقادات و پیشنهادات و ارتباط باز در مورد خطا، ارتباطات صریح و روشن، کار تیمی بین واحدهای بیمارستان، پشتیبانی مدیریت بیمارستان از ایمنی موجود، کارکنان و مسائل کاری مربوط به آن‌ها و پاسخ غیرتنبیهی به خطا مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین گویه های بعد انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان کمترین نمره را به خود اختصاص داد. تعهد مدیران به مسائل مرتبط با ایمنی بیمار یک امر حیاتی برای داشتن فرهنگ ایمنی بهینه در داخل سازمان است (۱۹). مدیران می توانند تعهد خود نسبت به ایمنی بیمار را با کنترل عملکرد پرستاران و مشارکت دادن آن‌ها در امر تصمیم گیری در مورد امور مربوط به ایمنی بیمار نشان دهند (۲۰). مدیریت بیمارستان می تواند جوی ایجاد کند که پرستاران در شناسایی مشکلات ایمنی بیمار، اولویت بندی مسائل ایمنی بخش و حل مشکلات عملیاتی که پتانسیل به خطر انداختن ایمنی بیمار را دارد، مشارکت کنند (۲۰). در این مطالعه وجود کار تیمی در داخل بخش با ۸۲/۲۲٪ بیشترین امتیاز ابعاد ایمنی را به خود اختصاص داده است. در این مطالعه پرستاران بر این باورند که هماهنگی خوبی داخل واحدهای بیمارستان وجود دارد و هماهنگی و مبادله اطلاعات درون بخش های بیمارستان به خوبی صورت می گیرد.

ماه سابقه کاری بعنوان معیار ورود در نظر گرفته شد و عدم پاسخ به کمتر از نیمی از گویه های پرسشنامه و یک بخش از کل بخش های پرسشنامه و همچنین پاسخ یکسان به تمام سوالات بعنوان معیارهای خروج در نظر گرفته شد. ابزار مورد استفاده پرسشنامه روا و پایایی استاندارد ارزیابی بیمارستان از نظر فرهنگ ایمنی بیمار (HSOPSC) است که در سال ۲۰۰۴ توسط مرکز پژوهش و کیفیت خدمات سلامت آمریکا طراحی شده است تا دیدگاه کارکنان را در رابطه با بخش، مدیریت، ارتباطات، رویدادهای گزارش شده، درجه ایمنی بیمار، تسهیلات و... بررسی کند (۳). پایایی پرسشنامه، بعد از انسجام درونی روی ۵۰ نفر با آلفا کرونباخ ۰/۷۹ تأیید شد. پرسشنامه حاوی ۴۲ سوال در ۷ بخش بوده و ۱۲ بعد مختلف ایمنی بیمار را مورد سنجش قرار می دهد. در این ابزار ۵ گزینه ای لیکرت ده بعد کلی فرهنگ ایمنی بیمار از جمله انتظارات و اقدامات سرپرست در خصوص ارتقاء ایمنی بیمار و بهبود مستمر (۴ گویه)، یادگیری سازمانی (۳ گویه)، کار تیمی در داخل بخش (۴ گویه)، ارتباطات صریح و روشن (۳ گویه)، آگاه کردن کارکنان از بروز خطاها و دادن بازخورد در این خصوص (۳ گویه)، پاسخ غیرتنبیهی به اشتباهات (۳ گویه)، کارکنان و مسائل کاری مربوط به آن‌ها (۴ گویه)، پشتیبانی مدیریت بیمارستان از ایمنی بیمار (۳ گویه)، کار تیمی بین واحدهای بیمارستان، انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان (۴ گویه) و نیز دو بعد پیامدهای وجود فرهنگ ایمنی بیمار از جمله فراوانی گزارش خطاها و اشتباهات (۳ گویه) و درک کلی از ایمنی (۴ گویه) را مورد سنجش قرار می دهد. همچنین این پرسشنامه در بردارنده دو سوال بوده که یکی در مورد اینکه مشارکت کنندگان چه نمره ای را برای ایمنی بیمار در بیمارستان در نظر گرفته اند و دیگری تعداد خطاهای گزارش شده در طی ۱۲ ماه گذشته می باشد. آنالیز داده ها با استفاده از SPSS ver19 و آمار توصیفی (فراوانی، درصد، میانگین و انحراف معیار) و استنباطی (همبستگی و test-t) انجام شد. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار می باشد.

یافته ها

از کل ۱۴۵ پرسشنامه توزیع شده، ۱۲۸ پرسشنامه (۸۵/۳۳٪) قابل تجزیه و تحلیل بود. میانگین سنی نمونه ها 30.96 ± 6.09 سال بود و اکثر نمونه های مورد پژوهش در ارتباط مستقیم با بیمار کار می کردند (۱۱۷ نفر، ۵۶/۵٪). سایر مشخصات نمونه ها در جدول ۱ خلاصه شده است. در مطالعه حاضر ۸۲٪ پرستاران مونث و ۱۷/۶٪ متاهل بودند. محدوده سنی افراد بین ۲۳ تا ۵۰ سال بود. ۹۳/۸٪ مدرک کارشناس پرستاری داشتند. ۴۴/۵٪ شیفت موظفی با حداکثر ۸۰ ساعت اضافه کاری در ماه را داشتند. ۱۱۷ نفر (۵۶/۵٪) در پست سازمانی خود بصورت مستقیم با بیماران در تماس بودند. مطالعه موجود نشان داد که میانگین سطوح ابعاد فرهنگ ایمنی در بخش

جدول ۱: توزیع فراوانی و درصدی مشخصات کمی جمعیت شناختی مشارکت کنندگان در پژوهش

متغیرهای کمی و کیفی ویژگی‌های فردی - اجتماعی	فراوانی	درصد
بخش	بخش ویژه	۳۲/۸
	سوختگی	۵/۵
	داخلی	۹/۴
	جراحی، ترمیمی، ارولوژی، گوش و حلق و بینی	۲۲/۷
	اورژانس	۱۳/۳
	پوست و عفونی، اتاق عمل، آندوسکوپی	۱۰/۲
	دیالیز	۲/۳
	موارد از دست رفته (missing)	۳/۹
	.	۴۷/۷
	۲-۱	۳۱/۳
تعداد حوادث گزارش شده در ۱۲ ماه گذشته	۵-۳	۷
	۱۰-۶	۴/۷
	۲۰-۱۱	۰/۸
	موارد از دست رفته	۸/۶
	کمتر از ۱ سال	۱۵/۶
	۵-۱	۳۵/۹
	۱۰-۶	۲۶/۶
	۱۵-۱۱	۱۰/۲
	۲۰-۱۵	۶/۳
	۲۱ و +	۳/۱
سابقه کار در این بیمارستان	موارد از دست رفته	۲/۳
	کمتر از ۱ سال	۳۹/۱
	۵-۱	۳۸/۳
	۱۰-۶	۱۴/۸
	۱۵-۱۱	۳/۹
	۲۰-۱۵	۲/۳
	۲۱ و +	۰/۸
	موارد از دست رفته	۰/۸
	نیمه وقت	۰/۸
	شیفت موظفی	۲۱/۱
شیفت موظفی	موظفی با حداکثر ۸۰ ساعت	۴۴/۵
	موظفی با حداکثر ۱۷۵ ساعت	۱۴/۱
	موظفی بیش از ۱۷۵ ساعت	۱۳/۳
	موارد از دست رفته	۶/۳
	دیلم بیماری	۲/۳
	کارشناس پرستاری	۹۳/۸
	کارشناس ارشد پرستاری	۲/۳
	موارد از دست رفته	۱/۶
	کمتر از ۱ سال	۱۳/۳
	۵-۱	۲۹/۷
سابقه کار	۱۰-۶	۲۸/۹
	۱۵-۱۱	۱۶/۴
	۲۰-۱۵	۳/۱
	۲۱ و +	۴/۷
	موارد از دست رفته	۳/۹
	مذکر	۱۲/۵
	مونث	۸۲
	موارد از دست رفته	۵/۵
	متاهل	۶۱/۷
	مجرد	۳۰/۵
وضعیت تاهل	موارد از دست رفته	۷/۸

جدول ۲: ارتباط بین فرهنگ ایمنی با مشخصات زمینه‌ای

متغیرهای زمینه‌ای	میانگین	انحراف معیار	درجه آزادی (DF)	P-value
جنسیت	مذکر	۱۴۸/۱۸	۱۳/۹۹	۰/۴
	مونث	۱۵۲/۸۰	۱۶/۸۹	
تاهل	متاهل	۱۴۹/۳۷	۱۹/۹۴	۰/۴۷
	مجرد	۱۵۲/۹۵	۱۴/۰۷	
کار مستقیم یا بیمار	بلی	۱۵۱/۰۳	۱۷/۹۲	۰/۶۹
	خیر	۱۴۴	۰	
سابقه کار بعنوان پرستار یا بهیار	کمتر از ۱ سال	۱۴۲/۴۴	۳۲/۵۸	۰/۴۳
	۵-۱	۱۵۴/۱۶	۱۲/۳۶	
	۱۰-۶	۱۵۵/۱۱	۱۳/۹۰	
	۱۵-۱۱	۱۴۷/۵۰	۱۵/۲۷	
	۲۰-۱۵	۱۴۰/۵۰	۱۳/۴۳	
	۲۱ و +	۱۵۱/۳۳	۱۳/۲۰	
مدرک تحصیلی	دیپلم بهیاری	۱۵۲/۶۶	۲/۵۱	۰/۵۲
	کارشناس پرستاری	۱۵۱/۰۱	۱۷/۹۹	
	کارشناس ارشد پرستاری	۱۳۱	.	
شیفت موظفی	نیمه وقت	۱۳۱	.	۰/۱۳
	شیفت موظفی	۱۴۳/۰۶	۲۳/۴۴	
	موظفی با حداکثر ۸۰ ساعت	۱۵۴/۱۳	۱۵/۳۵	
	موظفی با حداکثر ۱۷۵ ساعت	۱۴۶	۹/۱۱	
	موظفی بیش از ۱۷۵ ساعت	۱۵۶/۷۵	۸/۱۸	
سابقه کار در این بخش	کمتر از ۱ سال	۱۵۴/۶۶	۱۰/۶۶	۰/۵۰
	۵-۱	۱۵۰/۱۴	۲۲/۹۰	
	۱۰-۶	۱۴۳/۳۳	۱۳/۹۷	
	۱۵-۱۱	۱۳۸	.	
	۲۰-۱۵	۱۵۴	.	
سابقه کار در این بیمارستان	کمتر از ۱ سال	۱۵۷/۳۶	۱۵/۶۶	<۰/۰۵*
	۵-۱	۱۵۷/۶۰	۱۴/۲۹	
	۱۰-۶	۱۴۹/۱۷	۱۲/۳۳	
	۱۵-۱۱	۱۴۳/۸۷	۱۰/۶۶	
	۲۰-۱۵	۱۱۷/۲۵	۳۱/۳۴	
	۲۱ و +	۱۵۴/۵۰	۰/۷۰	
بخش	بخش ویژه	۱۴۸/۰۹	۲۰/۸۰	۰/۴۸
	سوختگی	۱۴۵/۵۰	۱۹/۰۹	
	داخلی	۱۵۰/۵۵	۸/۰۹	
	جراحی	۱۵۳/۸۴	۱۵/۱۵	
	اورژانس	۱۴۱/۸۷	۱۹/۳۹	
	عفونی	۱۵۹/۵۰	۱۰/۵۹	
	دیالیز	۱۶۳	۲۱/۶۳	
تعداد حوادث گزارش شده در ۱۲ ماه گذشته	۰	۱۵۲/۱۱	۱۲/۸۲	۰/۵۸
	۱-۲	۱۴۹/۹۱	۲۲/۹۴	
	۳-۵	۱۵۳/۸۰	۱۴/۴۲	
	۶-۱۰	۱۳۹/۶۰	۶/۹۸	
	۱۱-۲۰	۱۳۸	.	

