دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

شماره استاندارد بین المللی: ۷۵۹۵-۱۰۲۷
شماره استاندارد آن لاین: ۸۵۴x-۱۷۳۵

هفته‌نامه

سال سی و دوم/ شماره ۳۰۱/ هفته دوم آبان ۱۳۹۳

Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014

مقاله‌های پژوهشی

شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction ۱۴۶۶
رزیتا یوسفیان، دکتر وجیهه کرباسی‌زاده، دکتر شراره مقیم

بررسی اثر مصرف درشت مغذی‌ها بر ابتلا به پره‌دیابت در بستگان درجه‌ی اول مبتلایان به دیابت نوع ۲ ..... ۱۴۷۵
اکرم یزدانی، دکتر مرجان منصوریان، دکتر الهام فقیه ایمانی، مریم زارع، دکتر مسعود امینی

بررسی میزان شیوع موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak2FV در بیماران ایرانی با اختلالات میلوپرولیفراتیو فیلادلفیا منفی و ارتباط آن با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی ۱۴۸۷
عباس قوطاسلو، دکتر فاطمه نادعلی، دکتر بهرام چهاردولی، علی قاسمی، صادق عباسیان، کاظم غفاری، دکتر شهربانو رستمی

شناسایی یک پپتید جدید مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ استخراج شده از هیدرولیزات پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ ۱۴۹۶
مسعود همایونی تبریزی، دکتر احمد آسوده، دکتر محمدرضا عباس‌زادگان، دکتر خدیجه شاهرخ آبادی، دکتر محبوبه نخعی مقدم

مقاله مروری

مروری بر تکامل زبان و ژنتیک اختلالات تکلم ۱۵۰۹
سید محمد موسوی، الهه کمالی، پدیده کریمی، دکتر منصور صالحی

Original Articles

Identification and Frequency of Colistin-Resistant Acintobacter Baumanii in Clinical Isolates Using Polymerase Chain Reaction 1474
Rozita Yousefian, Vajihe Karbasizade PhD, Sharareh Moghim PhD

The Effects of Macronutrient Intake on the Risk of Pre-Diabetes in First-Degree Relatives of Patients with Type 2 Diabetes 1486
Akram Yazdani, Marjan Mansourian PhD, Elham Faghihimani MD, Maryam Zareh, Masoud Amini MD

Frequency of c-MPL and JAK2V617F Mutations in Iranian Patients with Philadelphia-Negative Myeloproliferative Disorders and its Association with Clinical and Laboratory Findings 1495
Abbas Ghotaslou MSc, Fatemeh Nadali PhD, Bahram Chahardouli PhD, Ali Ghasemi MSc, Sadegh Abbasian MSc, Kazem Ghaffari MSc, Shahrbanoo Rostami PhD

Identification New Angiotansin-1 Converting Enzyme Inhibitory Peptide from Ostrich Egg White Protein Hydrolysate 1508
Masoud Homayouni-Tabrizi, Ahmad Asoodeh PhD, Mohammad-Reza Abbaszadegan PhD, Khadijeh Shahrokhabadi PhD, Mahboobeh Nakhaie-Moghaddam PhD

Review Article

An Overview on the Evolution of Language and Genetics of Speech Disorders 1529
Seyyed Mohammad Mousavi MSc, Elaheh Kamali MSc, Padideh Karimi MSc, Mansoor Salehi PhD

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۰۱)، هفته دوم آبان ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی استان اصفهان

مدیر مسؤول: دکتر منصور شعله‌ور **سردبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی**

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱۱ **دورنگار:** ۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۶۶۸۶۳۰۲-۰۳۱۱

f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database (www.sid.ir)
- www.iranmedex.com

کپی‌رایت: چاپ مطالب مندرج در این مجله به شرط ذکر منبع مجله بلامانع است.

تصاویر رنگی مقالات و کلیپ‌های ویدئویی بر روی وب سایت مجله قابل دسترسی می‌باشند

اعضای شورای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان (به ترتیب حروف الفبا)

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر مجتبی ابطحی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر محمد اسماعیل اکبری	استاد، فوق تخصص جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، متخصص داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، آمریکا
۵- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- شاهین امامی	گروه بیوشیمی و غدد داخلی، بیمارستان سن آنتونیو، فرانسه
۷- دکتر علیرضا امامی	دانشیار، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	استادیار، متخصص روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	دانشیار، متخصص روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- فرزین پور فرزاد	گروه زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۴- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۵- دکتر احمد چیت‌ساز	دانشیار، متخصص داخلی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر مینا حسن رضایی	متخصص نورو ایمونولوی، دانشکده‌ی داروسازی، آمریکا
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خزاعی	دانشیار، متخصص فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۳- دکتر منصور شعله‌ور	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا صفوی	استادیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر خسرو عادلی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۲۶- دکتر سعید عندلیب	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لویس ویل، آمریکا
۲۷- دکتر غلامرضا عسکری	متخصص بیماری‌های پوستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر زیبا فرج‌زادگان	دانشیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر حمید فشارکی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر مرجانه فولادی	دکترای پرستاری، دانشگاه فلوریدا، آمریکا
۳۱- دکتر علی قیصری	استاد، فوق تخصص جراحی قلب، کالیفرنیا، امریکا
۳۲- دکتر منصور کارآموز	استاد، متخصص اورولوژی، کالیفرنیا، امریکا
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، فوق تخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	دانشیار، فوق تخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	دانشیار، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر هوشنگ معین	استاد، متخصص جراحی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر اتیه مغیثی	استاد، متخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، امریکا
۴۱- دکتر مجید ملکی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴۲- دکتر محمدرضا نوربخش	دانشیار، متخصص فیزیوتراپی، آمریکا
۴۳- دکتر فریدون نوحی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۴۴- دکتر علی محمد هنجنی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.

۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس http://www.journals.mui.ac.ir/jims و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.

۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A_4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه ، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد.
صفحه عنوان: این صفحه بایدشامل عنوان کامل،عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.

۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۵-۳ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html) استخراج گردند.

۷- **مقدمه و معرفی:** در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پرانتز ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد. در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.

۱۰- **بحث:** در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

۱۱- **تقدیر و تشکر:** تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند باید در این بخش مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند.

۱۲- **جدول‌ها:** تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جدول‌ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند.

۱۳- **شکل‌ها:** تعداد محدود شکل همراه ذکر عنوان آن در زیر شکل یا نمودار و با فرمت GIF و JPEG قابل قبول است. اطلاعات موجود در شکل‌ها یا نمودارها نباید به طور کاملاً مشابه در جدول‌ها و یا متن مقاله ذکر شده باشند.

۱۴- **منابع:** نویسنده باید از صحت اشاره منابع ذکر شده به مطالب مورد استناد مطمئن باشد. ساختار منابع در این مجله بر اساس Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Bio Medical Journals (ICMJE) و معاهده ونکوور (Vancouver) می‌باشد. تمامی منابع باید به زبان انگلیسی باشد، ترجمه متن منابع فارسی به عهده نویسنده است و در پایان آن عبارت [Persian] خواهد آمد. موارد ذیل برای نمونه ذکر می‌گردد:

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

نام خانوادگی نویسنده، حرف اول نام کوچک نویسنده، عنوان مقاله، مخفف نام مجله (بر اساس Medline)، سال انتشار، شماره‌ی انتشار، شماره‌ی مجله، شماره‌ی صفحات. مثال:

(EN): Inser N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cardiol 1987; 59(6): 314-7.

(FA): Zini F, Basiri Jahromo Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iranian journal of public health 1994; 1(4):89-103.[Persian].

(چنانچه تعداد نویسندگان ۶ نفر یا کم‌تر باشد، ذکر اسامی آن‌ها ضروری است. اگر تعداد آن‌ها ۷ نفر یا بیشتر باشد، پس از ۶ نفر، عبارت "et al." استفاده شود.)

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان). عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham’s manual. 15th ed. New York: Oxford Univ Press; 1987.p.43-5.

(FA): Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disorders in Iran. 2nd ed. Tehran: Eshtiagh Publication; 2000.p.558.[Persian].

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان) آن فصل. عنوان فصل مورد نظر. در: نام خانوادگی و حرف اول نام تدوین کننده‌ی کتاب. عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: نام ناشر؛ سال انتشار. p. صفحات. مثال:

(EN): Bodly L, Bailey Jr. Urinary tract infection. In: Tailor R, editor. Family medicine. 6th ed. New York: Springer; 2003.p. 807-13.

۱۵- **نمونه‌خوانی (Proofreading):** یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وب‌سایت مجله ارسال نماید.

۱۶- **اختصارات و نشانه‌ها:** تنها از اختصارات و نشانه‌های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارت های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

۱۷- توضیح کامل در مورد هر کدام از عبارت‌های اختصاری برای اولین بار در متن آورده شود، مگر این که مربوط به مقیاس‌ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد.

۱۸- پس از چاپ، یک نسخه از مجله برای نویسنده مسؤول ارسال خواهد شد.

۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.

۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.

۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.

۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.

۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction.....۱۴۶۶
رزیتا یوسفیان، دکتر وجیهه کرباسی‌زاده، دکتر شراره مقیم

بررسی اثر مصرف درشت مغذی‌ها بر ابتلا به پره‌دیابت در بستگان درجه‌ی اول مبتلایان به دیابت نوع ۲.....۱۴۷۵
اکرم یزدانی، دکتر مرجان منصوریان، دکتر الهام فقیه ایمانی، مریم زارع، دکتر مسعود امینی

بررسی میزان شیوع موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak۲FV در بیماران ایرانی با اختلالات میلوپرولیفراتیو فیلادلفیا منفی و ارتباط آن با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی.....۱۴۸۷
عباس قوطاسلو، دکتر فاطمه نادعلی، دکتر بهرام چهاردولی، علی قاسمی، صادق عباسیان، کاظم غفاری، دکتر شهربانو رستمی

شناسایی یک پپتید جدید مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ استخراج شده از هیدرولیزات پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ.....۱۴۹۶
مسعود همایونی تبریزی، دکتر احمد آسوده، دکتر محمدرضا عباس‌زادگان، دکتر خدیجه شاهرخ‌آبادی، دکتر محبوبه نخعی مقدم

مقاله مروری

مروری بر تکامل زبان و ژنتیک اختلالات تکلم.....۱۵۰۹
سید محمد موسوی، الهه کمالی، پدیده کریمی، دکتر منصور صالحی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۴

شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction

رزیتا یوسفیان[۱]، دکتر وجیهه کرباسی‌زاده[۲]، دکتر شراره مقیم[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین عوامل باکتریایی ایجاد کننده‌ی عفونت بیمارستانی رو به گسترش است. اسینتوباکتر بومانی (Acinetobacter baumannii) یکی از این عوامل است که مقاومت فزاینده‌ی آن به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل روبه‌رو ساخته است. هدف از این مطالعه، شناسایی Acinetobacter baumannii جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش PCR (Polymerase chain reaction) و تعیین فراوانی نسبی سویه‌های مقاوم به کلیستین بود.

روش‌ها: طی یک دوره‌ی ۷ ماهه، تعداد ۹۶ نمونه‌ی بالینی مورد بررسی قرار گرفتند. تمام جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی با آزمایش‌های بیوشیمیایی مرسوم و سپس با تکثیر ژن blaOXA-51 تعیین هویت شدند. جهت تعیین مقاومت فنوتیپیک جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک کلیستین، از روش کلنی اسکرینینگ استفاده شد و همچنین مقاومت سویه‌ها به طور کمی به روش Broth microdilution با تعیین میزان حداقل غلظت بازدارنده (MIC یا Minimum inhibitory concentration) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تعداد ۵۱ نمونه (۵۳/۱ درصد) از نظر فنوتیپیک به کلیستین مقاوم بودند و میزان MIC تعیین شده برای سویه‌های مقاوم بیش از ۱۲۸ µg/ml بود.

نتیجه‌گیری: فراوانی بالای ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در نمونه‌ها و میزان MIC فزون یافته‌ی آن‌ها، نشانگر تغییر الگوی مقاومت این سویه‌ها نسبت به کلیستین می‌باشد. بنابراین نظارت و دقت بیشتر بر تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با بهبود معیارهای کنترل عفونت در سیستم‌های بهداشتی برای جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم ضروری است.

واژگان کلیدی: Acinetobacter baumannii، کلیستین، عفونت بیمارستانی، Polymerase chain reaction

ارجاع: یوسفیان رزیتا، کرباسی‌زاده وجیهه، مقیم شراره. **شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۴۷۴-۱۴۶۶

مقدمه

Acinetobacter baumannii کوکوباسیل گرم منفی، پاتوژن فرصت طلب و عامل اصلی عفونت های بیمارستانی مانند پنومونی، منتژیت، عفونت‌های دستگاه ادراری و دستگاه تنفسی است. این باکتری همچنین در عفونت های ناشی از سوختگی و بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه درگیر می‌باشد. در سال های اخیر، همانند سایر نقاط جهان گزارش هایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شراره مقیم
Email: moghim@med.mui.ac.ir

مبنی بر مقاومت باکتری نسبت به عوامل آنتی بیوتیکی وسیع‌الطیف در ایران گزارش شده است (۲-۱).

یکی از عوامل درمانی مؤثر علیه این باکتری کلیستین است. کلیستین در آنتی‌بیوتیک‌های لیپوپپتیدی قرار دارد که پلی میکسین E نیز نامیده می‌شود. این آنتی‌بیوتیک نوعی پلی‌پپتید کاتیونی است که از یک دکاپپتید حلقوی تشکیل شده است و با پیوند آلفا آمیدی به یک آسیل چرب متصل شده است. این آنتی‌بیوتیک فعالیت ضد میکروبی خود را با دو مکانیسم نشان می دهد که شامل اتصال اولیه و نفوذ پذیری غشای خارجی است که توسط تثبیت مجدد غشای سیتوپلاسمی دنبال می شود. در حالی که مکانیسم دقیق کشتن باکتری هنوز به طور واضحی تعریف نشده است، نقطه ی بحرانی اول در عملکرد پلی میکسین واکنش الکترواستاتیک بین پپتیدهای دارای بار مثبت و لیپید A دارای بار منفی (محتوای اندوتوکسیک لیپو پلی‌ساکارید) است.

کلیستین طیف ضد میکروبی وسیعی روی بسیاری از باکتری‌های گرم منفی دارد و اغلب به عنوان یکی از آخرین آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر علیه سویه‌های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه استفاده می‌شود، اما در سال‌های اخیر، جدایه‌های کلینیکی مقاوم به کلیستین نیز گزارش شده اند. مقاومت به این آنتی‌بیوتیک می‌تواند ناشی از موتاسیون در یکی از سه ژن درگیر در مسیر سنتز لیپید A یعنی lpxA، lpxC و lpxD باشد و یا ناشی از حرکت توالی الحاقی ISAba۱۱ باشد که منجر به غیر فعال شدن ژن‌های درگیر در بیوسنتز لیپید A می‌شود و هر دو حالت، منجر به فقدان تشکیل کامل لیپو پلی ساکارید باکتری و مقاومت بالای آن به کلیستین می‌گردد (۴-۳).

از آنجایی که امکان انتقال المنت های مقاومت آنتی بیوتیکی بین باکتری ها به خصوص اسینتوباکتر بومانی به طور افقی وجود دارد (Horizontal gene transfer)، آگاهی از فراوانی سویه‌های مقاوم می‌تواند منجر به استفاده از روش‌هایی برای پیشگیری از انتشار آن ها در محیط های بیمارستانی و تجدید نظر در رژیم‌های درمانی رایج شود. از این رو، هدف از این مطالعه تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه نسبت به کلیستین بود.

روش‌ها

از اسفند ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ تعداد ۹۶ نمونه ی بالینی مشکوک به اسینتوباکتر بومانی از بیمارستان های مختلف شهر اصفهان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها ابتدا بر روی محیط کشت مک کانکی آگار (Merck) و بلاد آگار (Merck) تلقیح گردیدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ ^{o}C انکوبه شدند. جدایه‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش‌های بیوشیمیایی مرسوم همچون اکسیداز، کاتالاز، تخمیر هوازی گلوکز (Oxidative-fermentation)، سیترات و آزمایش تخمیر قندها تعیین هویت شدند.

با ردیابی و تکثیر ژن blaOXA-۵۱ به وسیله‌ی تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) گونه‌ی اسینتوباکتر بومانی تأیید شد. بدین منظور، ابتدا DNA باکتری با روش جوشاندن استخراج شد و با استفاده از توالی‌های پرایمری

Forward: ۵'-TAA TGG TTT GAT CGG CCT TG-۳'

Reverse: ۵'-TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG-۳'

این ژن با شرایط PCR به صورت زیر تکثیر گردید: واسرشت‌سازی اولیه در ^{o}C ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، ۲۵ سیکل برای واسرشت‌سازی در ^{o}C ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، اتصال در ^{o}C ۵۳ به مدت ۴۰ ثانیه، گسترش در ^{o}C ۷۲ به مدت ۵۰ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۶ دقیقه. سپس محصولات PCR به وسیله‌ی الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد حاوی DNA Green تفکیک شدند و با مقایسه با DNA ladder ۱۰۰ bp به عنوان نشانگر وزن مولکولی با استفاده از دستگاه Gel documentary ردیابی شدند (۵).

جهت بررسی مقاومت فنوتیپیک جدایه‌ها، از روش کلنی اسکرینینگ استفاده شد. در این روش، ابتدا محیط کشت مولر- هینتون آگار (Himedia) حاوی ۱۰ µg/ml از آنتی‌بیوتیک کلیستین (Sigma) تهیه شد. سپس سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ McFarland تهیه گردید. پس از تأیید کدورت با اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۳۰ nm، بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار (Himedia) به صورت جارویی تلقیح گردید و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ^{o}C ۳۷ رشد و یا عدم رشد نمونه‌ها بررسی شد (۳).

میزان حداقل غلظت بازدارنده (MIC یا Minimum inhibitory concentration) کلیستین برای سویه های مقاوم اسینتوباکتر بومانی به روش Broth microdilution تعیین شد. برای این منظور، سوسپانسیون میکروبی با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند در محیط کشت مولر- هینتون براث (Himedia) از کشت ۲۴ ساعته‌ی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی تهیه شد. محلول استوک با غلظت ۱۰ mg/ml از آنتی‌بیوتیک کلیستین تهیه شد و رقت های متوالی از آن تهیه گردید که پس از مخلوط شدن با سوسپانسیون میکروبی، غلظت‌های نهایی بین ۴-۱۲۸ µg/ml حاصل شد. ۵۰ µl از هر رقت به چاهک میکروپلیت استریل تلقیح و سپس ۵۰ µl از سوسپانسیون باکتری به آن اضافه شد.

بعد از هر بار تلقیح، سوسپانسیون حاصل ۸-۶ بار توسط سمپلر مخلوط گردید. جهت شاهد مثبت، ۱۰۰ µl از محیط مولر- هینتون براث حاوی سوسپانسیون میکروبی و برای شاهد منفی ۱۰۰ µl از محیط مولر- هینتون براث فاقد سوسپانسیون باکتری به چاهک های مجزا تلقیح شد. میکروپلیت به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در ^{o}C ۳۷ انکوبه شد. قبل و بعد از انکوباسیون، میکروپلیت در دستگاه الایزا گذاشته شد و میزان جذب چاهک ها قرائت و سپس جهت تعیین میزان MIC مقایسه گردید. مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به کلیستین بر حسب میزان MIC بر اساس استاندارد CLSI ۲۰۱۲ (Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین شد.

جهت تأیید مقادیر حداقل غلظت بازدارنده، ۵۰ µl از چاهک هایی که کدورتی در آن ها مشاهده نشده بود، به محیط کشت مولر- هینتون آگار تلقیح شد و به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای ^{o}C ۳۷ انکوبه شدند و رشد یا عدم رشد جدایه‌ها بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

یافته‌ها

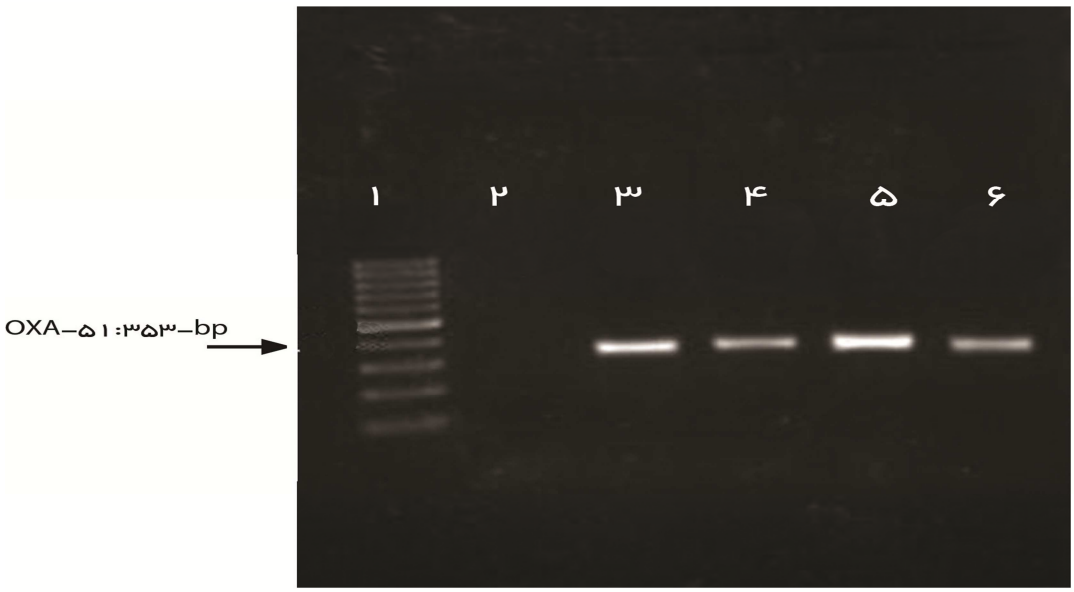
با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی از میان نمونه‌های مورد بررسی، جدایه های اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت،

سیترات مثبت و تخمیر هوازی گلوکز مثبت جدا شدند و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای ژن blaOXA-۵۱ انجام گرفت. نتایج حاصل از PCR نشان داد که blaOXA-۵۱ در تمامی ایزوله‌ها موجود بودکه این تأییدی بر انجام روش‌های فنوتیپی و جداسازی صحیح گونه‌ی Acinetobacter baumannii بود (شکل ۱).