بایستی هماهنگی خوبی بین واحدهای بیمارستان به وجود آید و هماهنگی و مبادله اطلاعات با سایر واحدهای بیمارستان به خوبی صورت گیرد. لذا نیاز است که موانع مربوطه شناسایی شده و مرتفع گردد. بین فرهنگ ایمنی و سابقه کار در بیمارستان ارتباط آماری معکوس و معناداری وجود دارد ($P < 0.01$, $r = -0.48$). وضعیت ایمنی بخش در نظرسنجی از پرستاران به ترتیب ۱۵/۶٪ نمره عالی، ۲۱/۱٪ بسیار خوب، ۴۶/۱٪ قابل قبول و ۳/۹٪ ضعیف گزارش شده است.

نتیجه گیری

با عنایت به این موضوع که فقط حدود ۵۰٪ از پرستاران در فرآیند گزارش دهی خطاها مشارکت داشته اند، لزوم فرهنگ سازی هرچه بیشتر و اصلاح فرآیندهای معیوب بیش از پیش مورد تاکید بوده تا با اشتراک گذاری خطاها و درس از آموخته ها بتوان از بروز خطاهای مشابه پیشگیری نمود. همچنین با توجه به تاثیر مثبت مدیریت در پیشبرد فرهنگ ایمنی، نیاز است ابعادی از فرهنگ ایمنی که امتیاز پایین تری را داشتند، ارتقاء یابند.

پیشنهادهای

با توجه به آموزشی بودن مرکز توصیه می شود ارائه مطالب آموزشی در رابطه با ایمنی بیماران به دستیاران و پرسنل جدید ورود در اولویت بیشتری قرار گیرد. همچنین با توجه به ایمنی محور بودن سنجه های اعتباربخشی بیمارستان ها نیاز به مطالعه جامع در کل بیمارستان های سطح استان در راستای شناسایی ابعاد قابل ارتقاء فرهنگ ایمنی و در ادامه تدوین اقدامات اصلاحی و برنامه های بهبود کیفیت در سطوح معاونت درمان دانشگاه است.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در بین همکاران بیمارستانی انجام شده و تمام ملاحظات اخلاقی در آن رعایت شده است.

منابع مالی

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز و بعنوان طرح شماره ۹۱-۱۵ اجرا گردیده است.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می دارند که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

ز. م. ا. م. ب. و همکاران، همگی طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده اند.

در مطالعه حاضر یادگیری سازمانی با ۷۹/۴۳٪ رتبه دوم را در امتیازبندی ابعاد فرهنگ ایمنی به خود اختصاص داده است. در مطالعه مشابهی نیز این بعد ۷۱٪ گزارش شده است. سازمانی که گزارش دهی را ترویج می کند، یادگیری سازمانی را تشویق می کند و ایمنی بیمار را بهبود می بخشد، در این سازمان افراد با درس گرفتن از خطاها و اشتباهات است که می تواند دانش را در درون خود مدیریت کنند و مکانیسم یادگیری سازمانی را خلق نمایند. جهت ارتقاء فرهنگ ایمنی بیمار، آموزش مداوم کارکنان از اساسی ترین راهکارهای موجود می باشد که باید به صورت مداوم برنامه ریزی و اجرا گردد (۱).

انتقادات، پیشنهادات و ارتباط باز در مورد خطا با ۷۱/۶۳٪ رتبه سوم ابعاد فرهنگ ایمنی را به خود اختصاص داده است و این موضوع نشان می دهد که افراد قادرند خطاها را بدون ترس و سرزنش و آزادانه گزارش نمایند. این درحالی است که بالای ۵۰٪ افراد در ۶ ماهه اول سال ۹۶ گزارش خطای پزشکی داشته اند. سرزنش کردن افراد منجر به از دست رفتن فرصت های یادگیری از خطا، آموزش بهتر ارائه دهندگان مراقبت در رابطه با نحوه عملکردشان و هوشیاری نسبت به موقعیت هایی که احتمال خطا بالاست، می شود؛ از طرفی مانع بهبود سیستم و فرآیندهای با کارآمد در راستای جلوگیری از ارتکاب به خطاهای مشابه در آینده خواهد شد (۲۱). همچنین، ترس از تنبیه و سرزنش به دلیل ارتکاب به خطا منجر خواهد شد که کارکنان نتوانند آزادانه در رابطه با مسائلی که ایمنی بیمار را به طور منفی تحت الشعاع قرار می دهد، صحبت کنند. از طرفی اگر در رابطه با خطاهایی که در بخش رخ می دهد اطلاع رسانی صورت نگیرد، کارکنان نخواهند توانست در رابطه با نحوه جلوگیری از بروز مجدد همان خطا بحث و تبادل نظر کرده و راهکارهایی ارائه دهند. مدیریت بیمارستان در ایجاد فرهنگ ایمنی مثبت نقش حیاتی داشته و با اشتراک گذاری خطاها و شناسایی علل ریشه ای خطا مانع از بروز آن در آینده خواهد شد (۲۲).

حائز اهمیت است که در مطالعات انجام یافته (۲۳) موضوع فراوانی گزارش خطا و پاسخ غیرتنبیهی جزء ابعاد نیازمند توجه بیشتر در مقوله فرهنگ ایمنی بیمار بوده و کمترین امتیاز را به خود اختصاص داده است. در مطالعه Soma و همکاران در مقایسه پایگاه داده های HSOPSC سال ۲۰۱۲، بعد پاسخ غیرتنبیهی به خطا با ۴۴٪ امتیاز جزء رده ای بوده که بیمارستان ها در این بعد کمترین امتیاز را به خود اختصاص داده بودند و این در حالی است که این بعد امتیاز ۵۲/۹٪ را در مطالعه حاضر به خود اختصاص داده است و نشان دهنده ایجاد و ارتقاء فرهنگ گزارش دهی خطاها بدون ترس و تنبیه بوده و امید است علیرغم نبود نگرش فردی مدیریت به خطاها با ارائه پاداش به پرسنل در برابر خطاهای گزارش شده به مرور زمان این بعد ارتقاء یابد. پاسخ غیرتنبیهی به خطا جزء ابعادی است که در ایجاد فرهنگ ایمنی نقش به سزایی دارد. قابل ذکر است در مطالعات انجام یافته (۲۴) این بعد ضعیف ترین بعد بوده و در مطالعه صلواتی (۲۵) بالاترین نمره را داشت. با عنایت به این که میانگین گویه های بعد انتقال و تعویض شیفت در بیمارستان با ۲۸/۱۵٪ کمترین نمره را به خود اختصاص داده که با مطالعه رضایور منطبق است (۲۲). پرستاران بر این باورند که

References

- Patel S, Wu AW. Safety culture in Indian hospitals: a cultural adaptation of the safety attitudes questionnaire. *J Patient Saf* 2016; **12**(2): 75-81. doi: 10.1097/PTS.0000000000000085
- Chwendimann R. Patient fall: a key issue in patient safety in hospitals. University of Basel. 2006.
- Sorra J, Nieva V F. Hospital survey on patient safety culture: Agency for Healthcare Research and Quality; (Prepared by Westat, under Contract No. 290-96-0004). AHRQ Pub. No. 04-0041. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality; 2004. doi: 10.1037/e504032006-001
- Poley M J, van der Starre C, van den Bos A, van Dijk M, Tibboel D. Patient safety culture in a Dutch pediatric surgical intensive care unit: an evaluation using the Safety Attitudes Questionnaire. *Pediatric Critical Care Medicine* 2011; **12**(6): e310- e316. doi.: 10.1097/pcc.0b013e318220afca
- Ekram M. El-Shabrawy, Manal M. Anwar, Zahra'a Mohammed Mostafa. Assessment of Patient Safety Culture among Health Care Workers in Beni-Suef University Hospital, Egypt. *EJCM*. 2017; **35**(3). doi: 10.21608/ejcm.2017.4089.
- El-Jardali F, Jaafar M, Dimassi H, Jamal D, Hamdan R. The current state of patient safety culture in Lebanese hospitals: a study at baseline. *Int J Qual Health Care*. 2010;22(5):386-95. doi: 10.1093/intqhc/mzq047
- World Alliance for Patient Safety. Forward Programme. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. October 2004.ISBN 92 4 159244 3 (NLM classification 84.7). doi: 10.1136/jech.57.12.994-a
- Wilson RM, Runciman WB, Gibberd RW, Harrison BT, Newby L, Hamilton JD. The Quality in Australian Health Care Study. *Med J Aust*. 1995; 163(9):458-71. doi: 10.5694/j.1326-5377.1995.tb124691.x
- Nadoushan RJ, Helwani G, Nadoushan ZS, Ebrahimzadeh M. Investigation of events associated with the textile workers safety culture in the city of Yazd. 2011. [Persian].
- Sadoughi F, Ahmadi M, Moghaddasi H, Sheikhtaheri A . Patient Safety Information System: Purpose, Structure and Functions .J Mazand Univ Med Sci 2011; **21**(85): 174-188. [Persian].
- Shamsadini Lori A, Osta A, Atashbahar O, Ramazani S, PourAhmadi M, Ahmadi Kashkoli S. Patient Safety Culture from the Viewpoint of Nurses of Teaching Hospitals Affiliated with Shahid Beheshti University of Medical Sciences. *Journal of Health Based Research*. 2016; **2**(1): 81-92. [Persian].
- Nieva V, Sorra J. Safety culture assessment: a tool for improving patient safety in healthcare organizations. *Quality and Safety in Health Care*. 2003;12(suppl 2):ii17-ii23. doi: 10.1136/qhc.12.suppl_2.ii17
- Fathi M. Survey of Safety in Hospitals Affiliated to Kurdistan University Medical of sciences. 2002; **7**(26). [Persian] doi: 10.5455/msm.2014.26.116-118
- Cultural safety in nursing education and practice in Aotearoa New Zealand: a thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for Doctor of Philosophy, Massey University. 2010. doi: 10.26686/nzaroe.v0i3.1075
- Does improving safety culture affect patient outcomes? The Health Foundation; 2011. Available at: www.health.org.uk .
- Friesen MA, Farquhar MB, Hughes R. The nurse's role in promoting a culture of patient safety: Center for American Nurses; 2005. Available at: <http://ana.nursingworld.org/mods/archive/mod780/role.pdf>
- Verklan MT, Walden M. Core curriculum for neonatal intensive care nursing; Saunders; 2010.
- Singer S, Lin S, Falwell A, Gaba D, Baker L. Relationship of Safety Climate and Safety Performance in Hospitals. *Health Services Research*. 2009; **44**(2p1): 399-421. doi: 10.1111/j.1475-6773.2008.00918.x
- Ransom SB, Joshi M, Nash DB. The Healthcare Quality Book: Vision, Strategy, and Tools: Health Administration Press; 2005.
- Hughes LC, Chang Y, Mark BA. Quality and strength of patient safety climate on medical-surgical units. *Health Care Management Review*. 2009;34(1):19-28. doi: 10.1097/01.hmr.0000342976.07179.3a
- Rideout D. Just culture encourages error reporting, improves patient safety. *OR manager*. 2013; **29**(7):13-15.
- Kargari Rezapour M. The relationship between patient safety culture with nurses safe performance in neonatal intensive care units of Tabriz. Department of Nursing and Midwifery. Tabriz University Medical of sciences. Dissertation of MSc. 2015.N 399 doi: 10.18869/acadpub.jnms.3.1.28
- Bodur S, Filiz E. Validity and reliability of Turkish version of. *BMC health services research*. 2010;10(1):28. doi: 10.1186/1472-6963-10-28
- Bahrami MA, Chalak M, Montazeralfaraj R, Tafti AD. Iranian Nurses' Perception of Patient Safety Culture. 2014. (Persian) doi: 10.5812/ircmj.11894
- Salavati S, Fanoosi T, Dehghan D, Tabesh H. Nurses' Perspectives on Patient Safety Culture. *Iran Journal of Nursing*. 2013;26(84):24-33. (Persian)