از میان ۹۶ نمونه‌ی مورد بررسی، تعداد ۵۱ نمونه (۵۳/۱ درصد) از نظر فنوتیپیک به کلیستین مقاوم بودند. شکل ۲ پراکندگی سویه‌های مقاوم را به تفکیک نوع نمونه‌های بالینی نشان می‌دهد. آنالیزهای آماری نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی سویه‌های مقاوم در نمونه‌های بالینی وجود دارد. بر اساس نتایج این آزمون، فراوانی این سویه‌ها در زخم و کاتتر بیشتر و در سایر انواع نمونه‌ها کمتر بوده است ($P < ۰/۰۰۰۱$). شکل ۳، درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین را در بخش‌های مختلف بیمارستان نشان می‌دهد. مقاومت به کلیستین در میان سویه‌های اسینتوباکتر بومانی در بخش ICU (Intensive care unit) بیش از سایر بخش‌ها بود. درصد فراوانی سویه‌های مقاوم با MIC ≥ ۱۶ µg/ml، ۱/۵۳ درصد و فراوانی سویه‌های حساس با MIC ≤ ۱ µg/ml، ۹/۴۶ درصد بود.

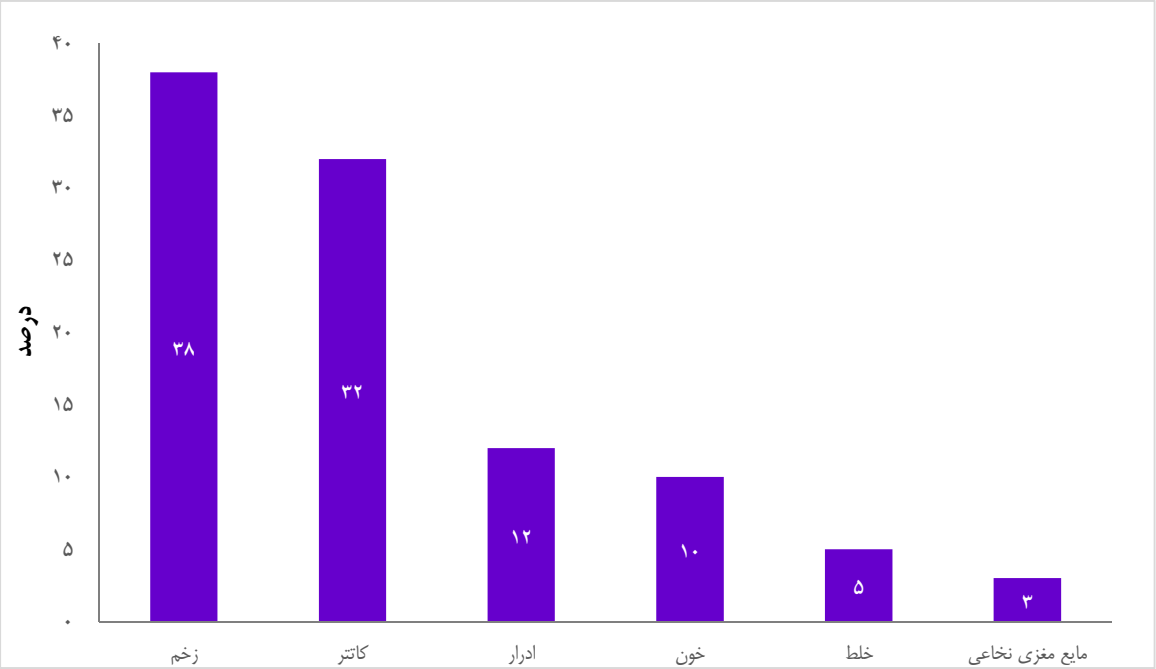
بحث

بر اساس یافته‌های این مطالعه، فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در حال افزایش است. سایر مطالعات صورت گرفته نیز گسترش سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک و مشکلات درمانی ناشی از آن را در ایران تأیید می‌کند. در مطالعه‌ی اردبیلی و همکاران، الگوی مقاومت سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از زخم بیماران بستری در بیمارستان سوختگی مطهری تهران نسبت به ۱۷ آنتی‌بیوتیک به روش Disk diffusion

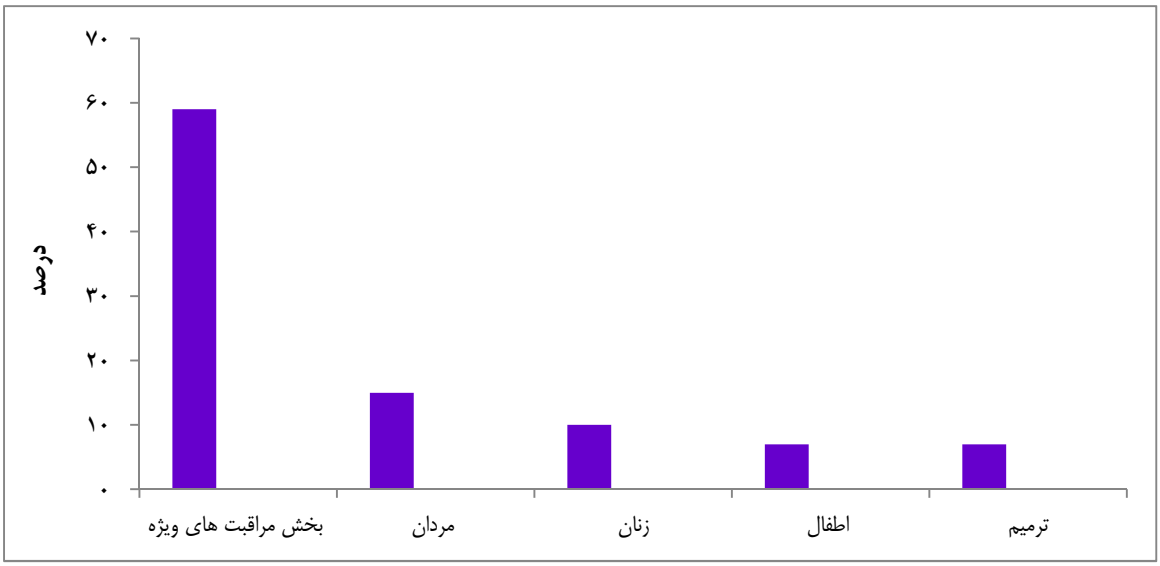


شکل ۱. PCR (Polymerase chain reaction) ژن blaOXA-۵۱

۱. نشانگر مولکولی bp ۱۰۰، ۲. شاهد منفی، ۳. شاهد مثبت، ۶-۴. نمونه‌های بالینی



شکل ۲. درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در نمونه‌های بالینی



شکل۳. درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین به تفکیک بخش‌های بیمارستان

مورد سنجش قرار گرفت و برای ۵ آنتی‌بیوتیک MIC انجام شد. ۹۴ درصد سویه‌های مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر MDR (Multi drug resistant) بودند (۶).

اختلاف زیادی در خصوص فراوانی سویه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین با مطالعات انجام شده وجود دارد. گودرزی و همکاران مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۲۴۳ نمونه ی اسینتوباکتر بومانی را نسبت

به ۱۹ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن بررسی کردند. تمامی نمونه‌ها نسبت به کلیستین و تایگه سایکلین حساس بودند؛ به همین دلیل، این دو آنتی‌بیوتیک را به عنوان دارویی مناسب برای درمان اسینتوباکتر بومانی مطرح کردند (۷).

در مطالعه‌ی دیگری، ۱۰۸ جدایه‌ی اسینتوباکتر بومانی از دو بیمارستان تهران جداسازی شدند و مقاومت ایزوله‌ها نسبت به کلیستین به روش Kirby-Bauer بررسی شد. ۱/۸درصد از ایزوله‌ها نسبت به کلیستین مقاومت نشان دادند (۸). اختلاف در این یافته ها با نتایج حاصل از پژوهش حاضر را می‌توان از یک سو به تفاوت در روش بررسی مقاومت سویه ها نسبت داد. دیسک دیفیوژن روش رایجی است که برای تعیین حساسیت جدایه ها نسبت به کلیستین به کار برده می‌شود؛ اما ارزیابی روش‌های تعیین حساسیت نسبت به کلیستین نشان داده است که روش‌های متنوع دیسک دیفیوژن در مقایسه با روش‌هایی مانند Broth microdilution که بر پایه‌ی تعیین MIC هستند، میزان خطای بالاتری دارند (۱۲-۹).

ارتباط زیادی بین آزمایش‌های Broth microdilution، E-test و Agar dilution ثابت شده است که نشان دهنده ی آن است که روش‌های بر پایه‌ی MIC باید به جای دیسک دیفیوژن جهت تعیین حساسیت نسبت به کلیستین استفاده شوند (۱۵-۱۳، ۱۱، ۹). از سوی دیگر، اختلاف در منطقه‌ی جغرافیایی که نمونه‌ها جداسازی شده‌اند، در الگوی مقاومت سویه‌ها نیز مؤثر است؛ بسته به این که در آن منطقه چه استراتژی درمانی به کار گرفته می‌شود. همان گونه که بهادر و همکاران ظهور مقاومت در سویه های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از سه بیمارستان در شمال، جنوب و مرکز ایران را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، تایگه سایکلین و کلیستین بررسی کردند و وابستگی ژنتیکی ایزوله ها را با تکنیک RFLP (Restriction fragment length polymorphism) تعیین و بر این اساس، ۹۱/۲ درصد ایزوله‌ها را در چهار کلاستر مجزا طبقه‌بندی نمودند. اما ۱۴/۲ درصد از ایزوله ها نسبت به کلیستین، مقاومت نشان دادند و ۹ درصد از ایزوله‌ها نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک انتخابی مقاوم بودند که اختلاف زیادی با نتایج حاصل از این پژوهش دارد (۱۶).

به هر حال، در توجیه این اختلافات علاوه بر موارد پیش گفته باید بر این نکته نیز اشاره نمود که نتایج حاصل از بررسی های اپیدمیولوژی در خصوص مقاومت آنتی بیوتیکی عوامل باکتریایی، همواره قابل پیش‌بینی نیست. برای مثال در یک مطالعه در تهران، فراوانی مقاومت در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به تایگه سایکلین ۹ درصد و در مطالعه‌ای دیگر در تهران صفر درصد تعیین شده است (۱۷، ۷). از آن جایی که در هر دو مطالعه، از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها استفاده شده است، این اختلاف نشان دهنده‌ی غیر قابل تکرار بودن و میزان بالای خطای این آزمایش است (۱۸).

Moffatt و همکاران با بررسی های مولکولی بر روی ایزوله های بالینی مقاوم به کلیستین نشان دادند که مقاومت، ناشی از موتاسیون در ژن‌های کد کننده‌ی لیپو پلی‌ساکارید این ایزوله‌ها می‌باشد و همچنین وجود یک توالی الحاقی ۸۷۳ جفت بازی را در یکی از این ژن‌ها یافتند. این توالی، بیان ترانسپوزاز و

ترانسپوزیسیون را فراهم می‌آورد؛ پدیده ای که در گذشته برای المنت ISAba۱ در اسینتوباکتر بومانی توصیف شده و در گسترش مقاومت به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر درگیر است (۳). از این رو فراوانی بالای سویه‌های مقاوم به کلیستین در این پژوهش، می‌تواند ناشی از پدیده‌هایی مثل ترانسپوزیسیون و انتقال افقی ژن‌های مقاومت بین ایزوله‌ها باشد؛ مسأله‌ای که اثبات آن نیازمند بررسی‌های ملکولی بر روی ایزوله‌ها است.

بالا بودن فراوانی سویه های مقاوم به کلیستین در این پژوهش، می‌تواند ناشی از افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک کلیستین در بیمارستان‌ها و انتشار مبین‌های مقاومت در بین عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی باشد. در مطالعه ای که در استرالیا بر روی سویه های اسینتوباکتر بومانی MDR انجام شد، مقاومت ناهمگون به کلیستین حتی در جدایه های بالینی که به ظاهر بر اساس MIC حساس بودند، مشاهده شد (۱۹). ردیابی چنین سویه‌هایی در نمونه‌های بالینی هشدار دهنده ی این مسأله است که اگر کلیستین یا کلیستین متانوسولفات به طور نامناسب به کار برده شوند، زمینه‌ی مهمی برای ظهور سویه‌های مقاوم و باعث عدم موفقیت درمان خواهد شد.

از آن جایی که از کلیستین به عنوان آخرین خط درمان استفاده می شود، افزایش مقاومت به آن، زنگ خطری را برای سیستم‌های بهداشتی به صدا در می‌آورد. از این رو به کارگیری رژیم‌های درمانی جدید و حساسیت بیشتر در تشخیص به موقع و کنترل عفونت‌های بیمارستانی، امری ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات و همکاری سرکار خانم ریحانه جعفری تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Karbasizade V, Heidari L. Antimicrobial resistance of acinetobacter baumannii isolated from intensive care units of Isfahan hospitals, Iran. J Isfahan Med Sch 2012; 30(191): 759-63. [In Persian].
2. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among Acinetobacter spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis 2008; 61(4): 274-8.
3. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in Acinetobacter baumannii is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(12): 4971-7.
4. Moffatt JH, Harper M, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Insertion sequence ISAba11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(6): 3022-4.
5. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol 2006; 44(8): 2974-6.
6. Ardebili A, Azimi A, Mohammadi-Barzelighi H, Owlia P, Beheshti M, Talebi M, et al. Determination of resistance pattern of isolated acinetobacter baumannii from hospitalized burned patients in Motahari Hospital, Tehran. J Zanjan Univ Med Sci 2012; 20(83): 112-9. [In Persian].
7. Goudarzi H, Goudarzi H, Goudarzi H, Goudarzi M. Assessment of antibiotic resistance pattern in Acinetobacter bumannii carrying bla oxA type genes isolated from hospitalized patients. Novel Biomed 2013; 1(2): 54-61.
8. Noori M, Karimi A, Fallah F, Hashemi A, Alimehr Sh, Goudarzi H, et al. High prevalence of metallo beta lactamase producing Acinetobacter baumannii isolated from two hospitals of Tehran Iran. Arch Pediatr Infect Dis

2014; 2(1): e15439.
9. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. J Clin Microbiol 2001; 39(1): 183-90.
10. Jones RN, Anderegg TR, Swenson JM. Quality control guidelines for testing gram-negative control strains with polymyxin B and colistin (polymyxin E) by standardized methods. J Clin Microbiol 2005; 43(2): 925-7.
11. Nicodemo AC, Araujo MR, Ruiz AS, Gales AC. In vitro susceptibility of Stenotrophomonas maltophilia isolates: comparison of disc diffusion, Etest and agar dilution methods. J Antimicrob Chemother 2004; 53(4): 604-8.
12. Tan TY, Ng LS. Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. J Antimicrob Chemother 2006; 58(4): 864-7.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth information supplement (M100-S15). Wayne, PA: CLSI; 2005.
14. Goldstein FW, Ly A, Kitzis MD. Comparison of Etest with agar dilution for testing the susceptibility of Pseudomonas aeruginosa and other multidrug-resistant bacteria to colistin. J Antimicrob Chemother 2007; 59(5): 1039-40.
15. Tan TY, Ng SY. The in-vitro activity of colistin in gram-negative bacteria. Singapore Med J 2006; 47(7): 621-4.
16. Bahador A, Taheri M, Pourakbari B, Hashemizadeh Z, Rostami H, Mansoori N, et al. Emergence of rifampicin, tigecycline, and colistin-resistant Acinetobacter baumannii in Iran; spreading of MDR strains of novel International Clone variants. Microb Drug Resist 2013; 19(5): 397-406.
17. Karmostaji A, Najar S, Salmanian A. Emergence of tigecycline resistant Acinetobacter baumannii from an intensive care unit (ICU) in Tehran. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6 (3): 215-9.
18. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederen BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant Enterobacter cloacae and Acinetobacter baumannii strains. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3726-30.
19. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(9): 2946-50.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 10.05.2014
Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014
Accepted: 15.09.2014

Identification and Frequency of Colistin-Resistant Acintobacter Baumanii in Clinical Isolates Using Polymerase Chain Reaction

Rozita Yousefian[1], Vajihe Karbasizade PhD[2], Sharareh Moghim PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Antibiotic resistance among bacterial agents causing nosocomial infections is increasing. Acinetobacter baumannii is one of these agents that its increasing resistance to commonly used antibiotics makes it difficult to treat such infections. The aim of this study was to identify Acinetobacter baumannii isolates from clinical specimens using polymerase chain reaction (PCR) method and to determine relative frequency of colistin-resistant isolates.

Methods: In a period of 7 months, 96 clinical specimens were isolated. All isolates were identified as Acinetobacter baumannii via standard biochemical tests and amplification of $bla_{oxa\text{-}51}$ gene. To determine phenotypic resistance of isolates toward colistin, colony screening method was used and also minimum inhibitory concentration (MIC) of colistin was determined via broth microdilution.

Findings: 51 isolates (53.1%) were resistant to colistin phenotypically and the minimum inhibitory concentration level for colistin resistant strains was more than 128 µg/ml.

Conclusion: Based on our findings, the relative frequency of colistin-resistant Acinetobacter baumannii isolates was high. Therefore, more supervision and controlled use of this antibiotic is necessary; more infection control measurements are necessary to be done.

Keywords: Acinetobacter baumannii, Colistin, Nosocomial infections, Polymerase Chain Reaction (PCR)

Citation: Yousefian R, Karbasizade V, Moghim Sh. **Identification and Frequency of Colistin-Resistant Acintobacter Baumanii in Clinical Isolates Using Polymerase Chain Reaction.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1466-74

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Sharareh Moghim PhD, Email: moghim@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۷

بررسی اثر مصرف درشت مغذی‌ها بر ابتلا به پره‌دیابت در بستگان درجه‌ی اول مبتلایان به دیابت نوع ۲

اکرم یزدانی[۱]، دکتر مرجان منصوریان[۲]، دکتر الهام فقیه ایمانی[۳]، مریم زارع[۳]، دکتر مسعود امینی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعات نشان داده‌اند که قبل از بروز دیابت نوع ۲، همواره یک دوره پره‌دیابت روی می‌دهد. اصلاح شیوه‌ی زندگی به منظور پیشگیری یا به تأخیر انداختن این دوره پیشنهاد شده است. عملکرد تغذیه‌ای از اجزای شیوه‌ی زندگی است. مصرف درشت مغذی‌ها می‌تواند بر روی متابولیسم چربی و گلوکز تأثیر بگذارد و از این طریق، موجب تغییرات افزایش مقاومت به انسولین شود.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر یک مطالعه‌ی هم‌گروهی ۹ ساله از بستگان درجه‌ی اول بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. اطلاعات تغذیه‌ای، عوامل خونی، شاخص‌های دموگرافیک و شاخص‌های آنتروپومتریک بیماران ثبت شد. برای بررسی ارتباط بین مصرف درشت مغذی‌ها و متغیر پاسخ وضعیت پره‌دیابت، از مدل شکنندگی در بقا استفاده گردید.

یافته‌ها: خطر تکرار پره‌دیابت در افراد با مصرف کربوهیدرات با حذف اثر سایر مخدوشگرها، به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (نسبت خطر = ۱/۰۴). همچنین خطر تکرار پره‌دیابت برای افرادی با چربی دریافتی بین ۳۵-۲۵ واحد، ۱/۵۲ بیشتر از افرادی با چربی دریافتی کمتر از ۲۵ واحد بود و خطر برای افراد با چربی دریافتی بیش از ۳۵ واحد، ۲/۲۲ بیشتر از افراد با چربی کمتر از ۲۵ بود. خطر تکرار پره‌دیابت در افراد مصرف کننده‌ی پروتئین نیز با تعدیل سایر متغیرهای مخدوشگر، به طور معنی‌داری افزایش یافت (نسبت خطر = ۱/۰۵).

نتیجه‌گیری: مصرف درشت مغذی‌ها می‌تواند بر روی متابولیسم چربی و گلوکز تأثیر بگذارد و از این طریق، موجب تغییرات افزایش مقاومت به انسولین شود. مصرف این عامل، از عوامل تأثیرگذار در کنترل تکرار وضعیت پره‌دیابت می‌باشد.

واژگان کلیدی: پروتئین، پره‌دیابت، چربی، درشت مغذی، کربوهیدرات، مدل‌بندی شکست

ارجاع: یزدانی اکرم، منصوریان مرجان، فقیه ایمانی الهام، زارع مریم، امینی مسعود. **بررسی اثر مصرف درشت مغذی‌ها بر ابتلا به پره‌دیابت در بستگان درجه‌ی اول مبتلایان به دیابت نوع ۲.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۴۸۶-۱۴۷۵

مقدمه

امروزه بیماری‌های مزمن یا غیر واگیر در رأس علل مرگ و میر در بسیاری از کشورهای جهان قرار دارند. بر اساس مطالعات، ۵۹ درصد کل مرگ‌های جهان و ۴۶ درصد بار جهانی بیماری‌ها، ناشی از بیماری‌های غیر واگیر است (۱).

دیابت نیز از گروه بیماری‌های مزمن، یک مشکل به شدت هزینه‌بر، پیچیده و ناتوان کننده

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مرجان منصوریان
Email: j_mansourian@hlth.mui.ac.ir

می‌باشد و به عنوان بزرگ‌ترین اپیدمی قرن شناخته شده است. دیابت نوع ۲، در میان گروه سنی بزرگسالان ۹۵-۹۰ درصد انواع دیابت را در آمریکا شامل می‌شود و نیز به عنوان هفتمین عامل مرگ و میر در این کشور با مرگ و میر حدود ۱۶۰ هزار مرگ در سال، شناخته شده است (۳-۲). تحقیقات بر روی شیوع دیابت نوع ۲ در جوامع و نژادهای مختلف نشان می‌دهند که ناحیه‌ی آسیای میانه به عنوان یکی از مراکز رشد اپیدمیک سریع این بیماری در جهان است (۴).