Original Article

Molecular identification of Mutations causing resistance to tetracycline in mycoplasma isolated from patients with multiple sclerosis (Ms) in Kerman province

Maryam Naghib, Ramezan Mohebbi, Babak Kheirkhah*

Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

*Corresponding author; E-mail: babakkheirkhah@yahoo.com

Received: 21 May 2017 Accepted: 15 February 2018 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):100-107

Abstract

Background: Bacterial infections on the initiation or escalation, play a role in MS, and reports of the involvement of mycoplasma with worldwide distribution in these patients. Mycoplasma with the host cell membrane to mimic the autoimmune attack and the other macrolide antibiotics have become resistant to the first treatment. The purpose of this research was to identify mutations causing resistance to tetracycline in mycoplasmas isolated from patients with MS Kerman province.

Methods: A total of 32 samples of cerebrospinal fluid and 48 samples of urine results in a non-random sampling of patients with MS prepared and enrich one night in PPLO broth, were gathered during a 7 weeks of continuous cultivation in PPLO broth and agar. DNA was extracted from positive examples to identify the type of bacteria (Nested-PCR) and was used tetracycline resistant (rrs3 and rrs4) of 16SrRNA the method (Duplex-PCR), as well as was performed nucleotide sequencing and phylogenetic tree.

Results: Growth was observed in 12 cases, but after (Nested-PCR), only 5 samples were detected (1 sample of cerebrospinal fluid and urine samples 4) mycoplasma. But In (Duplex-PCR), to show only urine samples, alleles.

Conclusion: The phylogenetic was found to have mutated alleles at different points, but for a definitive answer to the resistance to tetracycline, additional research is required. Based on the findings, have mutated alleles has the potential to tetracycline resistance.

Keyword: Mycoplasma, MS, Antibiotic resistance, Tetracycline, rrs3 alleles and rrs4.

How to cite this article: Naghib M, Mohebbi R, Kheirkhah B. [Molecular identification of mutations causing resistance to tetracycline in Mycoplasma isolated from patients with Multiple sclerosis (MS) in Kerman Province]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):100-107. Persian.

مقاله پژوهشی

شناسایی مولکولی جهش‌های ایجاد کننده مقاومت به تتراسایکلین در باکتریهای مایکوپلاسمای جدا شده
از بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس (ام اس) استان کرمان

مریم نقیب، رمضان محبی، بابک خیرخواه*

گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران
*نویسنده مسئول: ایمیل babakkheirkhah@yahoo.comدریافت: ۱۳۹۶/۲/۳۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۰۰-۱۰۷

چکیده

زمینه: عفونت‌های باکتریایی بر شروع یا تشدید حملات، در بیماری مولتیپل اسکروزیس (ام اس) نقش اساسی دارند و گزارشهایی مبنی بر دخالت مایکوپلاسمای با انتشار جهانی در این بیماری وجود دارد. مایکوپلاسمای با تقلید از غشای سلول میزبان منجر به حملات خود ایمنی می‌شود و از سوی دیگر به آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید به عنوان اولین روش درمان مقاوم شده‌اند. هدف این تحقیق شناسایی مولکولی جهش‌های ایجاد کننده مقاومت به تتراسایکلین در مایکوپلاسماهای جدا شده از بیماران مبتلا به ام اس استان کرمان بود.

روش کار: تعداد ۳۲ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۴۸ نمونه مایع ادراری به روش غیرتصادفی از بیماران مبتلا به ام اس تهیه و یک شب غنی سازی در PLO broth، ۷ هفته کشت مداوم در PLO broth و آگار، انجام گردید. از نمونه‌های مثبت، استخراج DNA صورت گرفت. برای شناسایی جنس باکتری از (Nested-PCR) و جدایه‌های دارای مقاومت به تتراسایکلین (*rrs3* و *rrs4*) از ژن *SrRNA16* به روش (Duplex-PCR) استفاده گردید. همچنین تعیین توالی نوکلئوتیدی و رسم درخت فیلوژنتیک انجام شد.

یافته‌ها: در ۱۲ نمونه رشد مشاهده شد، اما بعد از Nested-PCR، تنها در ۵ نمونه (۱ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۴ نمونه ادراری) مایکوپلاسمای تشخیص داده شد. در Duplex-PCR، تنها نمونه‌های ادراری، آللهای مورد نظر را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با رسم درخت فیلوژنتیک مشخص شد آللهای در نقاط متفاوتی جهش پیدا کرده‌اند، اما برای پاسخ قطعی به ایجاد مقاومت به تتراسایکلین، تحقیقات تکمیلی لازم است. بر اساس یافته‌ها، آللهای دارای پتانسیل مقاومت به تتراسایکلین جهش پیدا کرده‌اند.

کلید واژه‌ها: آللهای *rrs3* و *rrs4*، بیماری مولتیپل اسکروزیس، تتراسایکلین، مایکوپلاسمای، مقاومت آنتی بیوتیکی.

نحوه استناد به این مقاله: نقیب م، محبی ر، خیرخواه ب. شناسایی مولکولی جهش‌های ایجاد کننده مقاومت به تتراسایکلین در باکتریهای مایکوپلاسمای جدا شده از بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس (ام اس) استان کرمان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۰۰-۱۰۷

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

مایکوپلازماها کوچکترین باکتری‌هایی هستند که زندگی مستقل دارند و به دلیل حجم کم ژنوم، زندگی انگلی را پذیرفته‌اند. غشای پلاسمایی و پروتئین‌های سطحی ویژه مایکوپلازما، مانند یک پوشش عمل کرده و از غشاء سلولی میزبان تقلید می‌کنند. باکتری باعث تحریک سیستم دفاعی میزبان می‌شود، این سیستم قادر نیست سلول خودی و باکتری را از هم تشخیص دهد و منجر به ایجاد التهاب در بافت‌های مختلف می‌شود (۱،۲). مانند آنچه در بیماری‌های روماتوئید، مننژیت، آنسفالیت، پلی رادیو کولیتیس، آتاکسی مغزی، التهاب نخاع، روان پریشی، صرع، سندرم گیلن باره و مولتیپل اسکلروزیس مشاهده می‌شود (۳،۴). مولتیپل اسکلروزیس (MS)، یک بیماری خود ایمنی یا التهابی مزمنی است که در آن دمی‌لینه شدن سیستم عصبی مرکزی رخ می‌دهد (۵-۷). بسته به سائز و موقعیت زخم‌ها (پلاک‌های اسکلروتیک)، نتایج کلینیکی به صورت کاهش یا از دست دادن عملکرد نورولوژیکی بخش مربوطه است و در نتیجه ناتوانی‌هایی از جزئی تا پیشرفته را ایجاد می‌کند (۸): اختلالاتی در بینایی، شنوایی، تکلم، دفع ادرار و مدفوع، ناتوانی در حفظ کنترل بدن، فلج عضلات، افسردگی (۹-۱۲). همان طور که اشاره شد، مایکوپلازما در ایجاد بیماری مولتیپل اسکلروزیس نقش دارد. و این باکتری در تمام جهان به وفور وجود داشته و بی توجهی به آن با توجه به این نکته که این باکتری توانایی لازم را با توجه به خصوصیات ساختمانی در بقای خود ندارد، موجب عدم توجه کافی به وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مایکوپلازما شده است (۱۳). در حال حاضر مایکوپلازما نسبت به آنتی بیوتیک‌های ماکرولید که به عنوان بهترین درمان، استفاده می‌شدند، مقاومت پیدا کرده و گزارش‌های زیادی از شکست ماکرولیدها از ژاپن، چین، تایوان، کره، آمریکا و اروپا (اسکاتلند، اسپانیا، آلمان) با توجه به تفاوت‌های منطقه‌ای، به علت تداوم نشانه‌های بیماری شامل تب طولانی مدت و سرفه مداوم وجود دارد (۲،۱۴،۱۵). این مقاومت، غالباً به علت وقوع جهش‌هایی در ژن *SrRNA* ۲۳، که تعامل ماکرولید را با زیر واحد بزرگ ریبوزومی مهار کرده، رخ می‌دهد (۱۶،۱۷). از طرفی ریسک ابتلا به ام اس ۱۰۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ و تعداد بیماران بیشتر از ۲۵۰۰۰۰ نفر اعلام شده (۱۴). در ایران بیش از ۴۰۰۰۰ نفر مبتلا به ام اس وجود دارد (۱۸). اکنون آنتی بیوتیک‌های جایگزین ماکرولید، تتراسایکلین و کوئینولونها معرفی شده‌اند (۱۵). اتیولوژی دقیق ام اس هنوز شناخته شده نیست، اما یک اثر متقابل پیچیده بین استعداد ژنتیکی و فاکتورهای محیطی وجود دارد (۱۹). از آنجا که درمان عفونت در کنترل ام اس می‌تواند نقش داشته باشد، انجام تست‌های تشخیص عفونت و درمان آنتی بیوتیکی در کشورهای غربی مورد توجه قرار گرفته است (۹). از سال ۲۰۱۳ روند فزاینده ای از عفونت مایکوپلازما دیده شد که می‌تواند، مربوط به احتمال وقوع یک اپیدمی مثلاً در مورد مایکوپلازما نومونیه، اطلاعات

کمی از مکانیسم‌های کشندگی و مقاومت باکتری در میزبان، عدم اطلاعات کافی در مورد مقاومت ژنی و استفاده از PCR برای شناسایی مایکوپلازما که منجر به شناسایی موارد بیشتر از آن شده است، وجود دارد (۱۰،۲۰). بقاء باکتری در بدن و حضور مداوم آنتی‌ژن در آن، منجر به تحریکات خود ایمنی مانند ام اس می‌شود (۱۵). از آنجا که مایکوپلازماها را نمی‌توان فقط براساس نشانه‌های کلینیکی تشخیص داد و عفونت نتیجه تعامل بین میزبان و مایکوپلازما است، جایگزینی پی سی آر به جای تست‌های سرولوژیکی، سریع، حساس و یک انتخاب امید بخش است (۲۰). تحقیقات مداوم روی مکانیسم‌های مقاومت دارویی از جهت مهم بودن زمان در درمان برخی از بیمارها افزایش یافته، و موجب کشف داروهای ضد میکروبی جدید و موثر برای درمان مایکوپلازما به ویژه با تمرکز بر روی نسل جدید تتراسایکلین، شده است (۲۱). استفاده تنها از روش‌های سرولوژیک که اطلاعاتی از مقاومت ژنی فراهم نمی‌کند و عدم تحقیق روی مکانیسم‌های مقاومت دارویی و بی توجهی نسبت به عفونت‌ها در بیماران مبتلا به ام اس، از جمله نقاط ضعف بعضی از تحقیقات بوده است (۲،۹). از آنجا که شواهدی دال بر مقاومت مایکوپلازما به تتراسایکلین بدست آمده (۲۲)، لذا در این تحقیق به جهت افزایش حساسیت و اختصاصیت در شناسایی مایکوپلازما، در نمونه‌های مایع مغزی نخاعی و ادرار بیماران ام اس از تکنیک Nested-PCR و به جهت جستجوی آللهای دارای پتانسیل مقاومت به تتراسایکلین (*rrs3* و *rrs4*) در ژن *SrRNA* ۱۶ از تکنیک Duplex PCR استفاده و سپس تعیین توالی نوکلئوتیدی این آلل‌ها انجام گردید. با توجه به نبود سوابقی مبنی بر تحقیقات قبلی، هدف از این تحقیق تعیین هویت مولکولی جهش‌های ژنی ایجاد کننده مقاومت دارویی به تتراسایکلین در مایکوپلازماهای موجود در مایع مغزی نخاعی و ادرار بیماران مبتلا به ام اس استان کرمان در تابستان ۱۳۹۴ بود.

روش کار

این پژوهش توصیفی - مقطعی و بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵٪، بر روی ۸۰ نمونه، شامل ۳۲ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۴۸ نمونه ادراری از بیماران مبتلا به ام اس استان کرمان (انجمن ام اس کرمان) که به صورت مبتنی بر هدف و غیر تصادفی تهیه شده بود، به آزمایشگاه میکروبیولوژی پاسارگاد منتقل و انجام شد. ابتدا نیم میلی لیتر از هر نمونه، به محیط PPLO براث استریل انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C انکوباسیون گردید. محیط‌های PPLO براث توسط فیلتر مخصوص PVDF صاف شد، سپس ۲ میلی لیتر از محلول براث جدا و به محیط کشت دوم شامل PPLO براث با pH ۷/۶ منتقل و در شرایط CO₂ ۵ تا ۱۰ درصد، برای ۳ تا ۵ روز در گرمخانه نگهداری شد (۲۳).

به مدت ۶ دقیقه، واسرشت ثانویه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه (به تعداد ۳۳ سیکل)، بسط ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و بسط نهایی ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، انجام شد. برای آناج آزمون Duplex PCR برنامه زمانی شامل واسرشت اولیه ۹۸ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت ثانویه ۹۸ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال ۶۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه (به تعداد ۳۵ سیکل)، بسط ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، بسط نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. برای کنترل مثبت از استاندارد مایکوپلازما و برای کنترل منفی از استاندارد *E.coli* و آب مقطر استریل استفاده شد. سپس یک Duplex PCR که نوعی Multiplex PCR بود، برای شناسایی آلل-های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* انجام و مخلوط واکنش تهیه شد (جدول ۲). برای شناسایی آلل *rrs3* از پرایمرهای MB-282-F و MB-tet 3/4R برای تکثیر ناحیه ۱۸۵۷ bp و برای شناسایی آلل *rrs4* از پرایمرهای MB-rrs-3F و MB-287-R برای تکثیر ناحیه ۵۲۹۴ bp استفاده شد (جدول ۱).

سپس نمایان‌سازی محصولات با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید و الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۲ درصد انجام شد. بعد از اطمینان از تکثیر محصول پی سی آرو تشکیل باند، عمل خالص سازی DNA با استفاده از پروتکل کیت خالص‌سازی DNA شرکت Vivantis (Vivantis Nucleic Acid Extraction Kit) کشور مالزی انجام شد. محصولات بدست آمده با پرایمرهای *rrs3* و *rrs4* جهت تعیین توالی به شرکت پیشگام (نماینده Bioneer کشور کره جنوبی) ارسال و سپس با نرم افزارهای Bio Edit و MEFGA (version ۵/۰۴)، اطلاعات بدست آمده تحلیل شد.

از هر کدام از محیط‌ها دو پاساژ، به محیط PPLO مایع و محیط PPLO آگار گرفته شد. محیط PPLO آگار دار به مدت ۷ روز در انکوباتور CO2 دار و دمای ۳۷°C و محیط PPLO مایع هم به مدت ۲ تا ۳ روز گرمخانه گذاری شد و بعد از این مدت، ۲ پاساژ از آن یکی به محیط مایع و دیگری به محیط PPLO آگاردار، منتقل شد. پس از ظهور کلنی‌ها، جهت تایید جنس مایکوپلازما، تست های مولکولی انجام شد (۲۴). استخراج DNA با استفاده از پروتکل کیت استخراج DNA شرکت کیاژن با نام ۱۰۰-*cat.no.k1014* spin PCR template (sample ۱۰۰) purification kit ساخت کشور آلمان انجام شد. در این پژوهش جهت بالا بردن حساسیت و اختصاصیت کار از Nested-PCR استفاده گردید (۲۵). مخلوط واکنش در مرحله اول PCR که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است تهیه و در دستگاه ترموسایکلر مدل BIO-RAD T100 ساخت آلمان قرار گرفت و برنامه PCR برای آن اعمال شد (جدول شماره ۲). برای کنترل مثبت از جنس استاندارد مایکوپلازما تهیه شده از موسسه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد و برای کنترل منفی از آب مقطر استریل استفاده شد. سپس مخلوط واکنش در مرحله دوم، تهیه شد (جدول ۲). برای شناسایی اختصاصی جنس مایکوپلازما از پرایمرهای GSO و MASO برای تکثیر ناحیه ۱۶۳ bp *SrRNA16* استفاده شد (جدول ۱). برنامه PCR بدین شرح انجام شد: برای انجام Nested PCR با پرایمر اولیه، واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، واسرشت ثانویه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه (به تعداد ۳۵ سیکل)، بسط ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه، بسط نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه، برای انجام Nested PCR با پرایمر دوم، واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده در Nested PCR و Duplex PCR (۲۵).

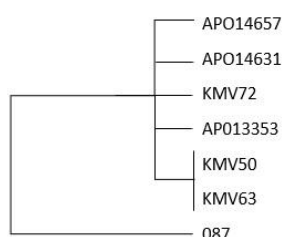
Nested PCR 1	AB	<i>s rRNA16</i>	F=5'GCAGTGAAGAACGAGGGG=3'
	ABO		R=5'GTCCTCGCTTCGGTCTCTCG=3'
Nested PCR2	GSO	<i>s rRNA16</i>	F=5'GGGAGCAAACAGGATTAGATACCT=3'
	MGSO		R=5'TGCACCATCTGTCACTCTGTAAACCTC=3'
Doublex PCR	MB-282-F	<i>rrs3</i>	F=5'GGATATCTAACGCCGTGTCT=3'
	MB-tet 3/4-R		R=5'CGTTCCTCGTAGGGATACCT=3'
	MB-rrs-3F	<i>rrs4</i>	F=5'CGAGTTTGGACCTCCTGGCTC=3'
	MB-287-R		R=5'CTAATTCGAAGTGCCACTAGCG=3'

جدول ۲: مخلوط واکنش های Nested PCR و Duplex PCR (۲۵)

ترکیبات حجم			
۶/۷μl	۹/۷μl	۶/۷μl	آب مقطر
۲μl	۲μl	۲μl	بافر X10
۱μl	۱/۵μl	۱μl	۵۰ mM MgCl ₂
۱μl	۱/۵μl	۱μl	dNTP mix (5Mm)
۲μl	۱μl	۲μl	پرایمر رفت ۰/۵ μM
۲μl	۱μl	۲μl	پرایمر برگشت ۰/۵ μM
۰/۳μl	۰/۳μl	۰/۳μl	Taq 2.5unit
۵μl (استخراج شده)	۳μl (محصول مرحله اول)	۵μl (محصول مرحله دوم)	DNA

یافته‌ها

در مرحله اول واکنش Nested-PCR، تنها ۵ نمونه شامل ۱ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۴ نمونه ادراری باند ۱۶۳ bp مشاهده شد. در واکنش PCR نهایی (Duplex PCR) تنها ۴ نمونه ادراری باند ۱۸۵۷ و ۵۲۹۴ bp را نشان دادند و نمونه مایع مغزی نخاعی هیچ باندی را نشان نداد. در مرحله دوم واکنش Nested-PCR، تنها ۵ نمونه شامل ۱ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۴ نمونه ادراری باند ۱۶۳ bp مشاهده شد. در واکنش PCR نهایی (Duplex PCR) تنها ۴ نمونه ادراری باند ۱۸۵۷ و ۵۲۹۴ bp را نشان دادند و نمونه مایع مغزی نخاعی هیچ باندی را نشان نداد. نتیجه تحلیل بیوانفورماتیک توالی‌های نوکلئوتیدی نمونه‌های مورد بررسی به صورت الگوی زیر ترسیم گردید (نمودار ۱).



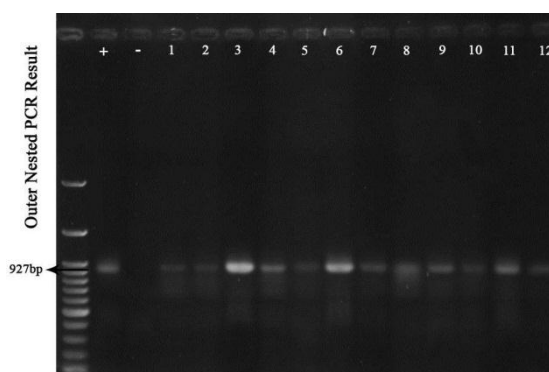
نمودار ۱: درخت فیلوژنتیک نمونه‌های مورد بررسی

بحث

در این پژوهش شناسایی آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در مایکوپلاسمای انسانی برای اولین بار انجام شد و نشان داد که مایکوپلاسمای جدا شده از ادرار افراد مبتلا به ام اس دارای آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* بوده که جهش یافته‌اند و در نتیجه پتانسیل مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین را دارند. اما این آلل‌ها در ژن *SrRNA16* باکتری مایکوپلاسمای جدا شده از مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به ام اس وجود نداشت. یک تجزیه و تحلیل دقیق از بروز بیماری ام اس در جزیره فارو در طول و بعد از جنگ جهانی دوم انجام شد و به آسانترین شکل ارتباط بین بیماری ام اس با پاتوژنها را نشان دادند (۲۳). این پژوهش به ارتباط بین بیماری ام اس با باکتری مایکوپلاسمای پرداخته و روی نمونه‌های مایع مغزی نخاعی و ادراری این بیماران انجام شد. در تحقیقی که توسط Booth در سال ۲۰۱۳ انجام شد، به ارتباط بین مایکوپلاسمای بیماری ام اس اشاره گردیده است (۲۵). همچنین در پژوهشی که توسط Stephen و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد، ارتباط بین مایکوپلاسمای نومونیه با دمی‌لیناسیون شدید تشخیص داده شد (۲۶). Pakpoor در سال ۲۰۱۳ انجام و ارتباط بین مایکوپلاسمای نومونیه و بیماری خود ایمنی ام اس را عنوان کردند (۲۷). در پژوهشی که توسط Bahar و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام و بررسی سرولوژیکی حضور مایکوپلاسمای در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به ام اس بررسی شد، نقش احتمالی تأثیر مایکوپلاسمای