آمار منتشر شده در ایران بر حسب برآورد شیوع، نشان می‌دهد که قریب به ۴-۳ میلیون بیمار مبتلا به دیابت در حال حاضر در کشورمان وجود دارند که ۷/۳ درصد شیوع این بیماری، در افراد بالای ۳۰ سال است (۷-۵). بر اساس تعاریف بالینی، پره‌دیابت که از مراحل اولیه‌ی بیماری دیابت است، وضعیتی است که در آن اگر چه قند خون در محدوده‌ی طبیعی نیست، اما هنوز به حد دیابت هم نرسیده است. در این مرحله، بدن برای تنظیم قند خون مجبور به تولید انسولینی بیشتر از مقدار طبیعی است. در مرحله‌ی «پره‌دیابت» یا «قبل از دیابت»، قند خون ناشتا بین ۱۲۵-۱۰۰ mg/dl و یا دو ساعت بعد از آزمایش تحمل گلوکز با ۷۵ g گلوکز، قند خون بین ۱۹۹-۱۴۰ mg/dl می‌باشد (۸).

وضعیت پره‌دیابت بدون آن که به بیماری دیابت تبدیل شود، نیز خطر عوارضی مثل آسیب قلبی-عروقی را افزایش می‌دهد (۹). طبق برآورد انجمن بین‌المللی دیابت، ۷/۷ درصد از جمعیت عمومی ایران دچار عارضه‌ی پره‌دیابت هستند (۱۰). مطالعات بالینی نشان می‌دهد که عوارض مرتبط با دیابت، اغلب قبل از تشخیص بالینی بیماری ایجاد می‌گردند و بر این اساس، تشخیص دیابت در مراحل اولیه، بررسی مراحل قبل از بروز دیابت و شناسایی عوامل مؤثر بر آن، دارای اهمیت خاصی خواهد بود.

انجمن دیابت امریکا، عوامل خطر اصلی دیابت نوع ۲ را پیشینه‌ی خانوادگی دیابت (ابتلا به دیابت نوع ۲ در والدین، برادران یا خواهران)، چاقی (بیش از ۲۰ درصد وزن مطلوب)، سن برابر یا بیشتر از ۴۵ سال، پرفشاری خون، کلسترول HDL (High density lipoprotein) سرم برابر یا کمتر از ۳۵ mg/dl و یا تری‌گلیسیرید سرم برابر یا بالاتر از ۲۵۰ mg/dl و ... اعلام کرده است (۱۱).

از میان عوامل یاد شده، عوامل ژنتیکی نقش مهمی در بروز دیابت نوع ۲ دارند. میزان بروز همزمان دیابت نوع ۲ در دوقلوهای یکسان بین ۹۰-۷۰ درصد است. افرادی که یکی از والدین آن‌ها به این نوع دیابت مبتلا هستند، در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به دیابت قرار دارند و اگر هر دو والدین مبتلا باشند، خطر ابتلا برای فرزندان به ۴۰ درصد می‌رسد (۱۳-۱۲).

مطالعات نشان داده‌اند که اصلاح شیوه‌ی زندگی و استفاده از بعضی داروها در دوره‌ی ابتلا به پره‌دیابت، به منظور پیشگیری یا به تأخیر انداختن بروز دیابت نوع ۲ پیشنهاد شده است (۱۱).

یکی از مهم‌ترین اجزای شیوه‌ی زندگی، عملکرد تغذیه‌ای است که نوع ناسالم آن می‌تواند با مشارکت در افزایش وزن، سهم عمده‌ای در ابتلا به این بیماری داشته باشد. بر این اساس، مصرف چربی زیاد و مصرف بیش از حد کربوهیدرات‌های ساده می‌توانند از عادات غذایی نادرست مؤثر در افزایش قند خون

باشند. تحقیقات بر روی برنامه‌های پیشگیری از بیماری دیابت نوع ۲ نشان می‌دهند که مصرف درشت مغذی‌ها می‌تواند بر روی متابولیسم چربی و گلوکز تأثیر بگذارد و از این طریق، موجب افزایش مقاومت به انسولین شوند (۱۴).

درشت مغذی‌ها شامل کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها هستند که به آن‌ها مواد مغذی انرژی‌زا می‌گویند. مطالعه‌ی دیگری نشان می‌دهد که درشت مغذی‌ها از جمله چربی‌ها در تغییرات میزان انسولین تأثیر می‌گذارند و حتی چربی‌های غیر اشباع، ممکن است در بهبود وضعیت سیگنال‌های گیرنده‌ی انسولین مؤثر باشند (۱۵).

در تحقیقی بر روی ۱۵۱۴ مرد و ۱۵۲۸ زن یونانی مبتلا به دیابت و غیر مبتلا به آن، ارتباط معنی‌داری بین مصرف گوشت قرمز و چربی و مقاومت به انسولین و همچنین بین مصرف شیر کامل و سطح قند خون ارتباط مثبت معنی‌داری یافت شد (۱۶).

در مطالعه‌ی Parker و همکاران رژیم غذایی با کاهش پروتئین باعث کاهش وزن بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و خطرات حمله‌ی قلبی آن‌ها شد (۱۷). در مطالعه‌ی van Dam و همکاران بر روی ۴۲۵۰۴ مرد با سن ۷۵-۴۰ سال، مصرف کل چربی و چربی اشباع با خطر افزایش قند خون ارتباط داشت؛ اما بعد از حذف عواملی همانند شاخص توده‌ی بدنی، این ارتباط مشاهده نشد (۱۸).

در مطالعه‌ی Brehm و همکاران اثر رژیم پرکربوهیدرات در مدت یک سال بررسی شد. با وجود اختلاف در درشت مغذی‌ها، بهبودهایی بر حسب تغییر شاخص‌های آنتروپومتریک و یا شاخص‌های چربی و فشار خون در افراد دارای رژیم، مشاهده شد (۱۹).

در بسیاری از افراد مبتلا به پره‌دیابت، رعایت رژیم غذایی صحیح و میزان فعالیت بدنی می‌تواند در کنترل این بیماری و جلوگیری از ابتلا به مراحل پیشرفته‌تر (دیابت) نقش عمده‌ای را ایفا نماید. مشاهدات نشان داده‌اند که در بسیاری از موارد، وضعیت افراد تحت مطالعه به صورت بازگشتی میان وضعیت پره‌دیابت و سالم در حال تغییر است. بدین معنا که در یک زمان با رعایت رژیم غذایی و سایر دستوالعمل‌های مناسب، بیمار از پره‌دیابت به سالم تغییر وضعیت می‌دهد و بعد از گذشت زمان، دوباره به حالت پره‌دیابت باز می‌گردد و برخی در نهایت به بیماری دیابت مبتلا می‌شوند. شناخت تأثیر عملکرد تغذیه‌ای بر این نوسانات، دارای اهمیت ویژه‌ای است؛ چرا که شناخت این عوامل قابل کنترل، موجب می‌گردد تکرار وضعیت نامناسب و یا ابتلا به بیماری به نحوی کنترل گردد (۲۱-۲۰).

هدف از این مطالعه، شناسایی نحوه‌ی تأثیر مصرف درشت مغذی‌ها بر زمان ابتلا به پره‌دیابت به عنوان حوادث بازگشتی با استفاده از یک روش پیشرفته‌ی آماری بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر بر اساس تحلیل داده‌های حاصل از یک مطالعه‌ی هم‌گروهی ۹ ساله بود که در مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم اصفهان انجام شد. مطالعه‌ی پیش‌گفته در راستای پیشگیری از شیوع بالاتر و عوارض نامطلوب دیابت بود. داده‌های مورد مطالعه از اطلاعات ۱۰۱۶ نفر (۸۲۵ زن و ۱۹۱ مرد)

از بستگان درجه‌ی اول بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ که به درمانگاه‌های مرکز غدد و متابولیسم اصفهان مراجعه نموده بودند، تأمین گردید.

از تمامی افراد مورد مطالعه، به صورت ناشتا آزمایش تحمل گلوکز خوراکی با ۷۵ g گلوکز انجام شد. سپس نمونه‌های خون در فواصل ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از مصرف محلول گلوکز از آن‌ها گرفته شد. سطح گلوکز خون با استفاده از روش هگزوکیناز تعیین گردید. بر اساس این نتایج، افراد با توجه به معیار American Diabetes Association به دو دسته‌ی دیابت و پره‌دیابت تقسیم‌بندی شدند.

از افراد خواسته شد از فعالیت سنگین در روز قبل و صبح روز آزمایش و همچنین استعمال سیگار خودداری کنند. شرکت کنندگان در مطالعه، در صورت وجود سابقه‌ی مصرف مواد مخدر، سیگار، مشروبات الکلی و استفاده‌ی اخیر از داروهای مؤثر بر متابولیسم قند خون (مانند MAO inhibitors یا Monoamine oxidase Inhibitors، کورتیکو استروئیدها، سایمتیدین، OPCs، NSAIDs یا Nonsteroidal anti-inflammatory drugs و غیره) از مطالعه حذف می‌گردیدند.

اطلاعات مربوط به سوابق خانوادگی افراد شرکت کننده در قالب پرسش‌نامه پرسیده شده است. همچنین آزمایش‌های تری‌گلیسترید (TG یا Triglyceride)، کلسترول (HDL یا High density lipoprotein و LDL یا Low density lipoprotein) و HbA۱c (Glycated hemoglobin۱) (بعد از ۱۲ ساعت ناشتا) انجام شده است. به جز آزمایش‌های HbA۱c، LDL مابقی آزمایش‌ها با روش آنزیماتیک و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل لایسیس (ایتالیا) انجام شده است. قند درازمدت با روش کروماتوگرافی یونی و با استفاده از دستگاه DS۵ (انگلستان) و LDL با استفاده از فرمول Fried Wald محاسبه گردیده است. جمع‌آوری داده به وسیله‌ی کارشناسان تغذیه‌ی آموزش دیده از طریق آموزش‌های فردی و گروهی انجام شد و پس از تحویل فرم ثبت غذایی به شرکت کنندگان، تکمیل پرسش‌نامه توسط خود افراد صورت گرفت.

جهت ارزیابی متغیرهای مرتبط با وزن‌سنجی، افراد با حداقل پوشش و بدون کفش با استفاده از ترازوی سکا (Seca) با دقت ۱۰۰ g مورد بررسی قرار گرفتند. قد افراد با استفاده از متر سکا در حالت ایستاده در شرایط عادی و بدون کفش اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری دور کمر بین آخرین دنده و سر ایلیاک که ست و اندازه‌گیری دور باسن در برجسته‌ترین ناحیه با استفاده از متر نواری غیر قابل ارتجاع و بدون وارد کردن هر گونه فشار به بدن و با دقت ۰/۱ cm انجام می‌گردد. فشار خون در حالت نشسته بعد از چند دقیقه استراحت از بازوی راست افراد با استفاده از فشارسنج عقربه‌ای استاندارد توسط کارشناس آموزش دیده اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری فشار خون از افراد در مورد مصرف چای، قهوه، فعالیت بدنی و پر بودن مثانه سؤال می‌شد.

در این مطالعه، متغیر پاسخ تکرار پیشامد پره‌دیابت در طی دوره‌ی پیگیری و متغیرهای توضیحی بررسی شده، شامل پروتئین و کربوهیدرات دریافتی از مواد غذایی مصرف شده (درصدی از کل انرژی دریافتی)، چربی و یک مجموعه‌ی گسترده‌ای از متغیرهای مخدوشگر بودند. متغیرهای مخدوشگر شامل سن به صورت طبقه‌بندی (کمتر از ۴۰ سال، ۵۰-۴۰ سال و

بیشتر از ۵۰ سال)، جنس، اضافه وزن (شاخص توده‌ی بدنی بیشتر از ۲۵ kg/m^2)، نسبت دور کمر به دور باسن (بیشتر از ۰/۹۵ برای مردان و بیشتر از ۰/۸ برای زنان)، HDL، تری‌گلیسترید، کلسترول کل، فشار خون بالای ۸۵/۱۳۰ mmHg و فیبر دریافتی پایین (کمتر از ۱۷ درصد کل انرژی دریافتی) بودند.

ابتلا به دیابت، بارداری و بیماری‌های زمینه‌ای دیگر، معیارهای خروج افراد از مطالعه بودند. هدف از انجام این مطالعه‌ی بالینی، پیگیری بیماران تا وقوع پره‌دیابت‌های متوالی بود. سایر متغیرها شامل سن و سابقه‌ی پزشکی به وسیله‌ی پرسش‌نامه ثبت گردید.

تحلیل توصیفی داده‌ها با میانگین ± انحراف استاندارد برای داده‌های پیوسته و درصد فراوانی برای داده‌های کیفی گزارش شده است. جهت بررسی ارتباط بین مصرف درشت مغذی‌ها و متغیر پاسخ (تکرار پره‌دیابت) از مدل‌های شکست که گسترش یافته‌ی مدل خطرات متناسب کاکس در تحلیل بقا است، استفاده شد. در این نوع مدل‌بندی، اثر متغیرهای سن، جنس، شاخص‌های آنتروپومتریک، فشار خون و پروفایل چربی بر حسب آزمایش‌های بالینی انجام شده، از تحلیل‌ها حذف گردید.

عامل شکنندگی در این نوع مدل‌بندی، اغلب بیان کننده‌ی اثر تصادفی، ارتباط و پراکندگی مشاهده نشده در داده‌های بقا است. در مدل‌های شکنندگی، با در نظر گرفتن توزیعی برای شکنندگی، پراکندگی در برآوردها لحاظ می‌شود. برای شکنندگی توزیع‌های مختلفی در نظر گرفته و فرض می‌شود که شکنندگی‌ها مستقل و هم‌توزیع هستند. به دلیل این که خطرات به طور الزامی بایستی مثبت باشند، توزیعی که برای شکنندگی انتخاب می‌شود نیز اغلب از بین توزیع‌هایی است که همواره مقادیر مثبت را اختیار می‌کنند (۲۲).

با توجه به توجیه‌پذیر بودن نتایج بالینی، در دسترس بودن اطلاعات مربوط به شکنندگی، برقرار بودن مفروضات مورد نیاز و اهمیت کاربرد مدل معرفی شده از مدل شکنندگی مشترک با روش برآوردیابی تابع درست‌نمایی تاوانیده (Penalized likelihood) استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های این مطالعه به وسیله‌ی بسته‌ی نرم‌افزاری R-۲/۱۵/۱ و با استفاده از بسته‌ی Frailtypack صورت گرفت و نتایج تحلیل، به صورت نسبت خطر و با فاصله اطمینان ۹۵ درصد گزارش شد.

یافته‌ها

در این تحقیق، ۱۰۱۶ نفر از فامیل درجه‌ی یک بیماران دیابت نوع ۲ (۸۱/۳ درصد زنان بین سنین ۷۲-۲۱ سال) مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی شرکت کنندگان ۶/۳ ± ۴۳/۵ سال بود. ۷۲/۶ درصد شرکت کنندگان ۳ مرتبه یا بیشتر و ۴۱/۵ درصد افراد ۴ تا ۷ مرتبه مورد بررسی قرار گرفتند. به طور کلی، ۴۴۸۹ مرتبه افراد مورد مطالعه پیگیری شدند. نسبت پاسخگویی شرکت کنندگان این مطالعه به آزمون‌ها طی ۹ سال پیگیری بین ۴۰-۳۰ درصد است و یک شخص ممکن است چندین پیشامد پره دیابت داشته باشد. در جدول ۱، تعداد پیشامدهای پره‌دیابت و تعداد کل شرکت کنندگان آمده است. وضعیت پره‌دیابت برای ۵۸۴ نفر (۵۷/۵ درصد) یک بار و برای ۱۲۹ نفر (۱۲/۷ درصد) دو بار و برای ۱۸ نفر (۱/۸ درصد) سه مرتبه رخ داده بود. ۲۸۵ نفر

(۲۸ درصد) نیز هیچ وضعیت پره‌دیابتی را تجربه نکرده بودند. ۸۵/۱ درصد افراد، شاخص توده‌ی بدنی بالای kg/m^2 ۲۵ و ۴۷/۷ درصد نسبت دور کمر به دور باسن بیش از ۰/۹۵ در مردان و ۰/۸ در زنان، ۹۱/۶ درصد فشار خون بالای ۸۵/۱۳۰ داشتند. مشخصات اولیه‌ی دموگرافیک و اطلاعات مربوط به اجزای تغذیه‌ای شرکت کنندگان در جدول ۲ آمده است.

میانگین بین کشف اولین پره‌دیابت و دومین پره‌دیابت ۱/۶ ± ۲/۶ سال و بین اولین تکرار و دومین تکرار رخداد پره‌دیابت، ۰/۶۸ ± ۲/۲۵ سال بود.

جدول ۱. فراوانی بیماران مبتلا به پره‌دیابت بر حسب تعداد موارد بازگشت

تعداد تکرار پره‌دیابت	تعداد بیماران	درصد
۰ (بدون پره‌دیابت)	۲۸۵	۲۸/۰
۱	۵۸۴	۵۷/۵
۲	۱۲۹	۱۲/۷
۳	۱۸	۱/۸
کل	۱۰۱۶	۱۰۰

جدول ۲. آماره‌های توصیفی عوامل دموگرافیک، شاخص‌های خونی و اجزای عملکرد غذایی شرکت کنندگان فامیل درجه‌ی اول افراد مبتلا به دیابت

متغیر		فراوانی (درصد)
جنس	زن	۸۲۵ (۸۱/۲)
	مرد	۱۹۱ (۱۸/۸)
سن (سال)	≤ ۴۰	۳۸۲ (۳۷/۶)
	۴۰–۵۰	۱۵۸ (۱۵/۶)
	> ۵۰	۴۷۶ (۴۸/۹)
شاخص توده‌ی بدنی (kg/m^2)	≤ ۲۵	۱۵۱ (۱۴/۹)
	> ۲۵	۸۶۵ (۸۵/۱)
نسبت دور کمر به دور باسن	پایین	۱۵۱ (۱۴/۹)
	بالا (بالاتر از ۰/۹۵ برای مردان و ۰/۸ برای زنان)	۸۶۵ (۸۵/۱)
فشار خون (mmHg)	بالا (> ۱۳۰/۸۵)	۸۵ (۸/۴)
	پایین	۹۳۱ (۹۱/۶)
فیبر	بالا (بیشتر از ۱۷ درصد کل انرژی دریافتی)	۳۹۱ (۳۸/۵)
	پایین	۶۲۵ (۶۱/۵)
چربی	≤ ۲۵ واحد	۳۰۲ (۲۹/۷)
	۲۵–۳۵ واحد	۵۵۵ (۵۴/۶)
	≥ ۳۵ واحد	۱۵۹ (۱۵/۶)
کلسترول (خوب، HDL) (میانگین ± انحراف معیار)		۱/۱۷ ± ۰/۳۰
تری گلیسرید (میانگین ± انحراف معیار)		۱/۱۰ ± ۱/۹۰
کلسترول کل (میانگین ± انحراف معیار)		۵/۲۰ ± ۱/۰۰
پروتئین (میانگین ± انحراف معیار)		۱۵/۰۰ ± ۲/۹۰
کربوهیدرات (میانگین ± انحراف معیار)		۵۹/۹۰ ± ۷/۱۰

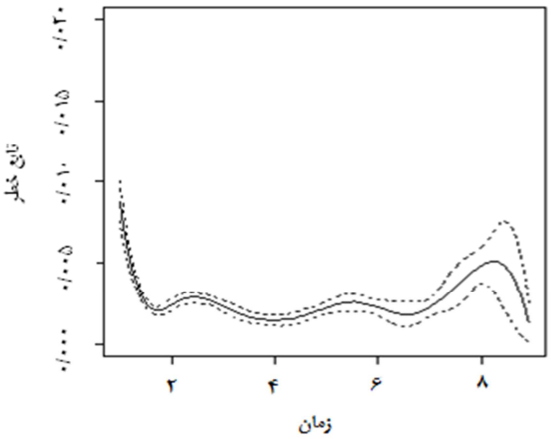
جدول ۳. نتایج مدل‌بندی شکست با و بدون حذف متغیرهای مخدوشگر در بررسی اثر مصرف انواع درشت مغذی‌ها در بازگشت وضعیت پره‌دیابت

متغیر	مدل ۱			مدل ۲		
	نسبت خطر	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	مقدار P	نسبت خطر	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	مقدار P
چربی						
≤۲۵	۱/۰۰	گروه پایه	–	۱/۰۰	–	–
۲۵–۳۵	۱/۵۲	۱/۲۷–۱/۸۲	<۰/۰۰۰۱	۲/۳۷	۱/۳۳–۱/۸۶	<۰/۰۰۰۱
≥۳۵	۲/۲۲	۱/۶۶–۲/۹۹	<۰/۰۰۰۱	۱/۵۷	۱/۸۲–۳/۰۹	<۰/۰۰۰۱
پروتئین	۱/۰۵	۱/۰۳–۱/۰۸	<۰/۰۰۰۱	۱/۰۶	۱/۰۴–۱/۰۸	<۰/۰۰۰۱
کربوهیدرات	۱/۰۴	۱/۰۳–۱/۰۶	<۰/۰۰۰۱	۱/۰۵	۱/۰۴–۱/۰۶	<۰/۰۰۰۱

مدل ۱. تعدیل شده با اثر متغیرهای مخدوشگر شامل سن به صورت طبقه‌بندی (کمتر از ۴۰ سال، ۵۰–۴۰ سال و بیشتر از ۵۰ سال)، جنس، اضافه وزن (شاخص توده‌ی بدنی بیشتر از ۲۵ kg/m^2)، نسبت دور کمر به دور باسن (بیشتر از ۰/۹۵ برای مردان و بیشتر از ۰/۸ برای زنان)، HDL (High density lipoprptein)، تری‌گلیسترید، کلسترول کل، فشار خون بالای ۸۵/۱۳۰ mmHg و فیبر دریافتی پایین (کمتر از ۱۷ درصد کل انرژی دریافتی) می‌باشد. مدل ۲. این مدل با اثر متغیرهای مخدوشگر تعدیل نشده است.

جدول ۳ نتایج مدل‌بندی شکست را بر حسب عوامل معنی‌دار نشان می‌دهد. خطر تکرار پره‌دیابت در افراد با مصرف کربوهیدرات تعدیل شده با دیگر متغیرها، به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (نسبت خطر = ۱/۰۴، فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱/۰۶–۱/۰۳). همچنین خطر تکرار پره‌دیابت برای افرادی با چربی دریافتی بین ۳۵–۲۵ واحد، ۱/۵۲ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱/۸۳–۱/۲۷) بیشتر از افرادی با چربی دریافتی کمتر از ۲۵ واحد است و خطر برای افراد با چربی دریافتی بیش از ۳۵ واحد، ۲/۲۲ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۳/۰۷–۱/۶۶) بیشتر از افراد با چربی کمتر از ۲۵ است. خطر تکرار پره‌دیابت در افراد با مصرف پروتئین نیز با تعدیل سایر متغیرهای مخدوشگر، به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (نسبت خطر = ۱/۰۵، فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱/۰۸–۱/۰۲).

شکل ۱ نمودار تابع خطر تکرار رخداد پره‌دیابت را نشان می‌دهد که بیان کننده‌ی افزایش خطر رخداد پره‌دیابت در تکرارهای بالاتر است.



شکل ۱. نمودار تابع خطر تکرار رخداد پره‌دیابت در ۹ سال بررسی مطالعه‌ی هم‌گروهی بر روی افراد فامیل درجه‌ی اول بیماران مبتلا به دیابت

بحث

در این مطالعه، اثر مصرف درشت مغذی‌ها در تکرار پیشامد پره‌دیابت در فامیل درجه‌ی یک افراد مبتلا به دیابت مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات بسیاری، ژن‌های مستعد پیچیده و اثر متقابل بین ژنتیک و عوامل محیطی را عوامل بروز بیماری دیابت نوع ۲ پیشنهاد داده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند خطر ابتلا به دیابت و پره‌دیابت در افرادی که یک فامیل

درجه‌ی یک مبتلا به دیابت دارند، ۴۰ درصد بیشتر از افراد طبیعی است (۲۳).

نتایج کارآزمایی‌های بزرگ کنترل شده نشان داده‌اند که تغییرات برنامه‌های سبک زندگی برای افراد مبتلا به پره‌دیابت، اثر مثبت معنی‌داری روی متغیرهای مختلف دارد (۲۴-۲۰) و تعدیل در سبک زندگی در اجتناب از پره‌دیابت و چاقی در بزرگسالان پرخطر با پره‌دیابت مؤثر است. اگر چه نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابه نتایج دیگر مطالعات است، اما بر اساس بررسی‌های اولیه، مطالعه‌ی حاضر اولین مطالعه‌ای بود که اثر مصرف درشت مغذی‌ها را بر روی خطر تکرار پره‌دیابت با حذف اثر مخدوشگرهای احتمالی مورد بررسی قرار داد.

بر اساس یافته‌ها، ارتباط بسیار قوی بین چربی کل دریافتی و خطر تکرار پره‌دیابت بعد از تعدیل سایر متغیرها مشاهده شد. یک رژیم غذایی محدود شده در مصرف چربی به طور بالقوه برای مختل کردن مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به پره‌دیابت مؤثر است. علاوه بر مقدار چربی که بر خطر ابتلا به افزایش وزن بدن می‌افزاید، همچنین کیفیت چربی یک عامل عمده برای افزایش خطر بروز پره‌دیابت و ابتلا به دیابت است (۲۵).

بررسی اثر مصرف چربی‌ها از آن جهت که قادرند بر متابولیسم گلوکز با تغییر عملکرد غشای سلولی، فعالیت آنزیمی، سیگنالینگ انسولین و بیان ژن اثرگذار باشند، همواره مورد توجه بوده است (۲۵). یک مطالعه‌ی مقطعی نشان می‌دهد که ارتباط معکوسی بین اسید چرب اشباع نشده‌ی دریافتی و ارتباط مستقیمی بین اسید چرب اشباع شده با غلظت انسولین وجود دارد (۲۶).

در دو مطالعه‌ی گذشته‌نگر، یکی با ۱۲ سال پیگیری از ۱۴۶۲ زن در سوئد (۲۷) و دیگری با ۲۵ سال پیگیری از ۸۴۱ مرد در سوئیس (۲۸)، ارتباط مؤثری میان خطر افزایش قند خون و نوع خاصی از چربی مشاهده نشده است. تناقض نتایج این مطالعات با مطالعه‌ی حاضر را می‌توان به حجم نمونه‌های کوچک و یا در نظر نگرفتن سایر عوامل مخدوشگر در این مطالعات نسبت داد.

نتیجه‌ی دیگر مطالعه‌ی حاضر، دلالت بر ارتباط قوی میان کربوهیدرات و پروتئین مصرفی و خطر تکرار پره‌دیابت دارد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند اگر چه میزان پروتئین در رژیم غذایی میزان قند خون را افزایش نمی‌دهد، اما موجب تحریک ترشح انسولین می‌گردد. اختلال در سوخت و ساز پروتئین که ممکن است با کمبود انسولین و مقاومت به انسولین ایجاد شود، به طور معمول با کنترل خوب قند خون اصلاح می‌گردد (۲۵).

معیار تعیین میزان مصرف پروتئین در بیماران مبتلا به پره‌دیابت، نحوه‌ی عملکرد کلیه است. در حقیقت در افراد بدون نفروپاتی، هیچ مدرکی برای کاهش مصرف پروتئین (۲۰-۱۵ درصد کل انرژی مربوط به g/kg ۲-۱ وزن بدن) وجود ندارد. با این حال، محدودیت پروتئین ممکن است اثر مثبتی بر دفع آلبومین ادرار و میزان فیلتراسیون گلومرولی در بیماران مبتلا به نفروپاتی اولیه و یا آشکار داشته باشد. مطالعات انجام‌شده با هدف بررسی اثر درشت مغذی‌ها در افراد مبتلا به پره‌دیابت، همواره نتایج متناقضی را نشان داده‌اند. در بعضی از مطالعات، نبود گروه شاهد در تغییر همزمان مصرف درشت مغذی‌ها، تفسیر داده‌ها را مشکل می‌کند.

Samaha و همکاران در مطالعه‌ی خود نشان دادند که حساسیت به انسولین در افرادی با رژیم غذایی کم کربوهیدرات نسبت به افرادی که رژیم کم چرب مصرف نموده‌اند، بهبود بیشتری یافته است (۲۹). در سال‌های اخیر، مطالعات محدودی گزارش داده‌اند که تغییر در سطح قند خون پس از صرف غذاهای حاوی چربی و پروتئین در بیماران مبتلا به پره‌دیابت و دیابت مشابه تغییر سطح قند خون افراد سالم مشاهده شده است. مقدار توصیه شده‌ی دریافت کربوهیدرات نیز بر اساس محدودیت‌های دریافت پروتئین و چربی کل است. یک رژیم کم کربوهیدرات برای کنترل متابولیک پره‌دیابت و همچنین برای کاهش وزن مناسب است. برعکس، این ایده که رژیم غذایی بسیار کم کربوهیدرات (کمتر از ۴۵ درصد انرژی کل) دارای مزایای بلند مدت برای کنترل قند خون است، از نظر علمی بی‌اساس است (۳۱-۳۰).

Simpson و همکاران دریافتند که در کنترل قند خون و وزن بدن ۱۶بیمار چاق مبتلا به دیابت که بیش از شش ماه رژیم غذایی کم کربوهیدرات داشتند، نسبت به ۱۵ بیمار مبتلا به دیابت که رژیم غذایی معمولی خود را رعایت می‌کردند، بهبود قابل توجهی حاصل شد (۳۲).

طی مطالعه‌ای با پیگیری ۱۰ ساله‌ی افراد سالم بزرگسال که در هلند انجام گرفته است، نتایج نشان داده‌اند ارتباط رژیم غذایی با خطر افزایش قند خون مورد بررسی قرار گرفت. طی این مطالعه مشخص شد که دریافت بالای کربوهیدرات با خطر افزایش قند خون ارتباط دارد. در حقیقت، می‌توان به این مطلب اشاره نمود که هم کیفیت و هم کمیت کربوهیدرات‌ها عوامل مهمی در افزایش قند خون می‌باشند. چندین کارآزمایی بالینی و متاآنالیز، اثر رژیم غذایی با کربوهیدرات بالا و طبیعی را روی کنترل قند خون در بیماران مبتلا به پره‌دیابت و دیابت بررسی کرده‌اند. در چهار مطالعه، تفاوت معنی‌داری در کنترل قند خون در مقایسه‌ی رژیم غذایی پرکربوهیدرات با رژیم غذایی معمولی مشاهده شد (۳۷-۳۲).

در دو مطالعه‌ی دیگر نیز ارتباط معنی‌داری بین مصرف کربوهیدرات و خطر افزایش قند خون یافت نشد (۳۹-۳۷). در مجموع، مطالعه‌ی حاضر بر اساس یک مطالعه‌ی هم‌گروهی ۹ ساله و با در نظر گرفتن اکثر مخدوشگرهای احتمالی، تنها مطالعه‌ای است که اثر مصرف درشت‌مغذی ها را بر تکرار وضعیت پره‌دیابت در فامیل درجه‌ی اول افراد مبتلا به دیابت بررسی نموده است.

تشکر و قدردانی

در پایان، از کارکنان محترم مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم و تمامی بیمارانی که با صبر و همکاری خود اجرای این طرح پژوهشی را ممکن ساختند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disease in Iran. 3rd ed Tehran, Iran: Khosravi Publication; 2009. [In Persian].
2. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK), National Institutes of Health (NIH). National Diabetes InformationClearinghouse (NDIC). Bethesda, MD: NIH Publication; 1994.
3. American Diabetes Association. Diabetes 1996: vital statistics. Alexandria, VA: ADA, 1996.
4. Fowler MJ. Microvascular and macrovascular

complications of diabetes. Clin Diabetes 2008; 26(2): 77-82.
5. Delavari A, Mahdavi-Hazaveh A, Nowrozinejad A, Yarahmadi Sh. Planning of diabetes control in Iran. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education, Undersecretary for Health Disease Management Center; 2004. [In Persian].
6. Alavi NM, Ghofranipour F, Ahmadi F, Emami A. Developing a culturally valid and reliable quality of life questionnaire for diabetes mellitus. East Mediterr Health J 2007; 13(1): 177-85.
7. Ghavami H, Ahmadi F, Meamarian R, Entezami H. Effects of applying continuous care model on fasting blood glucose and HgbA1c levels in diabetic patients. Koomesh J 2005; 6(3): 179-86. [In Persian].
8. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003;26(Suppl 1):S5-20.
9. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010. Diabetes Care 2010; 33(Suppl 1): S11-S61.
10. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998; 21(9): 1414-31.
11. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. harrison's principles of internal medicine. 18th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2011.
12. Altobelli E1, Valenti M, Chiarelli F, Verrotti A, Ruggeri B, Di Orio F. Family history and risk of insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based case-control study. Epidemiol Prev. 1998; 22(1): 26-9. [In Italian]
13. Altobelli E, Chiarelli F, Valenti M, Verrotti A, Blasetti A, Di OF. Family history and risk of insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based case-control study. Acta Diabetol 1998; 35(1): 57-60.
14. Jeppesen J, Schaaf P, Jones C, Zhou MY, Chen YD, Reaven GM. Effects of low-fat, high-carbohydrate diets on risk factors for ischemic heart disease in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 1997; 65(4): 1027-33.
15. Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, Pan DA, Cooney GJ, Jenkins AB, et al. Dietary fats and insulin action. Diabetologia 1996; 39(6): 621-31.
16. Papakonstantinou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Zampelas A, Skoumas Y, et al. Food group consumption and glycemic control in people with and without type 2 diabetes: the ATTICA study. Diabetes Care 2005; 28(10): 2539-40.
17. Parker B, Noakes M, Luscombe N, Clifton P. Effect of a high-protein, high-monounsaturated fat weight loss diet on glycemic control and lipid levels in type 2 diabetes. Diabetes Care 2002; 25(3): 425-30.
18. van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. Diabetes Care 2002; 25(3): 417-24.
19. Brehm BJ, Lattin BL, Summer SS, Boback JA, Gilchrist GM, Jandacek RJ, et al. One-year comparison of a high-monounsaturated fat diet with a high-carbohydrate diet in type 2 diabetes. Diabetes Care 2009; 32(2): 215-20.
20. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. N Engl J Med 2002; 346(6): 393-403.
21. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. N Engl J Med 2001; 344(18): 1343-50.
22. Box-Steffensmeier JM, De BS. Repeated events survival models: the conditional frailty model. Stat Med 2006; 25(20): 3518-33.
23. Yaturu S, Bridges JF, Dhanireddy RR. Preliminary evidence of genetic anticipation in type 2 diabetes mellitus. Med Sci Monit 2005; 11(6): CR262-CR265.
24. Lindstrom J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, et al. The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. Diabetes Care 2003; 26(12): 3230-6.
25. Riserus U, Willett WC, Hu FB. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. Prog Lipid Res 2009; 48(1): 44-51.
26. Feskens EJ, Loeber JG, Kromhout D. Diet and physical activity as determinants of hyperinsulinemia: the Zutphen Elderly Study. Am J Epidemiol 1994; 140(4): 350-60.
27. Lundgren H, Bengtsson C, Blohme G, Isaksson B, Lapidus L, Lenner RA, et al. Dietary habits and incidence of noninsulin-dependent diabetes mellitus in a population study of women in Gothenburg, Sweden. Am J Clin Nutr 1989; 49(4): 708-12.
28. Feskens EJ, Kromhout D. Cardiovascular risk factors and the 25-year incidence of diabetes mellitus in middle-aged men. The Zutphen Study. Am J Epidemiol 1989; 130(6): 1101-8.
29. Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, et al. A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in

severe obesity. N Engl J Med 2003; 348(21): 2074-81.
30. Kiehm TG, Anderson JW, Ward K. Beneficial effects of a high carbohydrate, high fiber diet on hyperglycemic diabetic men. Am J Clin Nutr 1976; 29(8): 895-9.
31. Simpson HC, Simpson RW, Lousley S, Carter RD, Geekie M, Hockaday TD, et al. A high carbohydrate leguminous fibre diet improves all aspects of diabetic control. Lancet 1981; 1(8210): 1-5.
32. Simpson RW, McDonald J, Wahlqvist ML, Atley L, Outch K. Macronutrients have different metabolic effects in nondiabetics and diabetics. Am J Clin Nutr 1985; 42(3): 449-53.
33. Estrich D, Ravnik A, Schlierf G, Fukayama G, Kinsell L. Effects of Co-ingestion of fat and protein upon carbohydrate-induced hyperglycemia. Diabetes 1967; 16(4): 232-7.
34. Barnard ND, Cohen J, Jenkins DJ, Turner-McGrievy G, Gloede L, Green A, et al. A low-fat vegan diet and a conventional diabetes diet in the treatment of type 2 diabetes: a randomized, controlled, 74-wk clinical trial. Am J Clin Nutr 2009; 89(5): 1588S-96S.
35. Gerhard GT, Ahmann A, Meeuws K, McMurry MP, Duell PB, Connor WE. Effects of a low-fat diet compared with those of a high-monounsaturated fat diet on body weight, plasma lipids and lipoproteins, and glycemic control in type 2 diabetes. Am J Clin Nutr 2004; 80(3): 668-73.
36. Wycherley TP, Noakes M, Clifton PM, Cleanthous X, Keogh JB, Brinkworth GD. A high-protein diet with resistance exercise training improves weight loss and body composition in overweight and obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 2010; 33(5): 969-76.
37. Brinkworth GD, Noakes M, Parker B, Foster P, Clifton PM. Long-term effects of advice to consume a high-protein, low-fat diet, rather than a conventional weight-loss diet, in obese adults with type 2 diabetes: one-year follow-up of a randomised trial. Diabetologia 2004; 47(10): 1677-86.
38. Rodriguez-Villar C, Perez-Heras A, Mercade I, Casals E, Ros E. Comparison of a high-carbohydrate and a high-monounsaturated fat, olive oil-rich diet on the susceptibility of LDL to oxidative modification in subjects with Type 2 diabetes mellitus. Diabet Med 2004; 21(2): 142-9.
39. Parillo M, Rivellese AA, Ciardullo AV, Capaldo B, Giacco A, Genovese S, et al. A high-monounsaturated-fat/low-carbohydrate diet improves peripheral insulin sensitivity in non-insulin-dependent diabetic patients. Metabolism 1992; 41(12): 1373-8.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 06.06.2014
Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014
Accepted: 18.09.2014

The Effects of Macronutrient Intake on the Risk of Pre-Diabetes in First-Degree Relatives of Patients with Type 2 Diabetes

Akram Yazdani[1], Marjan Mansourian PhD[2], Elham Faghihimani MD[3], Maryam Zareh[3], Masoud Amini MD[4]

Original Article

Abstract

Background: Previous studies showed that pre-diabetes often occurs prior to the incidence of type 2 diabetes. Accordingly, lifestyle modification has been suggested to prevent or delay the development of diabetes. The purpose of this study was to identify the impact of macronutrients consumption on recurrent events of pre-diabetes.

Methods: This historical cohort study was performed for 9 years on first-degree relatives of patients with type 2 diabetes attending to Isfahan endocrine and metabolism research center, Iran. The attendees completed laboratory tests including standard 75 g 2-hour current oral glucose tolerance test (OGTT). The outcome variables were the recurrence of a pre-diabetes event during follow-up and the assessed explanatory variables included protein, fat and carbohydrates intake, and a broad set of potential confounding variables were age categories, sex, overweight (body mas index or BMI), large waist-to-hip ratio (WHR), high-density lipoprotein (HDL), triglycerides, total cholesterol, high blood pressure, and low fiber intake. We considered the shared gamma frailty model to evaluate the association between recurrent pre-diabetes and explanatory variables. The R-software (version 2.15.2) was used to fit the models.

Findings: Individuals with greater carbohydrate had a significantly higher hazard of recurrent pre-diabetes (hazard ratio = 1.04), adjusted by other variables. The hazards of recurrent pre-diabetes for individuals with fat intake of 25-35 unit were 1.52 higher than individuals with fat intake of lower than 25 unit; and for individuals with fat intake of more than 35 unit, hazards were 2.22 higher than individuals with fat intake of lower than 25 unit. Individuals with greater protein had a significantly higher hazard of recurrent pre-diabetes (hazard ratio = 1.05), adjusted by other variables.

Conclusion: Macronutrient consumption can affect the metabolism of fat and glucose and cause changes in insulin resistance. The results of this study showed that macronutrients are effective in controlling diabetes. Further studies are recommended to achieve more accurate results.

Keywords: Carbohydrate, Fat, Macronutrient, Pre-diabetes, Protein

Citation: Yazdani A, Mansourian M, Faghihimani E, Zareh M, Amini M. **The Effects of Macronutrient Intake on the Risk of Pre-Diabetes in First-Degree Relatives of Patients with Type 2 Diabetes.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1475-86

1- MSc Student, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Isfahan Endocrinology and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Professor, Isfahan Endocrinology and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Marjan Mansourian PhD, Email: j_mansourian@hlth.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۳

بررسی میزان شیوع موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak۲V۶۱۷F در بیماران ایرانی با اختلالات میلوپرولیفراتیو فیلادلفیا منفی و ارتباط آن با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی

عباس قوطاسلو[۱]، دکتر فاطمه نادعلی[۲]، دکتر بهرام چهاردولی[۳]، علی قاسمی[۱]، صادق عباسیان[۱]، کاظم غفاری[۱]، دکتر شهربانو رستمی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اختلالات میلوپرولیفراتیو گروهی از بیماری‌ها هستند که به واسطه‌ی افزایش تکثیر در رده‌ی میلوئیدی شناخته می‌شوند. علاوه بر جهش Jak۲V۶۱۷F، چندین موتاسیون در ژن c-MPL در بیماران با اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن فیلادلفیا منفی معرفی شده است که می‌تواند در پاتوژنز بیماری نقش داشته باشد. هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی میزان فراوانی موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak۲V۶۱۷F در بیماران ایرانی دارای اختلالات میلوپرولیفراتیو فیلادلفیا منفی بود.

روش‌ها: نمونه‌ی خون محیطی از ۶۰ بیمار با تشخیص اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن فیلادلفیا منفی شامل زیر گروه ET (Essential thrombocythemia) و PMF (Primary myelofibrosis) و ۲۵ فرد سالم به عنوان شاهد، به منظور بررسی وضعیت موتاسیون در ژن‌های c-MPL و Jak۲V۶۱۷F انتخاب و با استفاده از تکنیک‌های Sequencing، ARMS-PCR (Amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction) و AS-PCR (Allele specific- polymerase chain reaction) بررسی شدند.

یافته‌ها: از مجموع ۶۰ بیمار، به ترتیب در ۳۴ (۵۶/۶ درصد) و ۱ (۱/۷ درصد) بیمار در ژن‌های Jak۲V۶۱۷F و c-MPL موتاسیون یافت شد. بیماران دارای موتاسیون Jak۲V۶۱۷F نسبت به افراد بدون موتاسیون شمارش WBC (White blood cells) و غلظت هموگلوبین بالاتری داشتند (P = ۰/۰۰۵ و P = ۰/۰۰۳). علاوه بر این، موتاسیون‌ها در هیچ یک از افراد شاهد شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: موتاسیون ژن c-MPL بر خلاف موتاسیون Jak۲V۶۱۷F، در بیماران MPD فیلادلفیا منفی ایرانی کم است و این شیوع پایین، باید در طراحی استراتژی‌های غربالگری بیماران MPD در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن، Jak۲V۶۱۷F، موتاسیون c-MPL، Amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction

ارجاع: قوطاسلو عباس، نادعلی فاطمه، چهاردولی بهرام، قاسمی علی، عباسیان صادق، غفاری کاظم، رستمی شهربانو. **بررسی میزان شیوع موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak۲V۶۱۷F در بیماران ایرانی با اختلالات میلوپرولیفراتیو فیلادلفیا منفی و ارتباط آن با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۴۹۵-۱۴۸۷

۱- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شهربانو رستمی
Email: drostamy@yahoo.com

مقدمه

اختلالات یا نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو (MPN یا Myeloproliferative neoplasms و MPD یا Myeloproliferative disease) گروهی از بدخیمی‌های کلونال سلول‌های بنیادی خون‌ساز هستند که به واسطه‌ی افزایش تکثیر در رده‌ی میلوئیدی با یک دوره‌ی بالینی طولانی مدت شناسایی می‌شوند. پلی‌سایتمی ورا (PV یا Polycythemia vera)، ترومبوسیتمی اولیه (ET یا Essential thrombocythemia) و میلوفیبروز اولیه (PMF یا Primary myelofibrosis) سه عضو مهم از خانواده‌ی MPN هستند که BCR/AB هستند و با اختلالاتی مانند ترومبوز، هموراژی، اسپلنومگالی و خطر تبدیل به لوسمی حاد میلوئیدی (AML یا Acute myeloid leukemia) همراه می‌باشند (۳-۱).