از ۸۰ نمونه موجود، ۱۲ نمونه، شامل یک نمونه مایع مغزی نخاعی و ۱۱ نمونه ادراری بیماران مبتلا به ام اس در محیط PPLO آگاردار رشد کردند. در دور اول واکنش Nested PCR، هر ۱۲ نمونه (۱ نمونه مایع مغزی نخاعی و ۱۱ نمونه ادراری) باند ۹۲۷ روی ژل آگارز نشان دادند. از جنس استاندارد *E. coli* با شماره دسترسی ۰۸۷ به عنوان کنترل منفی در تهیه درخت فیلوژنتیک استفاده شد. تنها جدایه‌های دارای آلل‌های *rrs3* و *rrs4* مربوط به باکتری مایکوپلاسمای *Mycoplasma. Arginni* با شماره دسترسی APO14657، مایکوپلاسمای کانادنس (*Mycoplasma. canadense*)

با شماره دسترسی APO14631 مایکوپلاسمای *Mycoplasma. californicum* با شماره ۱ سی 13353 APO تعلق داشت که در سال ۲۰۱۵ در ژاپن از ش گاو مبتلا به التهاب پستان جدا شده بود و برای مقایسه مورد ۲ ده قرار گرفت. از بین آلل‌های *rrs3* و *rrs4* چهار نمونه ادراری بیماران مبتلا به ام اس، فقط سه نمونه با شماره های KMV72 و KMV63 و KMV50 قابلیت استفاده در تهیه درخت فیلوژنتیک ر ۳ متند. جدایه های مورد نظر، از نظر آلل‌های جهش یافته قرابت فیلوژنتیک با جدایه های ثبت شده در بانک ژن را نداشته و بین جدایه‌های این پژوهش هم قرابت زیادی وجود نداشت. نتایج کلی بدست آمده در روشهای Nested-PCR و Duplex PCR، بدین صورت گزارش گردید، مایع مغزی و نخاعی از مجموع ۳۲ نمونه، یک نمونه واجد ژن بیرونی (پرایمر اول) و داخلی (پرایمر دوم) بوده و هیچ یک واجد آلل‌های *rrs3* و *rrs4* نبودند. از میان ۴۸ نمونه ادراری، ۱۱ نمونه واجد ژن بیرونی (پرایمر اول) و ۴ نمونه واجد ژن داخلی (پرایمر دوم) بوده، یک نمونه واجد آلل *rrs3* و ۲ نمونه واجد آلل *rrs4* و یک نمونه واجد هر دو آلل به طور همزمان تشخیص داده شد.



شکل ۱: ژل الکتروفورس محصول از آغازگر اختصاصی به ترتیب از چپ به راست، گوده اول نشانگر (مارکر): ۱۰۰ bp +: کنترل مثبت، -: کنترل منفی، گوده‌های شماره ۱ تا ۱۲ نمونه‌های جداسازی شده.

کشف به هنگام این نوع حقایق و درمان مناسب آنها پیشگیری از شیوع آنها را در بر دارد. در این پژوهش با روش Duplex PCR این آلل‌های شناسایی شدند. با استفاده از این تکنیک می‌توان چند جایگاه ژنی را مورد بررسی قرار داد و از چندین پرایمر اختصاصی جهت تکثیر DNA استفاده کرد. با این روش می‌توان بخش‌های بزرگی از DNA را به جهت پیدا کردن تغییرات بررسی کرد و حتی می‌توان بخش‌های غیر مرتبط را در ژنوم جستجو کرد (۲۲). در تحلیل نتایج حاصل از رسم درخت فیلوژنتیکی باید گفت که از جمله محدودیت‌های موجود، حضور تنها سه جدایه ثبت شده بانک ژن بود، جدایه‌های ثبت شده و جدایه‌های پژوهش از نظر نقاط جهش یافته، شباهت فیلوژنتیکی نداشتند. به علت وقوع جهش در آلل‌های *rrs3* و *rrs4* جدایه‌های مایکوپلاسمای انسانی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به ام اس احتمالاً نسبت به تتراسایکلین مقاوم شده باشند که البته پژوهش‌های تکمیلی دیگری برای پاسخ قطعی در این زمینه لازم است.

نتیجه‌گیری

باکتری مایکوپلاسمای ادرار و مایع مغزی نخاعی افراد مبتلا به ام اس، می‌تواند وجود داشته باشد و با شروع بیماری یا شدت یافتن آن در ارتباط باشد. تکنیک Nested-PCR جهت افزایش حساسیت و اختصاصیت در شناسایی باکتری و تکنیک Duplex PCR در شناسایی دو آلل مجزا از هم مفید واقع شدند. حضور آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* مایکوپلاسمای ادراری و عدم حضور آنها در مایکوپلاسمای مغزی نخاعی بیمار ام اس، شاید حاکی از این باشد که باکتری موجود در ادرار به علت حضور در شرایط سخت مقاوم شده و از طرفی امکان دارد به عدم توانایی عبور تتراسایکلین از سد خونی مغزی اشاره داشته باشد. آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در مایکوپلاسمای ادراری جهش پیدا کرده‌اند.

قدردانی

این مقاله حاصل یک پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان مصوب سال ۱۳۹۳، با کد ۶۴۵ تحت عنوان شناسایی هویت مولکولی جهش‌های ایجاد کننده مقاومت به تتراسایکلین در باکتریهای مایکوپلاسمای جدا شده از بیماران مبتلا به ام اس در استان کرمان می‌باشد که در تابستان ۱۳۹۴ در پژوهش دانشگاه به تصویب رسید، انجام شد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

نومونیه در ایجاد ام اس در زنان بیان شد (۲۲). اما در پژوهشی که توسط Darken و همکاران در سال ۱۹۶۰ انجام شد، مایکوپلاسمای نومونیه در خون، ادرار و مایع مغزی نخاعی بیماران ام اس با استفاده از تکنیک PCR مشاهده نشد ولی به این نکته اشاره گردید که به دلیل تمایل مایکوپلاسمای ایجاد بیماریهای نورولوژیک خود ایمنی، باید در ارگان‌ها و مکان‌های عصبی دورتر از مغز به جستجوی این باکتری پرداخت (۹). می‌توان در یک پیشگویی گفت که شفای برای بیماری ام اس وجود ندارد، اما با بهبود و افزایش کیفیت داروهای کاهش دهنده شدت بیماری، بطور امیدوارانه‌ای، ام اس به یک بیماری با پیامد خیلی بهتر، نسبت به گذشته تبدیل شده است، اما بطور کلی، شاید تعبیر این بیماری، به عنوان یک مسیر اجتناب ناپذیر به سمت افزایش ناتوانی در بخش‌های مختلف بدن، زیاد اغراق آمیز نباشد (۲۸). بنابراین از تعامل بین عامل پاتوژن و بیماری ام اس به جهت درمان آن باید حداکثر استفاده را کرد (۲۹). در پژوهشی که توسط Hames و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، عده‌ای بیمار مبتلا به ایدز و ام اس همزمان بررسی شدند، درمانها علیه ویروس HIV، نه تنها شدت بیماری ام اس را کاهش داد، بلکه از بازگشت مجدد آن نیز جلوگیری کرد (۳۰). داروهای ضد میکروبی و واکسیناسیون در برابر پاتوژن‌ها می‌تواند از پیشرفت ام اس و در واقع پیشرفت ناتوانی بدن جلوگیری کند، شناسایی عفونت‌ها در بیماران مبتلا به ام اس و توجه به درمان صحیح و سریع آن‌ها دارای ضرورت است. یک تکنیک سریع و قابل اعتماد جهت تأیید محصول PCR و شناسایی پاتوژن، واکنش Nested-PCR است، که حساسیت شناسایی محصول را چند برابر افزایش می‌دهد. در این پژوهش برای شناسایی جنس مایکوپلاسمای از این تکنیک استفاده شد، البته به دلیل کمبود باکتری تعیین گونه صورت نگرفت. در این پژوهش، حضور آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* به جهت بررسی پتانسیل مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بررسی شد. تتراسایکلین با اتصال به زیر واحد ۳۰ S ریبوزومی از گسترش زنجیره پلی‌پپتیدی در حال ساخت و رهاسازی آن جلوگیری می‌کند، اما با افزایش فزاینده استفاده از این آنتی‌بیوتیک، مقاومت نسبت به آن هم رو به گسترش گذاشت. آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* ریبوزومی از جمله نقاط چسبندگی ابتدایی تتراسایکلین به ریبوزوم می‌باشند که جهش در آنها می‌تواند به عدم اتصال تتراسایکلین و ایجاد مقاومت کمک کند (۲۲). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۴ انجام شد، وجود جهش در آلل‌های *rrs3* و *rrs4* در ژن *SrRNA16* در مایکوپلاسمای بویوس و مقاومت به تتراسایکلین بررسی و اثبات شد (۲۲). آنچه مهم می‌نماید، ایجاد آگاهی فزاینده در میان پزشکان، درباره گونه‌های مایکوپلاسمای مختلف مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها است تا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های غیرضروری و غیرمناسب کاهش و به دنبال آن دوره و شدت بیماری و انتشار عفونت در جامعه کاهش یابد.

مشارکت مؤلفان

م. ن. ر. م و استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله ملاحظات اخلاقی را شامل نمی‌شود.

منابع مالی

این مقاله منابع مالی ندارد.