معیارهای تشخیصی برای ET، PMF و PV که توسط WHO (World Health Organization) پذیرفته شده‌اند، شامل تعیین کلونالیتی و همچنین بررسی موتاسیون Jak۲V۶۱۷F هستند. موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در اکثر بیماران مبتلا به پلی‌سیتمی ورا (۹۵ درصد) و در حدود نیمی از موارد میلوفیبروز اولیه و ترومبوسیتی اولیه وجود دارد (۵-۴). این جهش از طریق تغییر G به T در نوکلئوتید ۱۸۴۹ در اگزون ۱۲ ژن JAK۲ واقع بر روی کروموزم ۹ مشخص می‌شود که منجر به جایگزینی فنیل الانین به جای والین در موقعیت ۶۱۷ از پروتئین JAK۲ می‌گردد.

پروتئین‌های خانواده‌ی JAK۲ به واسطه‌ی اثرات سایتوکاین‌های هماتوپوتیک و جهش منجر به فعال‌سازی مدام JAK۲ در غیاب سایتوکاین می‌شوند. بنابراین جهش Jak۲V۶۱۷F یک عامل مستعد کننده برای پیشرفت MPN محسوب می‌گردد.

نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که تشخیص جهش Jak۲V۶۱۷F نه تنها دارای اهمیت تشخیص است، بلکه در درمان بیماری نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن (MPNs) از طریق داروهای مهار کننده‌ی مسیر STAT/JAK نیز نقش دارد (۶). از آن جایی که بخش عمده‌ای از بیماران مبتلا به ET و PMF برای موتاسیون Jak۲V۶۱۷F منفی بودند، بررسی برای کشف اتیولوژی بیماران PV، ET و PMF با کروموزوم فیلادلفیا منفی و Jak۲V۶۱۷F به کمک تعیین سکانس گیرنده‌های EPO، TPO و GMCSFR منجر به شناسایی انواع موتاسیون‌های جانشینی در موقعیت تریپتوفان ۵۱۵ (W۵۱۵) در نزدیکی بخش غشایی گیرنده‌ی ترومبوپویتین شد. این موتاسیون‌ها به واسطه‌ی فعال‌سازی عوامل نسخه‌برداری JAK۲/STAT منجر به تکثیر سلولی می‌شوند. اتصال TPO (Temporo parieto occipital) به دومین خارج سلولی MPL، باعث دایمر شدن دومین‌های داخل سلولی گیرنده می‌شود؛ به صورتی که باعث فسفریلاسیون متقابل JAK۲ می‌گردد. JAK۲ به نوبه‌ی خود فسفریله و فعال می‌شود و ریشه‌های تیروزین را در دومین سیتوپلاسمی MPL فسفریله می‌کند و یک Docking sites برای مولکول‌های سیگنالی پایین دست را فراهم می‌کند. طبق مطالعات انجام شده، موتاسیون‌های ژن c-MPL و Jak۲V۶۱۷F در کشورهای غربی به ترتیب در ۱۰-۵ درصد و حدود نیمی از بیمارن PMF و ET گزارش شده است (۹-۷).

تعیین این موتاسیون‌ها می‌تواند در غربالگری و تشخیص بیماران ارزشمند باشد. نظر به اهمیت ذکر

شده، مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی میزان شیوع موتاسیون‌های ژن c-MPL و JakV۶۱۷F در بیماران میلوپرولیفراتیو مزمن (زیر گروه‌های ET و PMF) انجام شد.

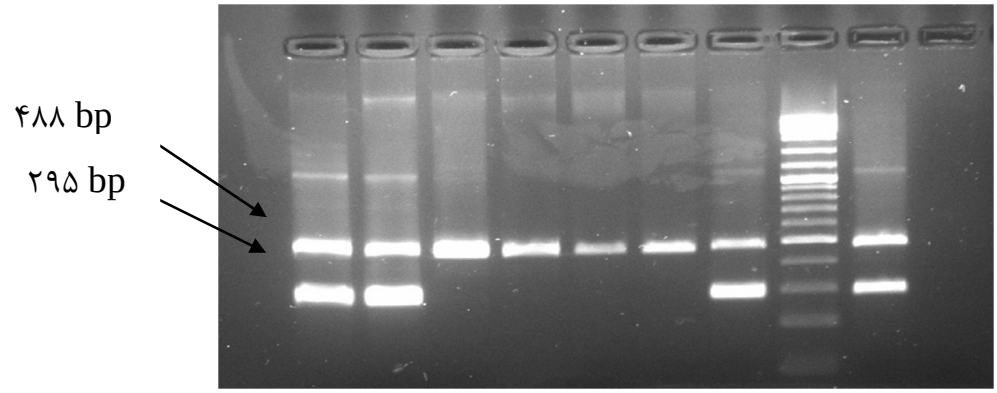
روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر بر روی ۶۰ بیمار با تشخیص اولیه‌ی اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن با زیر گروه ET وPMF و فیلادلفیا منفی که به مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی مراجعه کرده بودند و ۲۵ فرد سالم به عنوان شاهد، از نظر موتاسیون ژن‌های c-MPL و Jak۲V۶۱۷F مورد بررسی قرار گرفتند.

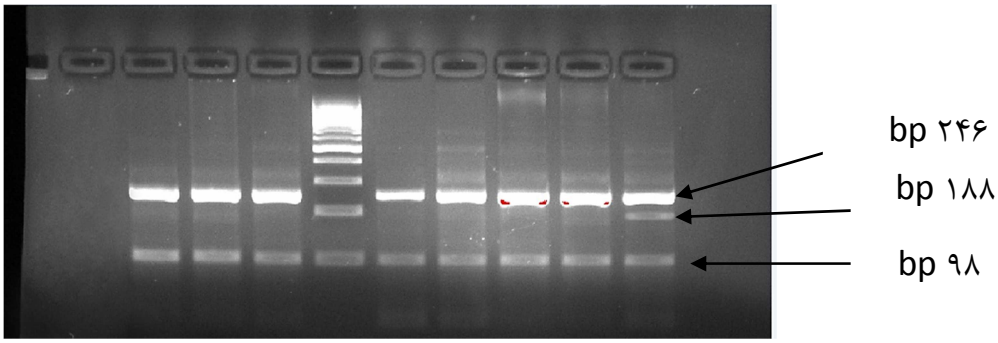
اطلاعات آزمایشگاهی و بالینی بیماران شامل شمارش گلبول‌های سفید، شمارش پلاکت، سن، غلظت هموگلوبین و وضعیت طحال، از پرونده‌های پزشکی بیماران استخراج شد. از تمامی افراد مورد مطالعه پس از کسب رضایت‌نامه، مقدار ۱۰ ml نمونه‌ی خون محیطی در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) گرفته شد. سپس DNA با روش استاندارد نمک اشباع و RNA با استفاده از ترایزول (Sigma ,USA) استخراج و از RNA جدا شده cDNA (Complementary DNA) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده (Fermentas) و با استفاده از Random hexamer سنتز شد.

برای بررسی موتاسیون Jak۲V۶۱۷F از تکنیک AS-PCR (Allele specific- polymerase chain reaction) و برای بررسی موتاسیون‌های ژن c-MPL از تکنیک‌های تعیین توالی (Sequencing) و ARMS (Amplification refractory mutation system) استفاده شد. شرایط واکنش PCR برای بررسی موتاسیون ها و نیز توالی های پرایمر استفاده شده از مطالعات قبلی گرفته شد. در تکنیک AS-PCR از ۳ پرایمر Forward، Reverse و Mutant استفاده شد (۱۰).

در این روش با استفاده از پرایمرهای Forward و Reverse یک باند ۴۸۸ bp از آلل طبیعی (wt) تکثیر می‌شود و آلل موتانت در صورت وجود موتاسیون یک باند ۲۹۵ bp را ایجاد خواهد کرد (شکل ۱).



شکل ۱. AS-PCR (Allele specific-Polymerase chain reaction) جهت غربالگری موتاسیون Jak۲V۶۱۷F، از راست به چپ ستون ۱ شاهد منفی، ستون ۲ شاهد مثبت، ستون ۳ اندازه‌ی نشانگر، ستون‌های ۴، ۹ و ۱۰ بیمار دارای موتاسیون و ستون ۸ بیمار فاقد موتاسیون، ستون‌های ۵، ۶ و ۷ شاهد سالم را نشان می‌دهند



شکل ۲. ARMS-PCR (Amplification refractory mutation system-Polymerase chain reaction) جهت غربالگری موتاسیون‌های c-MPL، از چپ به راست ستون ۱ شاهد منفی، ستون‌های ۲، ۳ و ۴ شاهد سالم، ستون ۵ اندازه‌ی نشانگر، ستون‌های ۶، ۷، ۸ و ۹ بیمار فاقد موتاسیون و ستون ۱۰ بیمار دارای موتاسیون c-MPL را نشان می‌دهند

جهت بررسی موتاسیون‌های ژن c-MPL، نمونه‌های بیماران جهت یافتن شاهد مثبت تعیین توالی شدند. نمونه‌هایی که به روش تعیین توالی، وجود موتاسیون در آن‌ها ثابت شد، جهت راه‌اندازی آزمایش ARMS-PCR استفاده شدند. در تکنیک ARMS-PCR از ۶ پرایمر استفاده شد که شامل FO، RO، Riwt، FiK، FiL، FiR بودند (۱۱). پرایمرهای FO و RO از ژن c-MPL یک باند شاهد bp ۲۴۶ می‌دهند. پرایمرهای Riwt و FO یک آلل Wild-type را تکثیر می‌کنند و باعث تولید یک باند bp ۹۸ می‌شوند و پرایمرهای RO و FiL/FiK/FiR یک باند bp ۱۸۸ از آلل موتانت ایجاد می‌کنند (شکل ۲).

محصولات واکنش بر روی ژل آگارز ۳ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی ارتباط بین موتاسیون‌ها با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی بیماران از آزمون‌های دو طرفه‌ی Fisher's exact و χ^2 استفاده شد. همه ی داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16 ,SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز و $P < ۰/۰۵۰$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از مجموع ۶۰ بیمار مورد مطالعه، ۴۶ بیمار (۷۶/۷ درصد) ترومبوسیتمی اولیه و ۱۴ بیمار (۲۳/۳ درصد) میلوفیبروز اولیه (PMF) داشتند. همچنین از نظر جنسیتی، ۳۰ بیمار مرد و ۳۰ بیمار زن بودند. میانگین سنی کل بیماران ۶۱/۹ سال با محدوده‌ی سنی ۸۳-۳۰ سال بود. هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین موتاسیون Jak۲V۶۱۷F با پارامترهای دموگرافی بیماران شامل جنس، سن مشاهده نشد ($P = ۰/۱۰۰$).

در مجموع، از ۶۰ بیمار مورد مطالعه، ۳۴ بیمار (۵۷/۰ درصد) از نظر موتاسیون Jak۲V۶۱۷F (شامل ۳۱ بیمار (۶۷/۰ درصد) از ۴۶ بیمار ET و ۳ بیمار (۲۲/۰ درصد) از ۱۴ بیمار PMF) و نیز در کل، ۱ بیمار (۱/۷ درصد) از نظر موتاسیون c-MPL مثبت بودند (جدول ۱).

ارتباط معنی‌داری بین زیر گروه‌های بیماری و وجود موتاسیون Jak۲V۶۱۷F مشاهده شد ($P = ۰/۰۰۲$). میانه و میانگین شمارش گلبول‌های سفید و هموگلوبین در بیماران دارای موتاسیون Jak۲V۶۱۷F، به ترتیب ۱۲/۵ هزار در میکرولیتر و

g/dl ۱۳/۱۸ که نسبت به افراد بدون موتاسیون بالاتر بود (P = ۰/۰۰۵ و P = ۰/۰۰۳).

همچنین شمارش پلاکتی در بیماران واجد این موتاسیون دارای میانه‌ی بالاتری نسبت به افراد فاقد موتاسیون بود که به نظر می‌رسد از نظر آماری معنی‌دار باشد (P = ۰/۰۳۰)؛ اما با توجه به ضریب همبستگی ۶۴/۲ بین زیر گروه‌های بیماری و شمارش پلاکتی این احتمال رد می‌شود و در حقیقت، علت معنی‌دار شدن شمارش پلاکتی با موتاسیون Jak۲V۶۱۷F، توزیع زیاد و نامتناسب بیماران در گروه ET است؛ به طوری که میانگین شمارش پلاکتی در ۳۱ بیمار ET واجد موتاسیون ۲۶۳/۱۲ ± ۹۴۵/۵ هزار در میکرولیتر (P = ۰/۵۰۰) و میانگین شمارش پلاکتی در ۳ بیمار PMF واجد موتاسیون ۳۶۳/۵ ± ۳۸۲/۳۲ (P = ۰/۹۰۰) بود. از ۳۴ بیمار دارای موتاسیون، ۲۰ مورد (۵۸/۵ درصد) اسپلنومگالی داشتند. هیچ ارتباط معنی‌داری بین وجود موتاسیون و اسپلنومگالی مشاهده نشد (P = ۰/۳۰۰) (جدول ۱).

تنها بیمار واجد موتاسیون c-MPL، از نظر موتاسیون Jak۲V۶۱۷F منفی، مذکر، دارای ۶۰ سال سن و مبتلا به ET با شمارش پلاکتی ۸۹۷ هزار در میکرولیتر و طحال بزرگ در زمان تشخیص بود (جدول ۲).

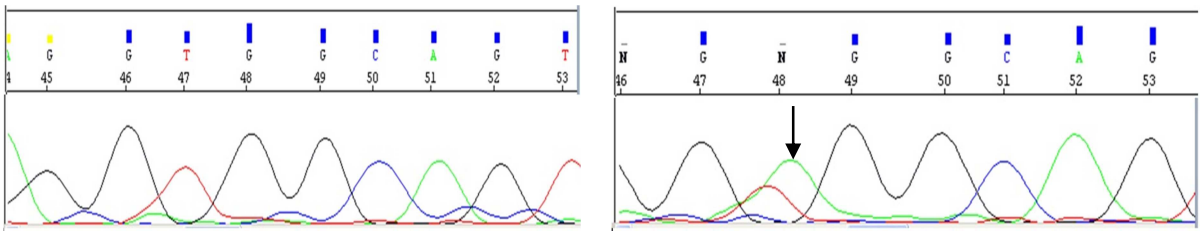
جدول ۱. وضعیت موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در بیماران مورد مطالعه و ارتباط آن با یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی

		موتاسیون Jak۲V۶۱۷F		
		مثبت	منفی	مقدار P
زیر گروه	ترومبوسیتمی اولیه	۳۱ (۹۱/۲)	۱۵ (۵۷/۷)	۰/۰۰۲
تعداد (درصد)	میلوفیبروز اولیه	۳ (۸/۸)	۸ (۴۲/۳)	۰/۰۰۲
جنس	زن	۲۰ (۵۸/۸)	۱۰ (۳۸/۵)	۰/۱۰۰
تعداد (درصد)	مرد	۱۴ (۴۱/۲)	۱۶ (۶۱/۵)	۰/۱۰۰
سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)		۶۲/۰۳ ± ۱۳/۱۵	۶۱/۸۱ ± ۱۳/۲۵	۰/۹۰۰
آزمایش‌ها	هموگلوبین (g/dl) (میانگین ± انحراف معیار)	۱۳/۱۸ (± ۱/۶۷)	۱۱/۵۸ (± ۲/۲۶)	**۰/۰۰۳**
	شمارش گلبول‌های سفید ($\times 10^3 \mu l$) میانه (چارک اول–چارک سوم)	۱۲/۵ (۹/۰–۲۰/۵)	۹ (۶/۰–۱۳/۲)	**۰/۰۰۵**
	شمارش پلاکت ($\times 10^3 \mu l$) میانه (چارک اول–چارک سوم)	۸۵۸ (۷۵۹/۵–۱۰۶۲/۰)	۶۹۳ (۳۱۹/۵–۹۰۳/۲)	**۰/۰۳۰**
علایم بالینی	اسپلنومگالی	۲۰ (۵۸/۸)	۱۶ (۶۱/۵)	۰/۳۰۰
تعداد (درصد)	اسپلنوکتومی	۱ (۲/۹)	۳ (۱۱/۵)	۰/۳۰۰
	طحال طبیعی	۱۳ (۳۸/۲)	۷ (۲۶/۹)	۰/۳۰۰

جدول ۲. پارامترهای آزمایشگاهی و بالینی در تنها بیماری که واجد موتاسیون در ژن c-MPL بود

ویژگی طول درمان	شمارش WBC (× ۱۰^{۳} µl)	هموگلوبین (g/dl)	شمارش پلاکتی (× ۱۰^{۳} µl)	نوع دارو و دوز	وضعیت طحال
در زمان تشخیص	۸/۴	۱۴/۴	۸۹۷	–	اسپلنومگالی
چهار ماه پس از درمان	۳/۸	۱۳	۳۲۱	هیدروکسی اوره ۵۰۰ mg روزانه Acetylsalicylic acid ،mg ۸۰ روزانه	طبیعی
شش ماه پس از درمان	۶/۴۳	۱۴	۵۹۸	هیدروکسی اوره ۵۰۰ mg روزانه Acetylsalicylic acid ،mg ۸۰ روزانه	طبیعی

WBC: White blood cells



شکل ۳. نتیجه‌ی تعیین توالی ژن در بیمار دارای موتاسیون W۵۱۵R در ژن c-MPL، از چپ به راست ژن c-MPL طبیعی و موتانت

همچنین در بیوپسی مغز استخوان، بافت نورموسلولار با افزایش متوسط در تعداد مگاکاریوسیت‌ها و بدون هیچ گونه نشانه از فیبروز را نشان می‌داد. آنالیز نمونه‌ی بیمار از نظر توالی ژن c-MPL نشان داد که موتاسیون موجود، ناشی از جایگزینی نوکلئوتید T با A و موتاسیون بیمار از نوع W۵۱۵R است (شکل ۳). علاوه بر این، در هیچ یک از ۲۵ فرد سالم گروه شاهد، جهش در ژن‌های مورد بررسی مشاهده نشد.

بحث

فعال‌سازی مسیر JAK/STAT، یک نقش محوری در پاتوژنز اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن دارد. موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در ۹۵ درصد موارد پلی‌سایتمی ورا و در حدود نیمی از موارد میلوفیبروز اولیه و ترومبوسیتی اولیه وجود دارد (۵). بررسی برای کشف اتیولوژی بیماران ET و PMF با کروموزوم فیلادلفیا منفی و Jak۲V۶۱۷F، منجر به شناسایی موتاسیون‌ها در ژن c-MPL گردید. موتاسیون‌های ژن MPL در پاتوژنز بیماری نقش دارد؛ چرا که بیان بالای آن در رده‌ی سلولی در آزمایشگاه، منجر به رشد سلولی بدون وابسته به عامل رشد می‌شود. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که بیان ژن موتانت MPLW۵۱۵L در موش‌های پیوند شده منجر به ایجاد یک فنوتیپ مشابه میلوفیبروز خواهد شد (۱۳-۱۲).

همچنین مشخص شده است که بیماران واجد موتاسیون‌های ژن MPL دارای مقادیر هموگلوبین کمتر و شمارش پلاکتی بیشتر (بیماران ET) هستند و نیز خطر اختلال در عروق کوچک در بیماران ET واجد موتاسیون بالا است (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر،

از مجموع ۶۰ بیمار مورد مطالعه ۳۴ بیمار (۵۷ درصد) از نظر موتاسیون Jak۲V۶۱۷F و یک بیمار (۱/۷ درصد) از نظر موتاسیون c-MPL مثبت بودند. در راستای یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، Pardanani و همکاران با بررسی این موتاسیون در بیماران با ا ختلالات میلوپرولیفراتیو و دیگر اختلالات میلوئیدی، نشان دادند که موتاسیون‌ها در ۱ درصد از بیماران ET و نیز ۵ درصد بیماران PMF مثبت است (۸).

همچنین نتایج مطالعه‌ی Hu و همکاران نشان داد که موتاسیون‌های ژن c-MPL در ۸ درصد از بیماران PMF مثبت است (۱۵). مطالعه‌ی Beer و همکاران نشان داد که این موتاسیون‌ها در ۸/۵ درصد از بیماران ET و PMF شناسایی می‌شود (۹). به نظر می‌رسد علت بالا بودن میزان موتاسیون‌های c-MPL گزارش شده در مطالعات اخیر، بزرگ‌تر بودن جامعه‌ی آماری است؛ اما با وجود این که مطالعه Hu و همکاران (۱۵) بزرگ‌ترین مطالعه از نظر تعداد بیمار است، نسبت به سایر مطالعات مانند Beer و همکاران (۹)، درصد کمی از موتاسیون را در بیماران گزارش کردند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد بیماران ET مانند نتایج مطالعه‌ی Hu و همکاران (۱۵)، هر دو یکسان و حدود ۱ درصد بود. همچنین نتایج مطالعه‌ای که توسط Lieu و همکاران بر روی ۱۰۵ بیمار تایوانی مبتلا به اختلالات میلوپرولیفراتیو انجام شد، نشان داد که تمام بیماران مورد مطالعه از نظر موتاسیون‌های ژن c-MPL منفی بودند. در این مطالعه، موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در ۵۹ درصد بیماران ترومبوسیتمی اساسی و ۳۳ درصد بیماران میلوفیبروز مثبت بود که به طور تقریبی با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر یکسان بود (۱۶).

نتایج مطالعه‌ی کریم‌زاده و همکاران و همچنین مطالعه‌ی اصغری و همکاران در زمینه‌ی بررسی شیوع موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در بیماران ایرانی با اختلالات میلوپرولیفراتیو مزمن نشان داد که این موتاسیون به ترتیب در ۵۳ درصد و ۴۵ درصد بیماران ترومبوسیتمی اساسی و ۶۲ درصد بیماران میلوفیبروز مثبت بود (۱۷، ۱۰). تفاوت موجود بین مطالعه‌ی حاضر و این گروه‌ها (۲۷ درصد در مقابل ۶۲ درصد)، در بیماران PMF با وجود یکسانی تقریبی افراد مورد بررسی است.

همچنین مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بیماران دارای موتاسیون Jak۲V۶۱۷F نسبت به افراد بدون موتاسیون به ترتیب میانه و میانگین شمارش WBC و غلظت هموگلوبین بالاتری داشتند (P = ۰/۰۰۵ و P = ۰/۰۰۳). هم جهت با مطالعه‌ی حاضر، در مطالعه‌ی Campbell و Green بر روی بیماران ET، موتاسیون در ۵۳ درصد بیماران مشاهده شد (۱). در این مطالعه، همچنین ارتباط معنی‌داری بین وجود موتاسیون و میزان هموگلوبین و شمارش نوتروفیل بیماران وجود داشت.

نتیجه‌ی کلی این که موتاسیون ژن c-MPL بر خلاف موتاسیون Jak۲V۶۱۷F در بیماران MPD فیلادلفیا منفی ایرانی کم است. با توجه به شیوع کم این موتاسیون ها، انجام این آزمایش در بیماران با اختلالات میلوپرولیفراتیو به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست و جهت غربالگری بیماران توصیه نمی‌شود. با این حال، با توجه به ماهیت اختصاصی بودن موتاسیون‌های ژن c-MPL (بر خلاف Jak۲V۶۱۷F) که فقط در زیر گروه ET و PMF دیده می‌شود، انجام این آزمایش در موارد مشکوک به این دو اختلال، می‌تواند در تشخیص بیماری کمک کننده باشد.

References

1. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. N Engl J Med 2006; 355(23): 2452-66.
2. Michiels JJ, Bernema Z, Van BD, De RH, Schroyens W. Current diagnostic criteria for the chronic myeloproliferative disorders (MPD) essential thrombocythemia (ET), polycythemia vera (PV) and chronic idiopathic myelofibrosis (CIMF). Pathol Biol (Paris) 2007; 55(2): 92-104.
3. Panani AD. Cytogenetic and molecular aspects of Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders: clinical implications. Cancer Lett 2007; 255(1): 12-25.
4. James C, Ugo V, Casadevall N, Constantinescu SN, Vainchenker W. A JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: pathogenesis and therapeutic and scientific prospects. Trends Mol Med 2005; 11(12): 546-54.
5. Kilpivaara O, Levine RL. JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: discovery and science. Leukemia 2008; 22(10): 1813-7.
6. Panani AD. Janus kinase 2 mutations in Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders: clinical implications. Cancer Lett 2009; 284(1): 7-14.
7. Pecquet C, Staerk J, Chaligne R, Goss V, Lee KA, Zhang X, et al. Induction of myeloproliferative disorder and myelofibrosis by thrombopoietin receptor W515 mutants is mediated by cytosolic tyrosine 112 of the receptor. Blood 2010; 115(5): 1037-48.
8. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. Blood 2006; 108(10): 3472-6.
9. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. Blood 2008; 112(1): 141-9.
10. Karimzadeh P, Ghaffari SH, Chahardouli B, Zaghal A, Einollahi N, Mousavi SA, et al. Evaluation of JAK2V617F mutation prevalence in myeloproliferative neoplasm by AS-RT-PCR. Iran J Pediatr Hematol Oncol 2011; 1(2): 38-42.
11. Zhuge J, Zhang W, Zhang W, Xu M, Hoffman R. Sensitive detection of MPLW515L/K mutations by amplification refractory mutation system (ARMS)-PCR. Clin Chim Acta 2010; 411(1-2): 122-3.
12. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. PLoS Med 2006; 3(7): e270.
13. Chaligne R, Tonetti C, Besancenot R, Roy L, Marty C, Mossuz P, et al. New mutations of MPL in primitive myelofibrosis: only the MPL W515 mutations promote a G1/S-phase transition. Leukemia 2008; 22(8): 1557-66.
14. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Guerini V, Barosi G, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. Blood 2008; 112(3): 844-7.
15. Hu WY, Zhao Y, Ishii T, Sozer S, Shi J, Zhang W, et al. Haematopoietic cell lineage distribution of MPLW515L/K mutations in patients with idiopathic myelofibrosis. Br J Haematol 2007; 137(4): 378-9.
16. Lieu CH, Shen YJ, Lai WC, Tsai WH, Hsu HC. Prevalence of MPL W515L/K mutations in Taiwanese patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. J Chin Med Assoc 2010; 73(10): 530-2.
17. Asghari A, Shahriari Ahmadi A, Basi A, Vakili M, Razavi M, Arabi M, et al. The association between prevalence of JAK2V617F mutation and blood indicies in groups of patients with myeloproliferative neoplasms in Rasul Akram Hospital. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res 2011; 5(4): 10-3.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 04.07.2014
Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014
Accepted: 25.09.2014

Frequency of c-MPL and JAK2V617F Mutations in Iranian Patients with Philadelphia-Negative Myeloproliferative Disorders and its Association with Clinical and Laboratory Findings

Abbas Ghotaslou MSc[1], Fatemeh Nadali PhD[2], Bahram Chahardouli PhD[3], Ali Ghasemi MSc[1], Sadegh Abbasian MSc[1], Kazem Ghaffari MSc[1], Shahrbanoo Rostami PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Myeloproliferative disorders are a group of diseases characterized by increased proliferation of myeloid lineage. In addition to JAK2V617F mutation, several mutations in the c-MPL gene were described in patients with Philadelphia-negative Chronic Myeloproliferative disorders (Ph-negative MPNs) that could be important in the pathogenesis of diseases. The aim of the present study was to investigate the frequency of c-MPL and JAK2V617F mutations in Iranian patients with Philadelphia-negative Myeloproliferative disorders.

Methods: Peripheral blood samples from 60 patients with Philadelphia-negative Myeloproliferative disorders, subgroups of essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) and 25 healthy subjects, as control, were taken. In order to investigate the mutation status of c-MPL and Jak2 V617F via using sequencing, the amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) and allele specific-polymerase chain reaction (AS-PCR) were used.

Findings: Of the total of 60 patients, 34 (56.6%) and 1 (1.7%) had Jak2V617F and c-MPL mutations, respectively. Patients with Jak2V617F mutation had higher white blood cell (WBC) counts (P = 0.005) and hemoglobin concentrations than those without the mutation (P = 0.003). In addition, for all healthy subjects in control group, mutation was negative.

Conclusion: The present study revealed that the c-MPL mutations, unlike the Jak2V617F mutations, are rare in Iranian patients with Philadelphia-negative Chronic Myeloproliferative disorders and the low mutation rate should be considered in the design of screening strategies of patients with myeloproliferative disorders.

Keywords: Amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR), c-MPL mutation, JAK2V617F, Myeloproliferative disorders

Citation: Ghotaslou A, Nadali F, Chahardouli B, Ghasemi A, Abbasian S, Ghaffari K, et al. **Frequency of c-MPL and JAK2V617F Mutations in Iranian Patients with Philadelphia-Negative Myeloproliferative Disorders and its Association with Clinical and Laboratory Findings.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1487-95

1- MSc Student, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Hematology-Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Shahrbanoo Rostami PhD, Email: drostamy@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۱۳

شناسایی یک پپتید جدید مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ استخراج شده از هیدرولیزات پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ

مسعود همایونی تبریزی[۱]، دکتر احمد آسوده[۲]، دکتر محمدرضا عباس‌زادگان[۳]، دکتر خدیجه شاهرخ‌آبادی[۴]، دکتر محبوبه نخعی مقدم[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: از آن جا که داروهای سنتزی ضد فشار خون دارای اثرات جانبی است، استخراج پپتیدهای ضد فشار خون از منابع طبیعی فاقد اثرات جانبی مورد نیاز است. هدف از این تحقیق، شناسایی پپتید حاصل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های تخم شترمرغ و مطالعه‌ی اثرات مهار کنندگی آن بر آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ بود.

روش‌ها: هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های تخم شترمرغ با استفاده از آنزیم‌های پپسین و پانکراتین انجام شد. سپس فرکشن‌ها با استفاده از کروماتوگرافی تحت فشار بالا جدا شدند و توالی پپتید با استفاده از اسپکتروفتومتری جرمی شناسایی شد و فعالیت مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ و پارامترهای کینتیک سنجش شد. آنالیز داکینگ مولکولی و پارامترهای برهمکنش پپتید DG-۱۰ با آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج تعیین توالی نشان داد که پپتید خالص شده با نام DG-۱۰ دارای توالی DAESLSRLLG و وزن ملکولی ۱۰۶۰/۱۸ Da است. این پپتید دارای فعالیت بالای مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ با IC_{50} = ۰/۱۳۳ mg/ml در غلظت نهایی ۰/۱۵۹ mg/ml به دست آمد. منحنی لینوربرک مربوط به پپتید DG-۱۰ نشان داد که مکانیسم مهار از نوع غیر رقابتی است. برهمکنش ملکولی و انرژی اتصال پپتید با آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ با داکینگ بررسی شد.

نتیجه‌گیری: پپتید DG-۱۰ جدا شده از پروتئین‌های تخم شترمرغ، دارای فعالیت مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ است.

واژگان کلیدی: آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱، پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ، پپتید

ارجاع: همایونی تبریزی مسعود، آسوده احمد، عباس‌زادگان محمدرضا، شاهرخ‌آبادی خدیجه، نخعی مقدم محبوبه. **شناسایی یک پپتید جدید مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ استخراج شده از هیدرولیزات پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۵۰۸-۱۴۹۶

مقدمه

فشار خون بالا، منجر به بروز بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شود و درمان فشار خون بالا خطرات بیماری‌های قلبی- عروقی را کاهش می‌دهد (۱). تنظیم فشار خون توسط سیستم رنین- آنژیوتانسین صورت می‌گیرد که نقش کلیدی در کنترل فشار خون

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استاد، گروه ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، پژوهشکده‌ی بوعلی و مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر احمد آسوده
Email: asoodeh@um.ac.ir

دارد. آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ (دی پپتیدیل کربوکسی کیناز- ۱، کیناز- ۲ EC۳/۴/۱۵/۱؛ ACE یا Angiotensin-converting enzyme) متعلق به کلاس متالوپروتئازها است (۲). این آنزیم برای عملکرد خود به روی و کلر نیاز دارد. آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ (ACE) فشار خون سرخرگ و تعادل آب و نمک بدن را تنظیم می‌کند و همچنین نقش کلیدی در سیستم رنین- آنژیوتانسین دارد. ACE هورمون آنژیوتانسین- ۲، یک منقبض قوی کننده‌ی عروق (DRVYIHPF) را از یک پروهورمون غیر فعال آنژیوتانسین-۱ (DRVYIHPFHL) تولید می‌کند. کاهش آنژیوتانسین- ۲ در جریان خون سبب کاهش فشار خون می‌شود.

داروهای سنتزی زیادی شامل کاپتوپریل، آنالاپریل، لیزینوپریل و لوسارتان وجود دارد، اما دارای اثرات منفی بسیاری مانند سرفه‌های خشک، هایپرکالمی و افت شدید فشار خون هستند. پپتیدهای مهار کننده‌ی آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین-۱، فاقد اثرات جانبی است (۳). این گونه پپتیدها در شیر، تخم مرغ، گوشت و ماهی‌ها و همچنین در گیاهان یافت می‌شوند (۵-۴). پپتیدهای فعال زیستی در توالی پروتئین والد خود غیر فعال هستند و می‌توانند به وسیله‌ی هیدرولیز آنزیمی در طی هضم معدی- روده‌ای یا در طی پردازش غذایی آزاد شوند (همانند کامل شدن پنیر و تخمیر شیر). به طور معمول ۲ تا ۲۰ اسید آمینه طول دارند. به دنبال هضم، پپتیدهای فعال زیستی می‌توانند از طریق روده وارد گردش خون شوند و اثر سیستماتیک خود را اعمال کنند، یا اثری موضعی در مجرای معدی- روده‌ای ایجاد کنند (۶).

خصوصیت ساختاری و ترکیب آمینواسید و توالی این پپتیدها ممکن است نقش‌های متنوعی شامل شبه-افیونی، اتصال مواد معدنی، تعدیل ایمنی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانت، ضد انعقادی، کاهش کلسترول و کاهش دهنده‌ی فشار خون داشته باشند. بسیاری از پپتیدهای فعال زیستی شناخته شده چند عملکردی هستند و می‌توانند بیش از یک اثر زیستی داشته باشند و به عنوان ترکیبات غذاهای فعال یا مواد مغذی مورد استفاده قرار گیرند (۱۰-۷).

به هر حال، پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ می‌تواند منبع اصلی برخی از پپتیدهای فعال زیستی باشد. تا زمان اجرای پژوهش، تحقیقی در این زمینه انجام نشده بود. هدف از این تحقیق، شناسایی پپتید مهار کننده‌ی آنزیم آنژیوتانسین-۱ حاصل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ با پپسین و پانکراتین است.

روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل آنزیم پپسین و پانکراتین، ۲ و N-۳ فوریل اکریلوئیل فنیل آلانین گلایسیل گلایسین (FAPGG یا N-۳[-(۲- Furyl acryloyl]-L-phenylalanyl glycyl glycine)، از شرکت سیگما- آلدریش آمریکا و استونیتریل از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ از ریه‌ی شترمرغ استفاده شد.

تهیه‌ی هیدرولیزات: برای این منظور، هضم پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ با استفاده از آنزیم‌های پپسین و پانکراتین انجام شد (۱۱). عصاره‌ی پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ در بافر سدیم فسفات در pH بهینه‌ی آنزیم ۵ بار رقیق‌سازی شد. سپس به پروتئین رقیق شده به نسبت ۱/۲۰

(آنزیم به سوبسترا، وزنی/وزنی) آنزیم پپسین در pH حداکثر ۲/۵ اضافه شد. در این لحظه، هیدرولیز پروتئین توسط پپسین شروع شد و به مدت ۱۲۰ دقیقه در انکوباتور در دمای ۳۷ ^{o}C قرار گرفت تا پروتئین به هیدرولیزات خود تبدیل شود. سپس به مخلوط واکنش برای هضم بیشتر ابتدا pH مخلوط را به ۷/۵ رسانده شد و آنزیم پانکراتین رابه نسبت ۱/۲۰ (وزنی/وزنی آنزیم به سوبسترا) اضافه شد. پس از اتمام زمان هیدرولیز، محلول برای ۱۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفت تا فعالیت آنزیم متوقف شود. سپس سوسپانسیون حاصل در ۸۰۰۰ rpm دور در دقیقه برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی به عنوان هیدرولیزات جداسازی شد. سپس با کمک دستگاه اولترافیلتراسیون با غشای ۳۰۰۰ Da، پپتیدهای کوچک‌تر از این محدوده تهیه شد. فرایند جداسازی پپتیدها طی چند مرحله انجام شد. در هر مرحله برای انجام فرایندکروماتوگرافی بر روی هیدرولیزات، از ستون C–۱۸ مخصوص جداسازی نیمه کمی استفاده شد. برای این منظور دو حلال آب و استونیتریل مورد استفاده قرار گرفت که حاوی ۰/۱ درصد تری‌فلوئورو استیک اسید (TFA یا Trifluoroacetic Acid) در هر حلال بودند. همچنین نمونه هر بار با غلظت ۳۰ mg/ml در آب تهیه و به دستگاه تزریق شد. فرایند تفکیک پپتیدها در شیب غلظت متغیری از دو حلال نسبت به زمان صورت گرفت. به گونه‌ای که درصد ترکیب دو حلال در زمان شروع فرایند تا دقیقه‌ی پنجم، شامل ۹۵ درصد آب و ۵ درصد استونیتریل بود. این ترکیب طی مدت ۴۰ دقیقه به ۶۰ درصد آب و ۴۰ درصد استونیتریل رسید و سپس طی مدت ۱۵ دقیقه بار دیگر به وضعیت اول یعنی ۹۵ درصد آب و ۵ درصد استونیتریل باز گشت. طی این مدت، سرعت جریان حلال مورد استفاده برابر با ۲ ml بر دقیقه بود. فراکشن‌های مختلف پس از جمع‌آوری، با فریز درایر خشک شدند.

به منظور انجام فرایند تعیین توالی، محصول مورد نظر به مؤسسه‌ی بین‌المللی پروتئومیکس "Pty Ltd" واقع در سیدنی استرالیا ارسال شد. این فرایند با روش طیف‌سنجی جرمی مالدی-تاف (MALDI-TOF mass spectrometry) صورت گرفت.

سنجش فعالیت مهاری آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ و تعیین IC_{50}

سوبسترای FAPGG در طول موج ۳۴۰ nm دارای بیشترین جذب می‌باشد. این ماده سوبسترای مخصوص آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین (ACE) محسوب می‌شود و تحقیقات زیادی روی آن انجام شده است. در زمانی که فقط آنزیم و سوبسترا در محیط باشند (ماده‌ی مهاری دیگری وجود نداشته باشد)، این سوبسترا در جایگاه فعال آنزیم قرار می‌گیرد و جذب آن در ناحیه‌ی ۳۴۰ nm کمتر می‌شود. حال اگر پپتیدی در سیستم حضور داشته باشد، این پپتید می‌تواند در اشغال جایگاه با سوبسترا رقابت کند. در نتیجه، سوبسترا بسته به میزان فعالیت پپتید مهار کننده، می‌تواند در محیط به شکل آزاد، باقی بماند و کاهش جذب آن در زمان مشخص کمتر اتفاق افتد.

روش انجام این آزمایش به صورت زیر بود. در ابتدا ۲۲ µl آنزیم تبدیل آنژیوتانسین با غلظت ۵۰ mU/ml، ۱۰۰ µl نمونه‌ی پپتیدی با غلظت‌های نهایی ۰/۰۱۹ mg/ml، ۰/۰۳۹، ۰/۰۷۸ و ۰/۱۵۶، ۱۰۰ µl سوبسترای FAPGG با غلظت ۰/۵ mM و

۱۰۰ µl بافر آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ (تریس HCL- ۵۰ mM با pH ۷/۵، کلرید سدیم ۰/۳ مولار و استات روی ۱ mM) آماده و واکنش به مدت ۲ دقیقه انجام شد.

در این آزمایش، همچنین برای سنجش فعالیت مهاری پپتید، شاهد منفی مورد نیاز بود که به این صورت ساخته شد: ۲۲ µl آنزیم مبدل آنژیوتانسین، ۱۰۰ µl سوبسترا و ۲۰۰ µl بافر استفاده شد و نتایج طبق رابطه‌ی زیر محاسبه شد (۱۲).

درصد مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ = {۱ − (تغییرات جذب شاهد/تغییرات جذب مهار کننده)} × ۱۰۰

به منظور تعیین IC_{50}، به ترتیب مخلوطی از ۶۵ µl FAPGG با غلظت ۰/۵ mM، ۵۰ µl پپتید با غلظت‌های ۰/۰۱۹ mg/ml، ۰/۰۳۹، ۰/۰۷۸ و ۰/۱۵۶، ۱۷۵ µl بافر و ۳۰ µl آنزیم ACE با غلظت ۰/۰۰۲۳ mg/ml به ترتیب با هم مخلوط شدند. مقادیر جذب در طول موج ۳۳۴ nm تا زمانی که تغییرات جذب به حداکثر خود نزدیک شد، ثبت گردید. درصد مهار آنزیم از رابطه‌ی پیش‌گفته به دست آمد و نمودار درصد مهار علیه غلظت‌های پپتید رسم شد.

تعیین الگوی مهار پپتید DG-۱۰

الگوی مهار پپتید DG-۱۰، با رسم منحنی Lineweaver-Berk تعیین می‌شود. با توجه به شکل نمودار Lineweaver-Berk، می‌توان الگوی مهار آنزیمی را تعیین کرد. با تعیین الگوی مهار پپتید DG-۱۰ می‌توان به چگونگی برهمکنش آن‌ها با آنزیم پی برد. آزمایش‌های سینتیکی در پنج غلظت مختلف سوبسترای FAPGG (۰/۰۱۱ mM، ۰/۰۲۳، ۰/۰۴۶، ۰/۰۹۳ و ۰/۱۸۷) انجام شد. نمونه‌های مورد سنجش شامل ۲۲ µl آنزیم ACE، ۵۰ µl سوبسترا (با غلظت‌های مختلف)، ۵۰ µl پپتید (با دو غلظت متفاوت ۰/۰۴۶ mg/ml و ۰/۰۹۰) و ۲۰۰ µl بافر ACE است. فعالیت آنزیم در حضور پپتید (با دو غلظت متفاوت) و غیاب پپتید سنجیده شد (۱۳).

محاسبه ی پارامترهای سینتیکی

ثابت میکائیلیس- منتن (Michaelis-Menten) (K_m) و سرعت بیشینه‌ی فرایند کاتالیز شده‌ی آنزیمی (V_{max}) با رسم نمودار Lineweaver-Berk (نمودار معکوس سرعت بیشینه در برابر معکوس غلظت‌های مختلف سوبسترا) قابل محاسبه است. همچنین پارامترهای سینتیکی K_i (ثابت مهار کننده برای اتصال مهار کننده به آنزیم آزاد) با رسم نمودار ثانویه (نمودار Dixon) محاسبه شد.

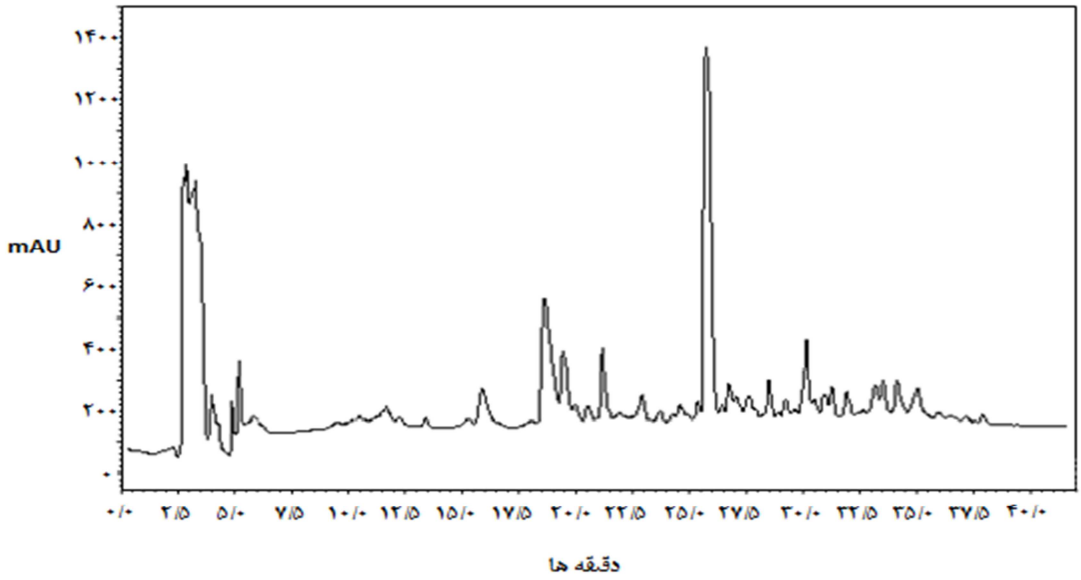
آنالیز داکینگ مولکولی

برای برهمکنش پپتید DG-۱۰ و آنزیم ACE از نرم‌افزار Molegro virtual docker استفاده شد. ساختار سه بعدی آنزیم ACE از سایت PDB گرفته شد. برای محاسبه‌ی پارامترهای برهمکنش پپتید DG-۱۰ و آنزیم ACE شامل انرژی اتصال کل، انرژی بین مولکولی و انرژی الکترواستاتیک، از نرم‌افزار MOE (Molecular operating environments) استفاده شد.