References

1. Ammar A, Gad G, Hasan A, Lamia A. Virulence Factors in Mycoplasma of Human Origin. *Egypt J Med Microbiol* 2014; **23**(3): 29-36. doi: 10.12816/0024349
2. Kakalacheva K, Münz C, Lünemann J D. Viral triggers of multiple sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular Basis Dis* 2011; **1812**(2): 132-140. doi: 10.1016/j.bbdis. 2010.06.012
3. Chakraborty S, Kumar A, Tiwari R, Rahal A, Malik Y, Dhama K, et al. Advances in diagnosis of respiratory diseases of small ruminants. *Vet Med Int* 2014; **15**: 2014. doi: 10.1155/2014/ 508304
4. Thomas F J, Wiles C M. Dysphagia and nutritional status in multiple sclerosis. *J Neurol* 1999; **246**(8): 677-682. doi: 10.1007/s0041500 50431
5. Kriesel J D, Hobbs M R, Jones B B, Milash B, Nagra RM, Fischer K F. Deep sequencing for the detection of virus-like sequences in the brains of patients with multiple sclerosis: detection of GBV-C in human brain. *PLoS One* 2012; **7**(3): 31886. doi: 10.1371/journal.pone.0031886
6. Westall F C. Molecular mimicry revisited: gut bacteria and multiple sclerosis. *J Clin Microbiol* 2006; **44**(6): 2099-2104. doi: 10.1128/JCM. 02532-05
7. Fitzgerald S. Levels of Risk Identified for MS Patients Taking Natalizumab. *Neurology Today* 2012; **12**(13): 18-19. doi: 10.1097/01.NT. 0000416334.61692.94
8. Ashtaria F, Mohammadali B. Serum uric acid level in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Clin Neuroscience* 2013; **20**(5): 676-678. doi: 10.1016/j.jocn.2012.05.054
9. Darken M A, Berenson H, Shirk R J, Sjolander N O. Production of tetracycline by *Streptomyces aureofaciens* in synthetic media. *Appl Microbiol* 1960; **8**(1): 46-51.
10. Morozumi M, Ito A, Murayama S Y, Hasegawa K, Kobayashi R, Iwata S, et al. Assessment of real-time PCR for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in pediatric patients. *Canadian J Microbiol* 2006; **52**(2): 125-129. doi: 10.1139/w05-118
11. Narita M. Classification of Extra pulmonary Manifestations Due to *Mycoplasma pneumoniae* Infection on the Basis of Possible Pathogenesis. *Frontiers Microbiol* 2016; **23**. doi: 10.3389/fmicb.2016.00023
12. Tsai V, Pritzker B B, Diaz M H, Winchell J M, Hicks L A, Petrone B, et al. Cluster of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infections in Illinois in 2012. *J Clin Microbiol* 2013; **51**(11): 3889-3892. doi: 10.1128/JCM.01613-13
13. Amram E, Mikula I, Schnee C, Ayling R D, Nicholas R A, Rosales RS, et al. 16S rRNA gene mutations associated with decreased susceptibility to tetracycline in *Mycoplasma bovis*. *Antimicrobial Agents chem* 2015; **59**(2): 796-802. doi: 10.1128/AAC.03876-14
14. Yamada M, Buller R, Bledsoe S, Storch G A. Rising rates of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in the central United States. *Pediatric Infect Dis J* 2012; **31**(4): 409-411. doi: 10.1097/INF.0b013e318247f3e0
15. Wekerle H. Remote Control: The Early Extra cerebral Phase of MS Plaque Development. *Rev Neurol* 2012; **168**. doi: 10.1016/S0035-3787(12)70024-3
16. Ellis J A, Kemp A S, Ponsonby A L. Gene-environment interaction in autoimmune disease. *Expert Rev Molecule Med* 2014; **16**: 4. doi: 10.1017/erm.2014.5
17. Schmidl S R, Otto A, Lluch-Senar M, Piñol J, Busse J, Becher D, et al. A trigger enzyme in *Mycoplasma pneumoniae*: impact of the glycerophosphodiesterase GlpQ on virulence and gene expression. *PLoS Pathog* 2011; **7**(9): 1002263. doi: 10.1371/journal.ppat.1002263
18. Zhao F, Liu G, Wu J, Cao B, Tao X, He L, et al. Surveillance of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in Beijing, China, from 2008 to 2012. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; **57**(3): 1521-1523. doi: 10.1128/AAC.02060-12
19. Buzzard K A, Broadley S A. Whatdo effective treatments for multiple sclerosis tells us about the molecular mechanisms involved in pathogenesis. *Int J Mol Sci* 2012; **13**(12): 665-709. doi: 10.3390/ijms131012665
20. Gandhi K S, McKay F C. The multiple sclerosis whole blood mRNA transcriptome and genetic associations indicate dysregulation of specific T cell pathways in

- pathogenesis. *Hum Mol Genet* 2010; **19**: 2134-2143. doi: 10.1093/hmg/ddq090
21. Arbuckle M R, McClain M T, Rubertone M V, Scofield R H, Dennis G J, James J A, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *New England J Med* 2003; **349**(16): 1526-33. doi: 10.1056/NEJMoa021933
22. Bahar M, Ashtari F, Aghaei M, Akbari M, Salari M, Ghalamkari S. Mycoplasma pneumonia seropositivity in Iranian patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized case-control study. *J Pak Med Assoc* 2012; **62**(3): 6-8.
23. Damal K, Stoker E, Foley J F. Optimizing therapeutics in the management of patients with multiple sclerosis: a review of drug efficacy, dosing, and mechanisms of action. *Biologics* 2013; **7**: 247-258. doi: 10.2147/BTT.S53007
24. Tran H, Allworth A, Bennett C. A case of Mycoplasma pneumoniae-associated encephalomyelitis in a 16-year-old female presenting to an adult teaching hospital. *Clin Med insights* 2013; **6**: 209. doi: 10.4137/CCRep. S13309
25. Booth D. Do pathogens contribute to multiple sclerosis etiology? *Microbial Australia* 2013; **34**(3): 144-146.
26. Stephens D S, Zughaier S M, Whitney C G, Baughman W S, Barker L, Gay K, et al. Incidence of macrolide resistance in Streptococcus pneumoniae after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine: population-based assessment. *The Lancet* 2005; **365**(9462): 855-863. doi: 10.1016/S0140-6736(05)71043-6
27. Pakpoor J, Giovannoni G, Ramagopalan S V. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: association or causation. *Expert Rev Neuro* 2013; **13**(3): 287-297. doi: 10.1586/ern.13.6
28. Kawai Y, Miyashita N, Kubo M, Akaike H, Kato A, Nishizawa Y, et al. Nationwide surveillance of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae infection in pediatric patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2013; **57**(8): 4046-4049. doi: 10.1128/AAC.00663-13
29. Libbey J E, Cusick M F, Fujinami R S. Role of pathogens in multiple sclerosis. *Int Rev Immunol* 2014; **33**(4): 266-283. doi: 10.3109/08830185.2013.823422
30. Hames C, Halbedel S, Hoppert M, Frey J, Stülke J. Glycerol metabolism is important for cytotoxicity of Mycoplasma pneumoniae. *J Bacterial* 2009; **191**(3): 747-75.

Original Article

Study of drug resistance and resistance index of *E. coli* isolates collected from clinical specimens and determination of *bla*_{CTX-M1} gene by PCR in Tabriz.

Zahra Niknafs¹, Mohammad Reza Nahaei^{2,3*}, Javid Sadegi³, Najieh Beigoli⁴

¹M.Sc. Student of Microbiology, Tabriz Higher Education Institute of Rab- Rashid, Tabriz, Iran

²Department of Microbiology and Laboratory Sciences, School of Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

³Department of Microbiology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Central laboratory of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: nahaeim@yahoo.com

Received: 25 February 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 5 March 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):108-114

Abstract

Background: Overuse of beta lactam antibiotics have led to emergence of Extended spectrum beta lactamases (ESBLs). Production of these enzymes can cause resistance against third generation cephalosporins and hydrolysis of monobactams. Treatments of infectious diseases are difficult and in spite of antimicrobial chemotherapy, there are still some difficulties. This study was conducted to investigate antibiotic susceptibility of and search for presence of *bla*_{CTX-M-1} gene in clinical *E. coli* isolates collected from central laboratory of Tabriz.

Methods: One hundred *E. coli* isolates were collected from central laboratory of Tabriz. Antibiotic susceptibility tests were carried out according to Kirby- Bauer method using amoxicillin, ceftazidime, ciprofloxacin, cefotaxime, imipenem, gentamicin and nitrofurantoin antibiotics. Confirmatory tests were also performed using combined disk test. Finally PCR was used for detecting *bla*_{CTX-M-1} gene.

Results: Seventeen out of 100 *E. coli* isolates contained *bla*_{CTX-M-1} gene. All of the isolates were sensitive to nitrofurantoin, while 79% of our isolates were resistant to amoxicillin and 82% were recorded an ESBL producers.

Conclusion: Seventeen percent of *E. coli* isolates contained *bla*_{CTX-M-1} gene as a group of ESBL gene indicating presence of other groups of ESBL producing genes which require further studies.

Keywords: *Escherichia coli*, resistance index, blaCTX-M-1 gene, Polymerase chain reaction (PCR).

How to cite this article: Niknafs Z, Nahaei M R, Sadegi J, Beigoli N. [Study of drug resistance and resistance index of *E. coli* isolates collected from clinical specimens and determination of blaCTX-M1 gene by PCR in Tabriz.]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):108-114. Persian.

مقاله پژوهشی

مطالعه مقاومت دارویی و اندیکس مقاومت در اشریشیا کلی های جدا شده از عفونت های ادراری و شناسایی ژن *blaCTX-M1* در جدایه های تحت مطالعه با روش PCR در شهر تبریززهرنا نیک نفس^۱، محمدرضا نهائی^{۲،۳*}، جاوید صادقی^۲، ناجیه بیگلی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، مؤسسه عالی ربع رشید، تبریز، ایران
^۲ گروه میکروب شناسی، و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
^۳ گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۴ آزمایشگاه مرکزی تبریز، تبریز، ایران
 * نویسنده مسئول: ایمیل: nahaeim@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۷ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۰۸-۱۱۴

چکیده

زمینه: مصرف بی رویه آنتی بیوتیک های بتالاکتام منجر به ایجاد گروهی از آنزیم های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBL) شده است. تولید این آنزیم ها سبب ایجاد مقاومت نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم و هیدرولیز مونوباکتام ها می گردد. بیماری های عفونی و درمان آنها از مشکلات اساسی در زندگی بشری می باشند و علیرغم گذشت سالیان متمادی از آغاز عصر شیمی درمانی ضد میکروبی، در سراسر جهان مشکلات عدیده ای را ایجاد نموده است. این مطالعه جهت بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی و بررسی حضور ژن *blaCTX-M-1* در ایزوله های اشریشیاکلی جداسازی شده از نمونه های بالینی در آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز انجام شد.

روش کار: تعداد ۱۰۰ ایزوله در طی یک ماه از آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز جمع آوری گردید. ایزوله های اشریشیاکلی توسط تست های روتین باکتریولوژیک شناسایی و به روش Kirby-Bauer با استفاده از آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی پنم و نیتروفرانتوئین آنتی بیوگرام گردیدند. تست تأییدی به روش دیسک ترکیبی (Combined disk test) انجام شد. در نهایت با استفاده از روش PCR ژن *blaCTX-M-1* تحت بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی تعداد ۱۷ ایزوله (۱۷٪) حاوی ژن *blaCTX-M-1* بودند. همه ایزوله ها حساس به نیتروفرانتوئین و ۷۹٪ ایزوله ها مقاوم به آموکسی سیلین و ۸۲٪ ایزوله ها ESBL مثبت بودند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر، ژن مولد بتالاکتاماز *blaCTX-M-1* که تنها جزئی از خانواده بزرگ بتالاکتاماز وسیع الطیف می باشد، در ۱۷٪ ایزوله های اشریشیاکلی شناسایی شد که این نتایج بیانگر وجود کلون های مولد دیگر ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف نیز می باشد.