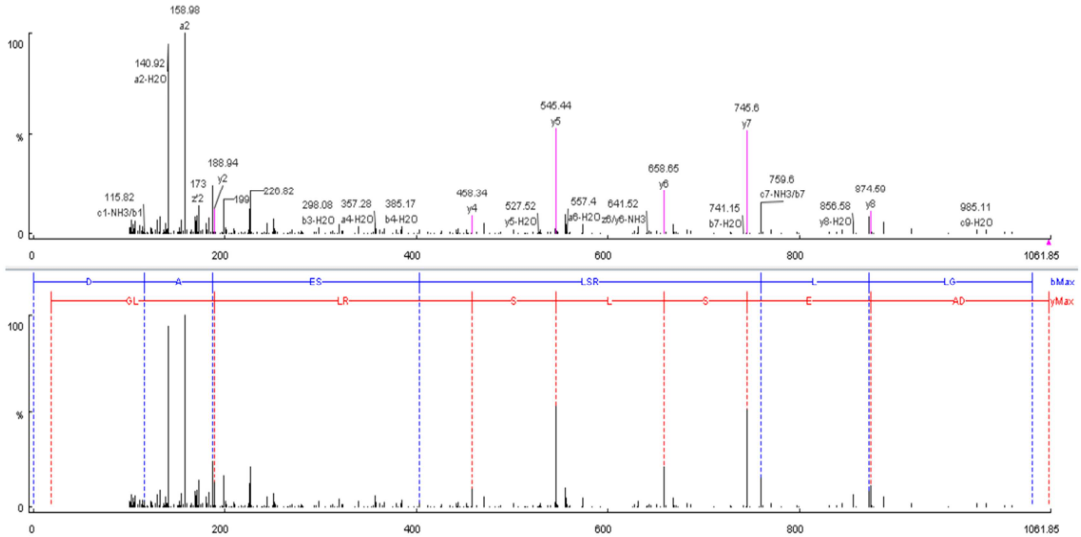
یافته‌ها

در این پژوهش پروتئین‌های تخم شترمرغ با استفاده از دو آنزیم پپسین و پانکراتین هیدرولیز شد. هیدرولیزات‌ها با استفاده از روش‌های اولترافیلتراسیون و RP-HPLC (Reversed phase- high performance liquid chromatography) جداسازی شدند. یک

قطعه‌ی پپتیدی با بیشترین مقدار سطح زیر پیک RP-HPLC خالص‌سازی شد (شکل ۱). به منظور دست‌یابی به پپتیدهای خالص‌تر، این قطعه‌ی پپتیدی بار دیگر با روش RP-HPLC خالص‌سازی شد. پپتید خالص به روش MALDI-TOF mass spectrometry تعیین توالی شد؛ توالی پپتید DAESLSRLLG و ۱۰-DG نامیده شد و وزن ملکولی آن ۱۰۶۰/۱۸ Da محاسبه شد (شکل ۲).



شکل ۱. کروماتوگرام‌های RP-HPLC (Reversed phase- high performance liquid chromatography) هیدرولیزات پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ با آنزیم‌های پپسین و پانکراتین. پیک اصلی خارج شده در دقیقه‌ی ۲۶ جمع‌آوری و توالی پپتید آن با کمک طیف‌سنجی جرمی تعیین شد

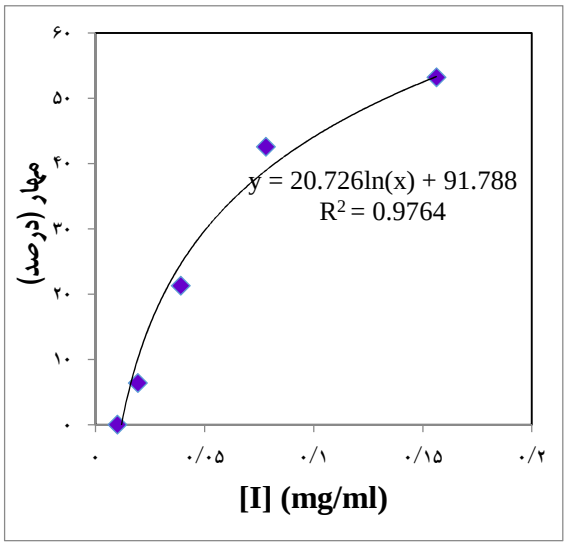


شکل ۲. طیف اسپکتروفتومتری جرمی پپتید خالص شده (بالا). جرم قطعات ایجاد شده از پپتید اولیه ۱۰-DG (پایین) تفسیر نتایج جرمی و تعیین توالی پپتید ۱۰-DG

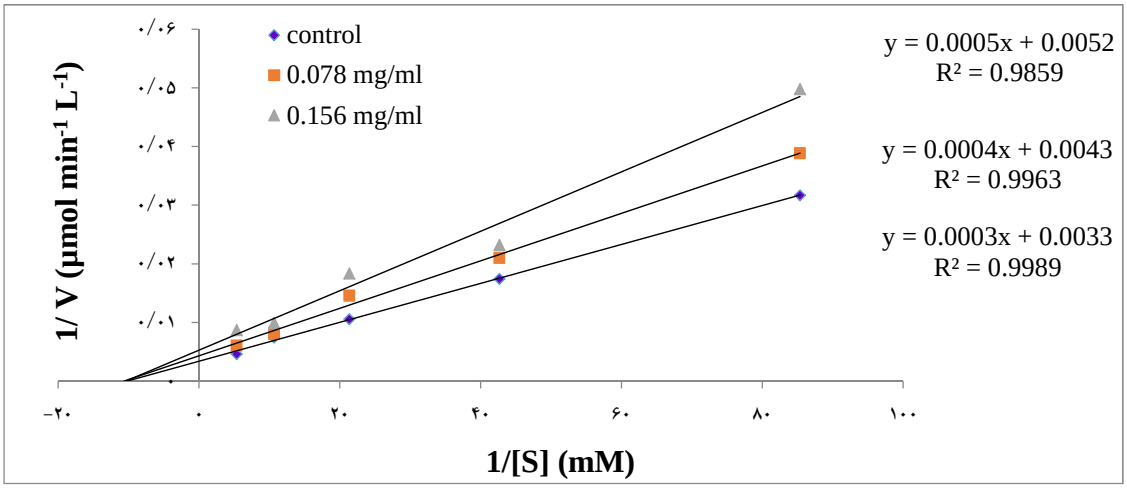
فعالیت مهاری ACE در In vitro تعیین شد. IC_{50} غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد فعالیت آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ تعریف می‌شود. شکل ۳ فعالیت مهاری پپتید DG-۱۰ را نشان می‌دهد. در غلظت فعالیت مهاری ۵۳/۱۹ درصد و میزان IC_{50} ۰/۱۳۳mg محاسبه شد. برای تعیین الگوی مهار پپتید DG-۱۰، با رسم نمودار Lineweaver-Berk الگوی مهار آنزیمی تعیین شد.

الگوی مهار پپتید DG-۱۰ به صورت غیر رقابتی است (شکل ۴). این نوع مهار به این معنا است که پپتید مهار کننده به جایگاه فعال آنزیم متصل نمی‌شود؛ بلکه به جایگاهی غیر از جایگاه فعال آنزیم اتصال می‌یابد.

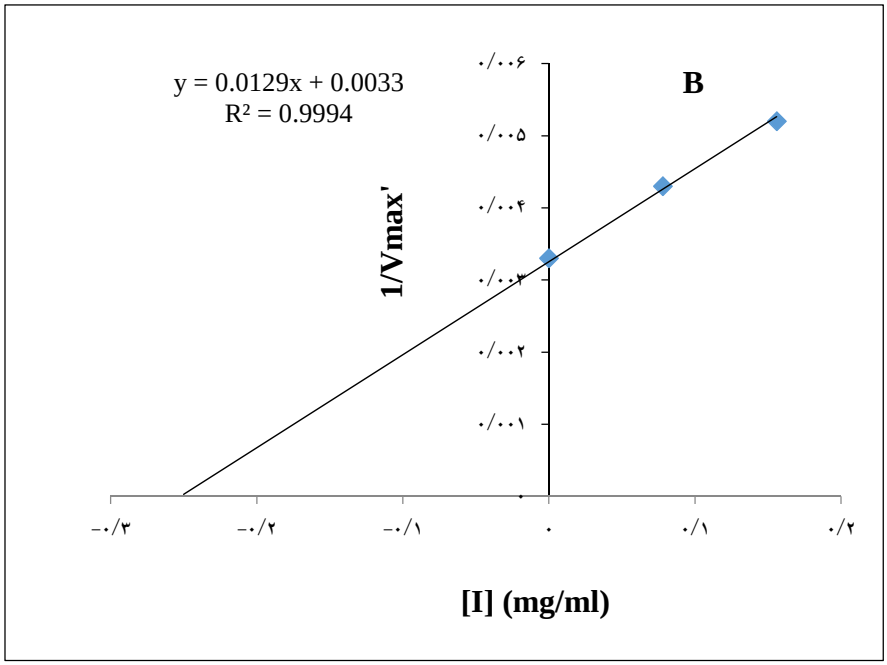
تعیین پارامترهای سینتیکی مهار آنزیم: برای تعیین پارامترهای سینتیکی مهار آنزیمی (K_m، V_{max} و K_i) از نمودارهای Lineweaver-Berk و نمودارهای ثانویه (Dixon) استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که در نمودارهای Lineweaver-Berk در غیاب و در حضور غلظت‌های مختلف پپتید مهار کننده‌ی شیب، عرض از مبدأ ثابت و طول از مبدأ نمودار کاهش می‌یابد که این مؤید مهار غیر رقابتی است. ثابت مهار کننده برای اتصال به آنزیم آزاد (K_i) با رسم نمودار ثانویه محاسبه شد که برابر با ۰/۲۵ mg/ml به دست آمد (شکل ۵).



شکل ۳. تعیین مقدار IC_{50} پپتید DG-۱۰ در مهارآنزیم ACE (Angiotensin-converting enzyme)



شکل ۴. نمودار Lineweaver-Berk برای تعیین الگوی مهار پپتید DG-۱۰ در فعالیت آنزیم ACE (Angiotensin-converting enzyme). فعالیت آنزیم در غیاب پپتید و در حضور دو غلظت متفاوت پپتید، ۰/۱۵۵ mg/ml و ۰/۳۱۰ mg/ml تعیین شده است. نمودار Lineweaver-Berk الگوی مهار غیر رقابتی را برای این پپتید نشان می‌دهد

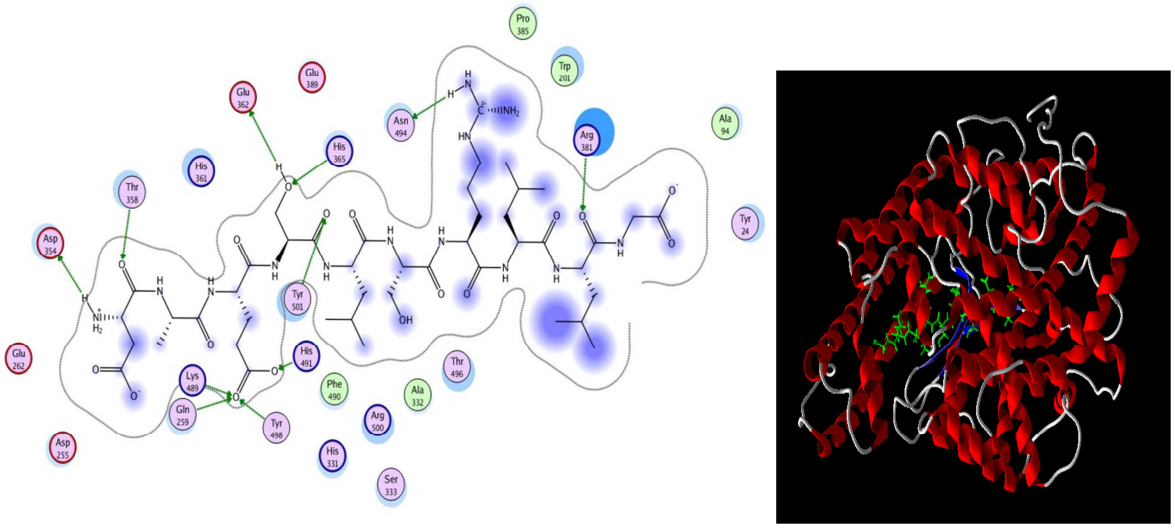


شکل ۵. نمودار ثانویه برای مهار غیر رقابتی توسط پپتید DG-۱۰. با رسم این نمودارهای ثانویه ثابت اتصال مهار کننده به آنزیم آزاد (K_i) به دست آمد. K_i از طول از مبدأ نمودار شیب نمودار Lineweaver-Berk در برابر غلظت‌های مختلف مهار کننده محاسبه می‌شود

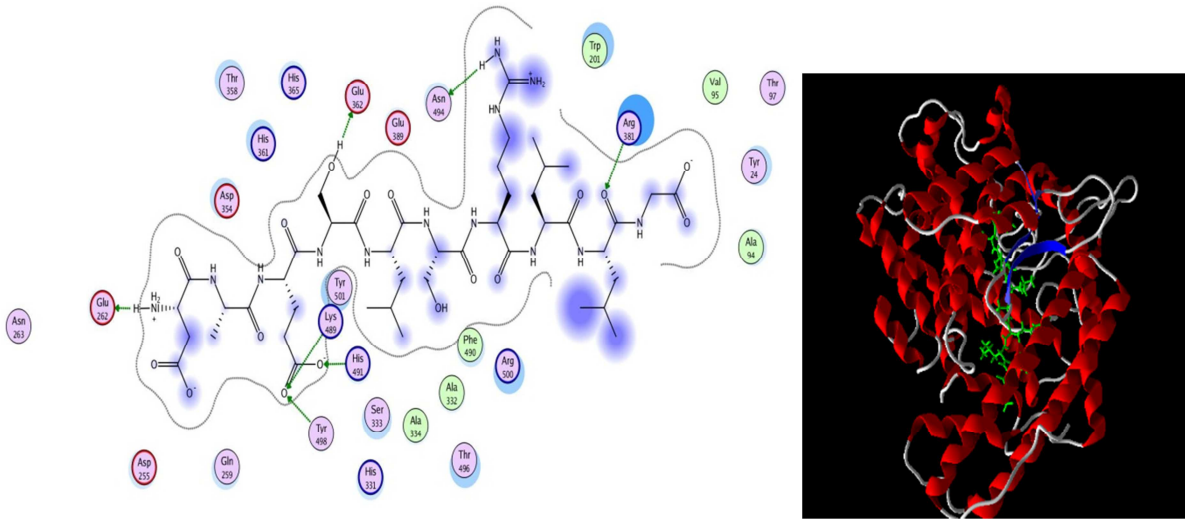
نتایج نشان داد که پپتید DG-۱۰ فعالیت بالای مهار آنزیم ACE دارد. برای تأیید آزمایش داکینگ مولکولی انجام شد. آزمایش‌های داکینگ با کنفورماسیون پایدار پپتید DG-۱۰ انجام شد. آنزیم ACE یک زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی تکی شامل ۶۲۵ اسید آمینه در دو دمین شامل ۲۹۲-۱، دمین دوم شامل ۶۲۳-۲۹۳ و آنزیم بیشتر از آلفا هلیکس و مقدار کمی صفحات بتا می‌باشد. شکل‌های ۶ و ۷ داکینگ مولکولی و نیروی برهمکنش پپتید DG-۱۰ و آنزیم ACE را نشان می‌دهند. بهترین درجه‌ی داکینگ ۲۲۸/۲۷۷- در بین ۱۰ ران داکینگ به دست آمد. شکل ۶ پپتید در مکان اتصال N-دمین با برخی از اسیدهای آمینه شامل آرژنین ۳۸۱، آسپاراژین ۴۹۴، هیستیدین ۳۶۵، گلوتامیک اسید ۳۶۲، ترئونین ۳۵۸، آسپارتیک اسید ۳۵۴، تیروزین ۵۰۱، تیروزین ۴۹۸، هیستیدین ۴۹۱، لیزین ۴۸۹ و گلوتامین ۲۵۹، برهمکنش می‌کند. این اسیدهای آمینه می‌توانند شامل برهمکنش الکترواستاتیک و هیدروژنی باشند.

شکل ۷ در مکان اتصال C-دمین با برخی از اسیدهای آمینه شامل آرژنین ۳۸۱، آسپاراژین ۴۹۴، گلوتامیک اسید ۳۶۲، گلوتامیک اسید ۲۶۲، تیروزین ۴۹۸، هیستیدین ۴۹۱ و لیزین ۴۸۹ برهمکنش می‌کند. این اسیدهای آمینه می‌توانند شامل برهمکنش الکترواستاتیک و هیدروژنی باشند.

جدول ۱ تمایل اتصال pKi، انرژی بین مولکولی و انرژی اتصال انرژی الکترواستاتیک بین پپتید DG-۱۰ و آنزیم ACE نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد باقی‌مانده‌ی اسیدهای آمینه شامل گلوتامیک اسید، لوسین و گلایسین در پپتید DG-۱۰ در اتصال آنزیم ACE نقش دارد.



شکل ۶. نقشه‌ی برهمکنش‌های پپتید DG-۱۰ و N-دمین آنزیم ACE (Angiotensin-converting enzyme) (بالا) و نمایش کلی برهمکنش پپتید- آنزیم (پایین)



شکل ۷. نقشه‌ی برهمکنش‌های پپتید DG-۱۰ و C-دومین آنزیم ACE (Angiotensin-converting enzyme) (بالا) و نمایش کلی برهمکنش پپتید- آنزیم (پایین)

جدول ۱. تخمین مقادیر تمایل اتصال (pK_i) و انرژی اتم‌ها برای کمپلکس پپتید DG-۱۰ و آنزیم ACE (Angiotensin-converting enzyme)

سیستم	انرژی پیوند الکترواستاتیک (Kcal/mol)	انرژی پیوند هیدروژنی (Kcal/mol)	انرژی بین مولکولی (Kcal/mol)	انرژی اتصال (Kcal/mol)	pKi (µM)
C-دمین DG-۱۰	-۱۸/۷۰	-۱۵۴/۹۳	۹/۲۳	-۱۶۲/۲۱۵	۲۲/۳۰۹
N-دمین DG-۱۰	-۱۸/۱۲	-۱۵۵/۸۶	۹/۲	-۱۶۴/۰۵۸	۲۳/۱۹۷

بحث

فشار خون بالا یکی از بیماری‌های قلبی- عروقی رایج است که حدود ۲۰-۱۵ درصد از جمعیت بالغ جهان را درگیر خود ساخته است و با خود عوارضی مانند آترواسکلروز، سکته، انفارکتوس میوکارد و آخرین مرحله‌ی بیماری کلیوی را به همراه می‌آورد. در این خصوص نقش آنزیم ACE در تنظیم فشار خون بسیار مهم است.

همان‌طور که تعادل مایعات و نمک‌ها در تنظیم فشار خون در پستانداران دارای اهمیت بالایی است، آنزیم ACE نیز دارای نقش مهمی در این امر می‌باشد. آنزیم ACE یک «دی پپتیدیل کربوکسی پپتیداز» است که دکاپپتید غیر فعال آنژیوتانسین-۱ را با جدا کردن هیستیدیل- ال- لوسین از انتهای کربوکسیلی آن به اکتاپپتید فعال آنژیوتانسین-۲ تبدیل می‌کند. آنژیوتانسین-۲ سبب تنگ شدن عروق و افزایش فشار خون می‌گردد. ACE همچنین برادی‌کینین را که یک پپتید گشاد کننده‌ی عروقی است، غیر فعال می‌کند و بنابراین فشار خون را افزیش می‌دهد. از این رو، مهار آنزیم ACE می‌تواند یکی از راه‌های کنترل پرفشاری خون باشد و یکی از ویژگی‌هایی که در مورد پپتیدهای فعال زیستی تاکنون به اثبات رسیده است، فعالیت مهار آنزیم ACE می‌باشد (۱۵-۱۴).

با در نظر گرفتن عوارض جانبی مصرف داروهای شیمیایی، اهمیت استفاده از یک منبع دارویی زیستی و طبیعی در درمان بیماری‌ها روشن می‌گردد. حضور اسیدهای آمینه هیدروفوب شامل لوسین و آلانین در پپتید DG-۱۰ باعث افزایش اثر مهار کنندگی فعالیت ACE می‌شود. الگوی مهار آنزیم، نشان می‌دهد که پپتید DG-۱۰ مهار کننده، چگونه می‌تواند به آنزیم اتصال یابد و فعالیت آنزیم را مهار سازد.

نتایج حاصل از مطالعات سینتیکی نشان می‌دهد که الگوی مهار پپتید DG-۱۰ به صورت غیر رقابتی است (شکل ۳). این نوع مهار به این معنا است که پپتید مهار کننده به جایگاه فعال آنزیم متصل نمی‌شود؛ بلکه به جایگاهی غیر از جایگاه فعال آنزیم اتصال می‌یابد (۱۶). الگوی مهار پپتیدهای مهار کننده، با ساختار پپتید مرتبط است. اتصال سوبسترا یا پپتیدهای مهار کننده به ACE به توالی تری پپتید انتهای کربوکسیلی وابسته است. اگر چه بیشتر پپتیدهای خالص شده از منابع طبیعی به عنوان مهار کننده‌ی رقابتی عمل می‌کنند؛ برخی پپتیدهای مهار کننده دارای الگوی مهار غیر رقابتی، نارقابتی و یا مخلوط هستند. برای مثال، پپتیدهای MY، IY، LW، LIY و YGGY به عنوان مهار کننده‌های غیر رقابتی (۱۷) و پپتیدهایIW، FY و YLYEIA به عنوان مهار کننده‌های نارقابتی عمل می‌کنند (۱۸).