کلید واژه ها: اشریشیاکلی، اندیکس مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن *blaCTX-M1* واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)

نحوه استناد به این مقاله: نیک نفس ز، نهائی م ر، صادقی ج، بیگلی ن. مطالعه مقاومت دارویی و اندیکس مقاومت در اشریشیا کلی های جدا شده از عفونت های ادراری و شناسایی ژن *blaCTX-M* در جدایه های تحت مطالعه با روش PCR در شهر تبریز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱): ۱۰۸-۱۱۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

آنزیم‌های بتالاکتاماز اولین بار در سال ۱۹۸۳ و در باکتری کلبسیلا پنومونیه گزارش گردید و بعد از آن در گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه یافت شدند (۱). این آنزیم‌ها به دو صورت مولکولی (Ambler) و عملکردی (Bush) طبقه‌بندی می‌شوند. بتالاکتامازها در طبقه‌بندی Ambler به چهار دسته A تا D تقسیم می‌شوند، که نوع A, C, D سرین بتالاکتاماز هستند، در حالی که نوع B متالوبتالاکتاماز بوده و برای عملکرد خود نیاز به عنصر روی (Zn) دارد (۲). در طبقه‌بندی Bush بتالاکتامازها بر اساس نوع سوبستراها، ممانعت کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک به ۴ گروه تقسیم می‌شوند (۳). بتالاکتامازهای تیپ CTX-M توسط پلاسمید کد می‌شوند، آنها قادر به هیدرولیز سفالوسپورین‌های وسیع الطیف بوده (۴) و به طور فزاینده‌ای در کلبسیلا پنومونیه و اشریشیا کلی شایع شدند (۵). این آنزیم‌ها به پنج گروه اصلی CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 تقسیم می‌شوند (۵) و تاکنون بیش از ۵۰ نوع CTX-M شناسایی شده است (۵). این آنزیم‌ها ارتباطی با بتالاکتامازهای TEM و SHV ندارند و تنها حدود ۱۴٪ با این دو بتالاکتاماز همانندی دارد (۴). آنزیم‌های CTX-M در کلاس A بتالاکتامازها قرار می‌گیرند (۶). بتالاکتامازهای وسیع-الطیف گروه CTX-M به خاطر فعالیت بیشتر علیه سفوتاکسیم نسبت به سفنازیدیم از دیگر گروه‌های ESBL مانند TEM و SHV متمایز می‌شوند (۲). آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی به واسطه جلوگیری و ممانعت از کامل شدن پپتیدوگلیکان به واسطه مهار روند تشکیل پل‌های عرضی عمل می‌کنند که این عمل باعث اختلال در بیوسنتز دیواره سلولی و در نتیجه تغییر شکل و لیز شدن سلول می‌شود (۷). در سال‌های اخیر ایزوله‌های با مقاومت دارویی چندگانه در بیمارستان‌هایی که از سفالوسپورین‌ها به طور وسیع استفاده می‌کنند ظاهر شده‌اند (۸). امروزه تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تهدید بزرگی برای مصرف سفالوسپورین‌های وسیع-الطیف می‌باشد، همچنین ژنهای این آنزیم‌ها در ایجاد مقاومت‌های چندگانه به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز دخیل می‌باشد به طوری که بروز و انتشار ژنهای مختلف این آنزیم‌ها می‌تواند مقاومت‌های چندگانه ایجاد کرده و استفاده از داروهای ضد میکروبی مفید و مناسب را کاهش دهد (۹).

روش کار

نمونه‌گیری: تعداد ۱۰۰ ایزوله‌ی اشریشیا کلی در مدت یک ماه از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز به صورت تصادفی ساده (Simple Random Sampling) جمع‌آوری شد. باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بیماران با استفاده از محیط کشت Blood agar, EMB agar (اوزین متیلن بلو)، خالص‌سازی

شد، سپس تست‌های بیوشیمیایی از قبیل سیمون سیترات، لیزین دکریوکسیلاز، اوره آز، MR/VP, SIM و TSI بر روی کلنی‌ها صورت گرفت و تعیین هویت ۱۰۰ ایزوله به عنوان *E. coli* تأیید گردید. باکتری‌های جداسازی شده بعد از تشخیص در محیط تریپتی سوی براث حاوی ۲۰٪ گلیسرول در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمونهای بعدی ذخیره‌سازی شدند.

تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی: به منظور شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های آزمایشی تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، ای‌می‌پنم (۱۰ میکروگرم)، آموکسی-سیلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب انجام شد. در این روش از ایزوله‌های مورد بررسی سوسپانسیونی برابر غلظت نیم مک فارلند تهیه شد و در محیط مولر هیتون آگار (مرک آلمان) کشت داده شد و بعد از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک‌های آزمایشی به روش Kirby-Bauer و طبق استانداردهای CLSI سنجیده و نتایج ثبت گردید (۱۰).

تأیید فنوتیپی ESBL با روش دیسک ترکیبی (Combined disk)

در این آزمون همانند الگوی روش دیسک آگار دیفیوژن پس از تهیه محیط کشت مولر هیتون آگار، سوسپانسیون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند به طور کامل در سطح محیط مذکور پخش شد. سپس دیسک‌های مورد آزمایش سفنازیدیم/ کلاولانیک اسید (CAZ:30µg/ CV: 10µg) و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (CTX: 30µg/ CV: 10µg) به همراه سفوتاکسیم و سفنازیدیم هر کدام (۳۰µg)، به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی‌متر از یکدیگر بر روی محیط قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید نسبت به دیسک بدون کلاولانیک اسید سنجیده شد (۱۱) و تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفنازیدیم/ کلاولانیک اسید یا سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید مشخص گردید. در آزمون تأییدی از سویه کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

نحوه آماده سازی نمونه‌ها برای انجام PCR

جهت استخراج DNA و انجام PCR ابتدا DNA ایزوله‌ها با روش Tissue Buffer استخراج شد (۱۲). تست PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی CTX-M-1 با اندازه ۲۵۱ bp طبق شرایط زیر صورت گرفت:

یافته‌ها

از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی که از نمونه‌های ادراری جدا شده بود، ۸۲ ایزوله (۸۲٪) مقاوم به آموکسی سیلین، ۳۱ ایزوله (۳۱٪) مقاوم به ایمی پنم، ۳۰ ایزوله (۳۰٪) مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۲۴ ایزوله (۲۴٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۱۶ ایزوله (۱۶٪) مقاوم به سفنازیدیم، ۱۰ ایزوله (۱۰٪) مقاوم به جنتامایسین بودند ولی هیچ کدام از ایزوله‌ها به نیتروفرانتوئین مقاومت نشان ندادند. اشریشیا کلی دارای مقاومت چندگانه (MDR) در ۳۱ ایزوله (۳۱٪) مورد مطالعه یافت شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تأییدی فنوتیپی سینرژی دو دیسک (DDT)، ۷۷ درصد از ایزول-های باکتریایی تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند. ۱۷ ایزوله حاوی ژن *blaCTX-M1* شناسایی شد. از ۱۷ ایزوله‌ای که دارای ژن *blaCTX-M-1* بودند، بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی سیلین (۹۴/۱۱٪) و کمترین مقاومت نسبت به جنتامایسین بود، در ضمن نسبت به نیتروفرانتوئین مقاومتی مشاهده نشد. از ۱۰۰ ایزوله آزمایشی اشریشیاکلی، ۱۰ ایزوله (۱۰٪) دارای ژن *blaCTX-M-1* و مقاوم به سفوتاکسیم بوده و ۶ ایزوله (۶٪) دارای ژن *blaCTX-M-1* به سفنازیدیم مقاومت نشان دادند.

جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای انجام PCR، ۸ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱۲ میکرولیتر PCR مسترمیکس، ۱ میکرولیتر Forward Primer، ۱ میکرولیتر Primer Reverse با ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده به ازاء هر نمونه مخلوط شده و به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. شایان ذکر است از Master Mix آماده استفاده گردید (۱۲). واکنش PCR طی ۴۰ سیکل تحت برنامه زمانی دستگاه ترموسایکلر شامل: مرحله واسرشته شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، مرحله واسرشته شدن (Denaturation) در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال (Annealing) در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله طولیل شدن (Extention) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله طولیل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. از باکتری کلبسیلا پنومونیه ATCC 7881 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ در حضور مارکر ۱۰۰ bp (تهیه شده از شرکت سیناژن) انجام شد و پس از رنگ-آمیزی با اتیدیوم بروماید نتایج با دستگاه gel document و با نور UV مشاهده و عکسبرداری شد.

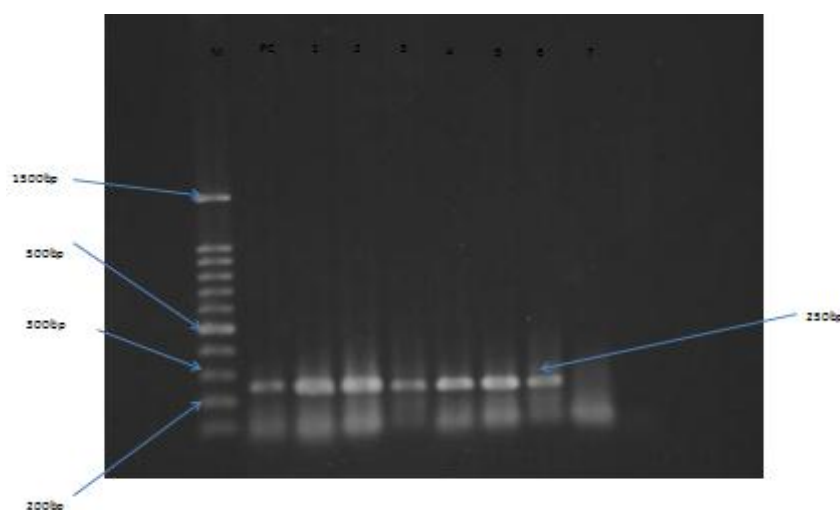
جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR (۱۳)

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی
Forward-CTX-M1	5'-CGTGGCGATGAATAAGCTG-3'
Reverse-CTX-M1	5'-GGTGGTATTGCCTTTTCATCC-3'

شکل ۱: نمایش افزایش هاله عدم رشد در ایزوله شماره ۳۲ *E. coli* با روش دیسک ترکیبی (Combined disk)

CTX: Cefotaxime, CAZ: Ceftazidime, CAZ+CV, Ceftazidime + Clavulanic acid; CTX+CV, Cefotaxime+ Clavulanic acid

L Pc 1 2 3 4 5 6 7



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{CTX-M1} (۲۵۱bp) در ژل آگارز ۱٪
PC: کنترل مثبت، ۱-۶: ایزوله‌های *E. coli* حاوی ژن bla_{CTX-M1} ، ۷: کنترل منفی

جدول ۲: میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *E. coli* حاوی ژن bla_{CTX-M1} به آنتی‌بیوتیک‌های آزمایشی

آنتی‌بیوتیک‌ها	تعداد ایزوله‌های مقاوم (R)	تعداد ایزوله‌های نیمه مقاوم (I)	تعداد ایزوله‌های حساس (S)
آموکسی‌سیلین	۱۶ (۹۴/۱۱)	۰	۱ (۰/۸۸)
ایمی‌پنم	۱۲ (۷۰/۵۱)	۱ (۰/۸۸)	۴ (۲۳/۵۲)
سفوتاکسیم	۱۰ (۵۸/۸۲)	۱ (۰/۸۸)	۶ (۳۵/۲۹)
سیپروفلوکساسین	۹ (۵۲/۹۴)	۰	۸ (۴۷/۰۵)
سفتازیدیم	۷ (۴۱/۱۷)	۲ (۱۱/۷۶)	۸ (۴۷/۰۵)
جنتامایسن	۳ (۱۷/۶۴)	۰	۱۴ (۸۲/۳۵)
نیتروفوراتوئین	۰	۰	۱۷ (۱۰۰)

بحث

پدیده مقاومت‌های دارویی بلافاصله پس از چند سال از مصرف انبوه آنتی‌بیوتیک‌ها در جوامع انسانی شناخته شده است و به صورت‌های مختلف تکی یا چند دارویی دیده می‌شود، سویه‌های ESBL نوع خاصی از مقاومت‌های دارویی را دارند که اولین بار در سال ۱۹۸۳ گزارش شدند (۱۴). ESBL‌ها مولکولهای بتالاکتامازی کلاس A و D می‌باشند که قادر به هیدرولیز اکسی‌ایمینوسفالوسپورین‌ها در اندازه‌های برابر یا ۱۰٪ بیشتر از بنزیل‌پنی‌سیلین‌ها هستند (۱۵). ژنهای بتالاکتامازی در باکتریها به ویژه ژنهای ESBL، یکی از عوامل موثر در افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از جمله سفالوسپورینهای وسیع‌الطیف است (۱۶). هیدرولیز داروهای بتالاکتام توسط بتالاکتامازها شایع‌ترین مکانیسم مقاومت باکتریهای گرم منفی است (۱۷). در سال ۲۰۰۶ در مصر براساس نتایج بررسیهای AL-Agamy و همکاران میزان مقاومت به سفتازیدیم ۳۸٪ بود (۱۸). در مطالعه‌ای که توسط Farshad و همکاران به منظور ارائه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری

صورت گرفت، مقاومت نمونه‌ها به کوتریماکسازول ۷۶٪، تراسایکلین ۷۰/۸٪، جنتامایسن ۱۵/۶٪، آمیکاسن ۳٪ و سیپروفلوکساسین ۸۳٪ گزارش شد و مقاومت نسبت به ایمی‌پنم مشاهده نشد (۱۹). Kiffer و همکاران در برزیل درصد سویه‌های مقاوم اشریشیاکلی جدا شده از بخشهای مختلف بیمارستان نسبت به سفوتاکسیم و سفتازیدیم را به ترتیب ۱۴/۶٪ و ۱۴/۶٪ گزارش کردند (۲۰). در مطالعه حاضر از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی که از نمونه‌های ادراری جدا شده بود. ۸۲ ایزوله (۸۲٪) مقاوم به آموکسی‌سیلین، ۳۱ ایزوله (۳۱٪) مقاوم به ایمی‌پنم، ۳۰ ایزوله (۳۰٪) مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۲۴ ایزوله (۲۴٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۱۶ ایزوله (۱۶٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۱۰ ایزوله (۱۰٪) مقاوم به جنتامایسن بودند، ولی هیچکدام از ایزوله‌ها به نیتروفوراتوئین مقاومت نشان ندادند.

عدم تطابق نتایج این بررسی با مطالعات ذکر شده می‌تواند به دلیل نوع نمونه‌های مورد بررسی و نوع دیسک آنتی‌بیوگرام باشد در مطالعه Hosseinzadegan و همکاران در خرم‌آباد در سال

کننده ESBL هستند، تست آنتی-بیوگرام صورت گرفته و طبق نتایج حاصل از آن آنتی-بیوتیک مناسب برای درمان تجویز گردد. همچنین لازم است از مصرف بی-رویه و خودسرانه آنتی-بیوتیکها خودداری گردد.

قدردانی

از مسئولین محترم گروه آموزشی میکروبی شناسی دانشکده پزشکی تبریز که در انجام این پژوهش یاری نمودند و همچنین از آقایان علی معماری و شهنازی که در آزمایشگاه موسسه عالی ربع رشیدی تبریز همکاریهای لازم را داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم. لازم به ذکر است که این مقاله بر گرفته از پایان-نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا نیک نفس باشد.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی شخصی بوده و از طرف خانم زهرا نیک نفس انجام شده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

زن ن، م ر ن و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده اند.

۱۳۸۶، ۲۱٪ از ایزوله‌های انتروباکتر ESBL مثبت گزارش شدند (۲۱). در مطالعه‌ای که Abubaker و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مصر انجام دادند، ۶٪/۷ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند (۲۲). در مطالعه‌ای دیگری که Abdallah و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مصر انجام دادند، ۹٪/۶۵ ایزوله‌ها را مولد ESBL گزارش کردند (۲۳). در مطالعه‌ای که Mazen و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام دادند، ۱۷٪/۳۳ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند (۲۴). در حالی که در این مطالعه ۷۷٪ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند که علت آن می‌تواند مصرف خودسرانه یا تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیکها بدون تست آنتی-بیوگرام باشد. در مطالعه حاضر ۱۷٪ ایزوله دارای ژن *blaCTX-M-1* بودند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط Abdallah و همکاران انجام شد، ۴۶٪/۲۳ ایزوله‌ها واجد ژن *blaCTX-M-1* بودند (۲۳). در مطالعه‌ای Su Wang و همکاران که در سال ۲۰۱۶ انجام شد، ۹۳٪/۴ ایزوله‌ها حاوی ژن *blaCTX-M* بودند (۲۵). در مطالعه حاضر میزان شیوع ESBL در اشریشیاکلی‌های آزمایشی ۷۷٪ بود که این تفاوت میان نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده ممکن است دلایل مختلفی داشته باشد، از جمله تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیکها در مناطق مختلف، تفاوت در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیکها یا تفاوت در زمان یا نوع نمونه‌های جمع-آوری شده آزمایشی.

نتیجه‌گیری

تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تهدید جدی برای مصرف آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع به شمار می‌رود، بنابراین باید در درمان عفونت‌هایی که مشکوک به حضور ارگانیزم‌های تولید

References

- Knothe H, Shah P, Kreméry V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; **11**: 315-317. doi:10.1007/BF01641355
- Bonnet R. Growing group of extended- spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 1-14. doi: 10.1128/AAC.48.1.1-14.2004
- Howard Ch, van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo Graeme Ph. M, Giffard P M. Identification and minisequencing-based discrimination of *SHV* beta-lactamases in nosocomial infection- associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**(3): 659-664. doi: 10.1128/AAC.46.3.659-664. 2002
- Tzouveleakis L S, Tzelepi E, Tassios P T, Legakis N J. CTX-M-type beta-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000; **14**: 137-142. doi: 10.1016/S0924-8579(99)00165-X
- Falagas M E, Karageorgopoulos D E. Extended-spectrum betalactamase- producing organisms. *J Hosp Infect* 2009; **73**: 345-354. doi: 10.1016/j.jhin.2009.02.021
- Mirzaee M, Pourmand M R, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-Type extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Iranian J Publ Health* 2009; **38**(1): 10-17.
- Lausova A, Bujdakova H, Kettner M. Beta-Lactam antibiotics mechanisms of action and resistance in Enterobacteriaceae. *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 1997; **46**(2): 73-80. doi: 10.1016/S0924-8579(98)00027-2
- Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E. The Genus *Enterobacter*. Prokaryotes, 3rd Edition. Springer, 2006:197-214. (ISBN: 978-0-387-25494-4 (Print) 978-0-387-30744-2 (Online))
- Tarshizi R, Zamanzad B, Mokhtarian K, Karimi A. Determination of CTX-M gene the intestinal bacteria ESBL producing PCR method. *Med Sci Shar Kord* 2011; **13**(3): 9-17.

10. Paterson D L, Bonomo R A. Extended-spectrum b-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**: 657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
11. Srisangkaew S, Vorachit M. The Optimum Agent for Screening and Confirmatory Tests for Extended-Spectrum Beta-Lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Ramathibodi Hospital, Thailand. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2004; **21**: 1-5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.12.004
12. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Strachounskin L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum betalactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* in Russian hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**: 3724-3732. doi: 10.1128/AAC.47.12.3724-3732.2003
13. Soltandlal M M, Mobseri G, Falahmehrabadi J, Eshragiyan M R, Rastegarlari A A, Molaagamirzaii H, et al. Identification resistance lactamase CTX-M-1 gene in *E. coli* isolated from clinical specimens. *Med Sci Tehran* 2011; **69**(1): 16-21.
14. Genat J, Sadegian A. Antimicrobial resistance in nosocomial infections. *Ear, Throat, Nose Iran J* 2001; **13**(27): 44-54
15. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouveleki LS. Emergence of an inhibitor-resistant beta-lactamases (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; **41**: 838-884.
16. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, Laurans G, Arlet G, Thien H, et al. Genetic Background of *Escherichia coli* and Extended-Spectrum Beta-Lactamase type. *Emerg Infect Dis* 2005; **11**(1): 54-61. (<https://wwwnc.cdc.gov/eid/>)
17. Boriello S P, Murray P R, Funke G. *Citrobacter*, *bsiella*, *Enterobacter*, *serratia*, and other Enterobacteriaceae. Topley & Wilson's 10th Edition. London, **Hodder Arnold**, 2005: 1474-1506. doi: 10.1002/9780470688618.taw0057
18. AL-Agamy M, Mohamed H, Mohamed A. EL-Din S. Wiegand, Irith, First description of CTX-M beta-lactamase-producing clinical *Escherichia coli* isolates from Egypt. *Jour International Antimicrobial Agents* 2006; **27**: 545-548. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.01.007)
19. Shohreh F, Ranjbar R, Anvarinejad M, Shahidi Maneli A, Hosseini M. Emergence of Multi Drug Resistant Strains of *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infection. *The Open Conference Proceedings Journal* 2010; **1**: 192-196. doi: 10.2174/22102892010010100192
20. Kiffer C, Hsiung A, Oplustil C, Sampaio J, Sakagami E, Turner Ph, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC Program Brazil 2003. *Braz J Infect Dis* 2005; **9**: 216-224.
21. Hosseinzadegan H, Hasani A, Azadpoor M, Soleimannezhad S, Mohamadi F. Identification of germ negative bacilli ESBL producing of bacteria isolated from clinical cases. *Laboratory Sciences J* 2007; **1**(2): 2-6.
22. Abubaker A. Abujnah Z, Zargani A, Sabri M, El-Mohammady Hanan A, Khalek R. Multidrug resistance and extended-spectrum-beta-lactamases genes among *E. coli* from patients with urinary tract infections in Northwestern Libya. *Libyan Journal of Medicine* 2015; **2**: 1-7. doi: 10.3402/ljm.v10.26412
23. Abdullah H M, Reuland E A, Wintermans B B, al Naiemi N, Koek A A, Abdelwahab M, et al. Extended-spectrum-beta-lactamases and/or Carbapenemases-producing Enterobacteriaceae Isolated from Retail Chicken Meat in Zagazig. *Egypt Journal Pone* 2015; **10**(137): 1-8. doi: 10.1371/journal.pone.0136052
24. Mazen A A, Bansal D, Acharya A, Asha A. Antimicrobial Susceptibility and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from intensive care units at Hamad Medical Corporation. *Qatar. Antimicrobiol Resistance and Infection Control* 2016; **5**(4): 2-6. doi: 10.1186/s13756-016-0103-x
25. Su Wang, Sheng-Yuan Zhao, Shu-Zhen Xiao, Fei-Fei Gu, Qing-Zhong Liu, Jin Tang, et al. Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of *E. coli* Causing Bloodstream Infections in Three Hospitals in Shanghai. *China Journal Pone* 2016; **10**(137): 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0147740