در مطالعه‌ای، خالص‌سازی یک پپتید دارای فعالیت بالای مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ و آنتی‌اکسیدانتی از هیدرولیز ژلاتین پوست نوعی ماهی در اقیانوس آرام به نام Cod انجام شد. در این مطالعه، ژلاتین از پوست استخراج و توسط آنزیم‌های پپسین، تریپسین و کیمتریپسین هیدرولیز شد. این پپتید دارای توالی LLMLDNDLPP و وزن ملکولی ۱۱۴۰/۳۷ دالتون است. این پپتید به صورت غیر رقابتی، آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ را مهار کرد و همچنین این پپتید بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد. این نتایج نشان دادند که این پپتید

می‌تواند به عنوان مکمل غذایی برای درمان فشار خون بالا و جلوگیری از استرس اکسیداتیو استفاده شود (۱۹). این پپتید، مشابه پپتید استخراج شده در تحقیق حاضر دارای اسیدهای آمینه‌ی لوسین و آسپارتیک اسید می‌باشد. این اسیدهای آمینه، نقش مهمی در مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ دارد.

در مطالعه‌ی دیگری اثر آنتی‌اکسیدانی و مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ بر روی سوسیس پتروواک (Petrovac sausage) انجام شد. در این مطالعه، سوسیس پتروواک یک نوع سوسیس تخمیری خشک شده‌ی خاص ایالت وجودینای صربستان است. پروتئین استخراج شده از این سوسیس قبل از فراوری، رادیکال ۱،۱- دیفنیل-۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH یا 1،1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) را که یک ترکیب برای سنجش آنتی‌اکسیدانتی است، در حد ۲۷/۶۱ درصد حذف کرد و مقدار این فعالیت تا روز ۹۰ فراوری به حدود ۴۵ درصد رسید. فعالیت مهار آنزیم ACE نیز در پروتئین فراوری نشده ۲۷/۱۱ درصد بود که تا روز ۹۰ به حدود ۷۱ درصد رسید (۲۰).

در مطالعه‌ی دیگری توسط Jamdar و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ توسط پروتئین بادام زمینی و همچنین اثر درجه‌ی هیدرولیز بر فعالیت آن مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت حذف رادیکال DPPH توسط هیدرولیزات‌هایی با درجه‌ی هیدرولیز ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد به ازای غلظت ۲ mg/ml از نمونه، حدود ۵۰ درصد بود. در حالی که این مقدار برای درجه‌ی هیدرولیز ۱۰ درصد، حدود ۲۱ درصد بود. فعالیت مهار آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین-۱ به ازای ۲۵۰ µg نمونه یا غلظت نهایی ۰/۷ mg/ml بیان شد. این فعالیت برای پروتئین بادام زمینی ۶۶ درصد و برای هیدرولیزات‌های مختلف ۹۷-۹۰ درصد بود که بیشترین مقدار آن مربوط به درجه‌ی هیدرولیز ۴۰ درصد بود (۲۱).

مطالعه‌ی اثر آنتی‌اکسیدانی و مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ توسط بامبوزا کائولیس (Bambusa caulis in liqiamen) صورت گرفته است. بامبوزا کائولیس یک مایع مغذی استخراج شده از ساقه‌ی بامبو به وسیله‌ی گرما می‌باشد. در این مطالعه، مقدار IC_{50} برای حذف رادیکال‌های DPPH و پروکسیل توسط بامبوزا کائولیس به ترتیب ۷۹/۸۵ µg/ml و ۲۸/۸۵ بود. حذف رادیکال‌های DPPH و پروکسیل با افزایش غلظت بامبوزا کائولیس تا ۱۲۵ µg/ml به ترتیب به ۸۳/۱۷ و ۹۰/۰۰ درصد رسید. همچنین مهار آنزیم ACE در غلظت ۲۰۰۰ µg/ml از نمونه به ۵۲/۴۱ درصد رسید. در حالی که مقدار IC_{50} برای آن ۱۷۵۰ µg/ml بود (۱۹).

در بین پپتیدهای شناسایی شده، پپتید MKR دارای مقدار IC_{50} برابر با ۰/۲ µM است. این پپتید دارای C-ترمینال ARG است که به دلیل شارژ مثبت گروه گوانیدین، برای بازدارندگی تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ اهمیت بسیاری دارد. علاوه بر این، گزارش شده است که آمینو اسید K/R با بار مثبت، باعث تسهیل پیوند پپتید- آنزیم می‌شود و بنابراین قدرت بازدارندگی تری‌پپتیدها را تقویت می‌کند. به عنوان مثال، IRY به دلیل شارژ مثبت آمینو اسید باقی‌مانده در میانه‌ی این موقعیت، فعالیت بازدارندگی ۵ برابر قوی‌تر از INY دارد. در این نسبت، K باقی‌مانده در این پپتید MKR به احتمال زیاد نقش

مهمی را در قدرت بازدارندگی تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ ایفا می‌کند. در این جا، آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ ترجیح می‌دهد با مهار کننده‌هایی بر همکنش دهد که آمینو اسید آب‌گریز باقی‌مانده در سه موقعیت C-ترمینال اول دارند. آمینواسیدهای آب‌دوست باقی‌مانده‌ی C-ترمینال در پپتید MKR، باید نقش حیاتی را در ورود مرکز فعال آب‌گریز ACE ایفا کند. بنابراین باقی‌مانده‌ها در این سه موقعیت MKR همگی در قدرت بازدارندگی این پپتید مشارکت می‌کنند. این پپتید شباهت نسبی با پپتید MRW از اسفناج دارد. فعالیت ضد فشار خون پپتید MRW ۰/۶ µM گزارش شده است (۲۲).

در بین تمام تری‌پپتیدهای خالص، پپتید VAW قوی‌ترین فعالیت بازدارندگی ACE با مقدار IC_{50} برابر با ۰/۰۸ µM از خود نشان داده است. به طور کلی، تری‌پپتیدهای دارای باقی‌مانده (W، F یا Y) در C- ترمینال و آلیفاتیک شاخه‌ای (V، I یا L) آمینو اسید باقی‌مانده در N-ترمینال دارای قدرت بازدارندگی تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ قوی دارند. توالی پپتیدهای VAW رابطه‌ی ساختار- فعالیت توصیف شده در بالا را دارد. بسیاری از توالی‌های مشابه تری‌پپتیدها در گزارش‌های دیگری مانند VAP ۲ µM و همچنین IMW ۱/۸ µM مطرح شده است. شایان ذکر است که پپتید RGY دارای باقی‌مانده‌ی آمینو اسید آروماتیکی (Y) در C-ترمینال است، اما باقی‌مانده‌ی آلیفاتیک شاخه‌ای در N-ترمینال ندارد. بر این اساس، این پپتید فعالیت بازدارندگی کمتری در مقابل ACE در مقایسه با VAW دارد.

در مطالعه‌ی Rohrbach و همکاران نشان داده شد که موقعیت دو تا مانده به آخر در C-ترمینال در تری‌پپتید برای شناسایی بیشتر پپتید در برابر تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ اهمیت دارد. در توالی IYRGYR، احتمال می‌رود باقی‌مانده‌ی آمینو اسید (R) نقش مهمی را در برش ACE در برابر این نوع تری‌پپتید ایفا کند (۲۳). با توجه به مطالعات انجام شده، اسیدهای آمینه‌ی گلایسن، لوسین و آسپارتیک اسید در پپتید DG-۱۰ نقش مهمی در مهار آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین-۱ می توانند داشته باشند.

نتیجه گیری نهایی این که توسعه‌ی ترکیبات ضد فشار خون از منابع طبیعی در علوم زیستی و غذایی مهم است. در این تحقیق، یک پپتید ضد فشار خون از پروتئین‌های سفیده‌ی تخم شترمرغ با هضم آنزیم‌های پپسین و پانکراتین شناسایی گردید. پپتید ضد فشار خون DG-۱۰ با قدرت بالایی فعالیت آنزیم تبدیل کننده‌ی آنژیوتانسین- ۱ را مهار می کند. نتایج پیشنهاد می‌کند که این پپتید ممکن است نوید دهنده‌ی داروی طبیعی ضد فشار خون باشد. هر چند مطالعات بیشتر در سیستم In vivo ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارکنان و دانشجویان آزمایشگاه تحقیقاتی بیوشیمی دانشکده‌ی علوم دانشگاه فردوسی تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of

randomised drug trials in their epidemiological context. Lancet 1990; 335(8693): 827-38.
2. Persson PB. Renin: origin, secretion and synthesis. J Physiol 2003; 552(Pt 3): 667-71.
3. Bakris GL, Toto RD, McCullough PA, Rocha R, Purkayastha D, Davis P. Effects of different ACE inhibitor combinations on albuminuria: results of the GUARD study. Kidney Int 2008; 73(11): 1303-9.
4. Chen Q, Xuan G, Fu M, He G, Wang W, Zhang H, et al. Effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from rice dregs protein on antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. Asia Pac J Clin Nutr 2007; 16(Suppl 1): 281-5.
5. Miguel M, Aleixandre A. Antihypertensive peptides derived from egg proteins. J Nutr 2006; 136(6): 1457-60.
6. Iroyukifujita H, Eiichiyokoyama K, Yoshikawa M. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. J Food Sci 2000; 65(4): 564-9.
7. Liu J, Yu Z, Zhao W, Lin S, Wang E, Zhang Y, et al. Isolation and identification of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from egg white protein hydrolysates. Food Chem 2010; 122(4): 1159-63.
8. Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. J Agric Food Chem 1996; 44(9): 2619-23.
9. Li B, Chen F, Wang X, Ji B, Wu Y. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization_mass spectrometry. Food Chem 2007; 102(4): 1135-43.
10. Mendis E, Rajapakse N, Byun HG, Kim SK. Investigation of jumbo squid (Dosidicus gigas) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. Life Sci 2005; 77(17): 2166-78.
11. Park PJ, Jung WK, Nam KS, Shahidi F, Kim SK. Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. J Amer Oil Chem Soc 2001; 78(6): 651-6.
12. Li GH, Le GW, Shi YH, Shrestha S. Angiotensin I_converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. Nutrition Research 2004; 24(7): 469-86.
13. Lopez-Fandino R, Otte J, van Camp J. Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity. International Dairy Journal 2006; 16(11): 1277-93.
14. Cheung HS, Wang FL, Ondetti MA, Sabo EF, Cushman DW. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. J Biol Chem 1980; 255(2): 401-7.
15. Megias C, Pedroche J, Yust MM, Giron-Calle J, Alaiz M, Millan F, et al. Production of copper-chelating peptides after hydrolysis of sunflower proteins with pepsin and pancreatin. LWT-Food Science and Technology 2008; 41(10): 1973-7.
16. Holmquist B, Bunning P, Riordan JF. A continuous spectrophotometric assay for angiotensin converting enzyme. Anal Biochem 1979; 95(2): 540-8.
17. Lahogue V, Rehel K, Taupin L, Haras D, Allaume P. A HPLC-UV method for the determination of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. Food Chemistry 2010; 118(3): 870-5.
18. Miguel M, Manso M, Aleixandre A, Alonso MJ, Salaices M, Lopez-Fandino R. Vascular effects, angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity, and antihypertensive properties of peptides derived from egg white. J Agric Food Chem 2007; 55(26): 10615-21.
19. Sun J, Yu J, Zhang PC, Tang F, Yue YD, Yang YN, et al. Isolation and identification of lignans from Caulis Bambusae in Taenia with antioxidant properties. J Agric Food Chem 2013; 61(19): 4556-62.
20. Vastag ua, Popoviç L, Popoviç S, Petroviç L, Pericin D. Antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in the water-soluble protein extract from Petrovac Sausage (Petrovska Kolbasa). Food Control 2010; 21(9): 1298-302.
21. Jamdar SN, Rajalakshmi V, Sharma A. Antioxidant and ace inhibitory properties of poultry viscera protein hydrolysate and its peptide fractions. J Food Biochem 2012; 36(4): 494-501.
22. Wu J, Aluko RE, Nakai S. Structural requirements of Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides: quantitative structure-activity relationship study of di- and tripeptides. J Agric Food Chem 2006; 54(3): 732-8.
23. Rohrbach MS, Williams EB, Jr., Rolstad RA. Purification and substrate specificity of bovine angiotensin-converting enzyme. J Biol Chem 1981; 256(1): 225-30.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 06.08.2014
Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014
Accepted: 05.10.2014

Identification New Angiotansin-1 Converting Enzyme Inhibitory Peptide from Ostrich Egg White Protein Hydrolysate

Masoud Homayouni-Tabrizi[1], Ahmad Asoodeh PhD[2], Mohammad-Reza Abbaszadegan PhD[3], Khadijeh Shahrokhabadi PhD[4], Mahboobeh Nakhaie-Moghaddam PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Due to the side effects of anti-hypertension drugs, extracting bioactive peptides from natural sources is of great importance. The mail goal of this study was identifying a peptide for enzyme hydrolytic of ostrich egg white protein hydrolysate (OEWPH) and investigating its inhibitory effects on angiotansin-1 converting enzyme (ACE).

Methods: The ostrich egg white protein hydrolysate was prepared using pepsin and pancreatin and then fractionated using evaluated reveres-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). Tandem mass analysis of the purified peptide was used to reveal peptide sequence. ACE inhibitory effect and kinetic parameters of the reaction in the presence of the peptide was evaluated. Molecular docking was used to determine the interaction parameters of ACE-peptide comp.

Findings: Peptide sequencing of the selected peptide revealed a DAESLSRLLG (MW = 1060/18 Da) and named DG-10. The DG-10 peptide showed a potent inhibitory effect on ACE with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) value of 0.133 mg/ml. Lineweaver-Burk plot exhibited a non-competitive behavior in the presence of the DG-10 peptide. Molecular interactions and energy binding of the peptide with ACE were investigated via molecular docking.

Conclusion: The DG-10 peptide isolated from ostrich egg white protein hydrolysate displayed a potent inhibitory effect on ACE.

Keywords: Angiotansin-1 converting enzyme (ACE), Ostrich egg white protein hydrolysate (OEWPH), Peptide

Citation: Homayouni-Tabrizi M, Asoodeh A, Abbaszadegan MR, Shahrokhabadi Kh, Nakhaie-Moghaddam M. **Identification of New Angiotansin-1 Converting Enzyme Inhibitory Peptide from Ostrich Egg White Protein Hydrolysate.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1496-508

1- PhD Student, Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Chemistry, School of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Professor, Department of Human Genetics, Immunology Research Center, Avicenna Research Institute AND Medical Genetics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4- Assistant Professor, Department of Biology, School of Sciences, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran
Corresponding Author: Ahmad Asoodeh PhD, Email: asoodeh@um.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۰

مروری بر تکامل زبان و ژنتیک اختلالات تکلم

سید محمد موسوی[۱]، الهه کمالی[۲]، پدیده کریمی[۳]، دکتر منصور صالحی[۴]

مقاله مروری

چکیده

زبان به عنوان ویژگی انحصاری انسان، لازمه‌ی تکامل فرهنگ و تشکیل اجتماع انسانی به شمار می‌رود و در صدر ویژگی‌های تکامل یافتگی انسان جای دارد. مقوله‌ی زبان و تکلم از منظر حوزه‌های مختلفی از جمله حوزه‌ی زیست‌شناسی قابل تأمل و تعمق است. به نحوی که زبان‌شناسی زیستی (Biolinguistics) حوزه‌ای میان رشته‌ای است که به مطالعه‌ی زیست‌شناختی و تکامل زبان می‌پردازد و می‌کوشد تا عملکردی چرخه‌ای را در ذهن بیابد که ما را قادر به ادراک اصول و مبانی زبان می‌سازد. ژنتیک زبان به عنوان زیر مجموعه‌ای از زبان‌شناسی زیستی وظیفه‌ی ردیابی مؤلفه‌های ژنتیکی را در شکل‌گیری و ادراک زبان بر عهده دارد. اگر چه تئوری‌های متنوعی در رابطه با منشأ زبان تا به امروز مطرح شده است، اما بی‌گمان نوعی تکامل یافتگی ژنتیکی جهت برخورداری از تکلم را به خصوص با توجه به دستاوردهای علمی اخیر می‌توان از اصلی‌ترین ملزومات این توانمندی تلقی کرد. در طی سال‌های اخیر، محققان با شناسایی ژن‌های معیوب در طیفی از اختلالات زبانی، به وضوح نیازمندی دستگاه تکلم به صحت عملکرد این ژن‌ها را تأیید کرده‌اند. با این حال، کماکان در پاسخ به این سؤال کلیدی درمانده‌ایم که «آیا وجود و صحت عملکرد این ژن‌ها و در یک نگاه وسیع‌تر، تجهیزات و تمهیدات ژنتیکی به خصوص به لحاظ تکاملی و منشأ زبان، تنها شرط لازم جهت برخورداری از تکلم هستند و یا شرط کافی؟». در این مطالعه‌ی مروری، جنبه‌هایی از تکامل زبان و ژنتیک اختلالات تکلم همراه با پیشرفت‌های چشمگیر و مطالعات جدید در این زمینه مورد بحث قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: زبان، ژنتیک، تکامل، اختلالات تکلم

ارجاع: موسوی سید محمد، کمالی الهه، کریمی پدیده، صالحی منصور. **مروری بر تکامل زبان و ژنتیک اختلالات تکلم.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۵۲۹-۱۵۰۹

مقدمه

«انسان حیوان ناطق است»، جمله‌ی مشهوری که در تعریف منطقی انسان فراوان به کار می‌رود. در یک نگاه ژرف و دقیق، زبان پدیده‌ای اسرارآمیز و فوق‌العاده پیچیده‌ای است که تا امروز نه از منشأ و چگونگی پیدایش آن در انسان و نه از فیزیولوژی و نوروبیولوژی آن اطلاعات کافی و دقیق در دست است. در مقام تعریف، زبان به چیدمان مشخصی از نشانه‌های قراردادی (آواها یا نشانه‌های کلامی، نشانه‌های نوشتاری و یا نشانه‌های اشاره‌ای) که در امتداد زمان شکل می‌گیرند، اطلاق می‌گردد که برای انتقال پیام و نیز نمایش و فهم ارتباطات و اندیشه‌ها به کار گرفته می‌شود و باعث شکل‌گیری مفهومی ذهنی در فرد مقابل می‌گردد. به عبارت دیگر، زبان پدیده‌ای ذهنی است که به صورت گفتار، نوشتار و یا اشاره تجلی می‌یابد. نمی‌دانیم و شاید هرگز نتوان

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و آزمایشگاه ژنتیک و تشخیص هویت، مرکز پزشکی قانونی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مرکز ژنتیک پزشکی ژنوم، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر منصور صالحی
Email: m_salehi@med.mui.ac.ir

دریافت که ذهن عادی انسان، چگونه زبان را همچون ابزاری برای بیان و انتشار بی قید و شرط اندیشه و احساس به کار می‌گیرد. زبان را می‌توان سیستمی دو سویه دانست که از یک سو، راه به بیان افکار و مفاهیم مصنوعی ذهنی در قالب یک سری نشانه‌ها و علامات می‌دهد و از سوی دیگر، تفسیر معکوس آن علایم و نشانه‌ها به شکل افکار و مفاهیم ذهنی را ممکن می‌سازد (۱).

به عبارت دیگر، به راحتی قابل فهم است که این ریزش، همیشه از ذهن به سمت زبان نیست؛ بلکه در مسیر تکامل و رشد فکری و ذهنی انسان، میان اندیشه و تکلم ارتباطی بس تنگاتنگ برقرار است؛ به نحوی که از منظر فلسفی نیز، تکلم و تفکر لازم و ملزوم یکدیگرند و تکلم را هم محصول تفکر و هم لازمه‌ی رشد و بلوغ آن می‌دانند. به طور دقیق، همین ارتباط تنگاتنگ را روان‌شناسان اجتماعی (Social psychology) بین زبان و شناخت اجتماعی (Social cognition) حاکم می‌دانند. شناخت اجتماعی مشتمل بر تعدادی قابلیت مشخص مغزی همچون یادگیری اجتماعی (Social learning)، تقلید کردن (Imitation)، تعقیب چشمی (Gaze following) و تئوری ذهن (Theory of mind) می‌باشد که لازمه‌ی شکل‌گیری رفتارهای اجتماعی جانوران و تشکیل فرهنگ تقلیدی انسانی است (۱).

برخی محققین همچون داروین (به کیفیتی که در کتاب «تبار انسان» (The descent of man) خود عنوان کرده است) به طور قوی بر این باورند که تکامل زبان انسان به فرایند تکامل مغز او کمک کرده است؛ بدین معنا که در یک نگاه کلان، هنوز به طور کامل مشخص نیست که زبان علت تکامل مغز انسان است یا معلول آن. بنابراین زبان جایگاهی بی‌نظیر در انسان بودن ما دارد. تأثیر زبان در شخصیت روان‌شناختی و اجتماعی انسان به قدری محرز و عمیق است که در سال‌های اخیر مشخص شده است که شخص با فراگیری زبان دوم، واجد شخصیت و حتی ادراک ذهنی تازه و متفاوتی نیز می‌گردد (۲). تعداد زبان‌های زنده‌ی دنیا تا امروز بر اساس آخرین آمار وب‌سایت جهانی نژادشناسی، ۷۱۰۵ زبان گزارش شده است (۳).

تاریخچه‌ی تفکر و نظریه‌پردازی در عرصه‌ی زبان حداقل به ۴-۳ قرن پیش از میلاد مسیح بر می‌گردد. با این حال، اولین سرنخ‌ها مبنی بر دخالت ژن‌ها در شکل‌گیری زبان در سال ۱۹۹۸ توسط Fisher و همکاران (محققان دانشگاه آکسفورد) با شناسایی ناحیه‌ی ویژه‌ای بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷، در بررسی خانواده‌ی معروف KE پدیدار شد. نیمی از جمعیت این خانواده، از نوعی اختلال کلامی با توارث اتوزوم غالب رنج می‌بردند (۴). این یافته پس از مطالعات بیشتر، در نهایت با شناسایی ژن مورد نظر (FOXP۲) و نیز جهش نابود کننده‌ی عملکرد آن، به شکل تأیید شده‌ای در سال ۲۰۰۱ انتشار یافت و دروازه‌ی جدیدی را در تحقیقات زبان‌شناسی زیستی گشود (۵).

اگر چه کماکان اعتقاد رایج و پذیرفته شده در محافل علمی جهان، انحصار تکلم برای رده‌ی انسانی است؛ با این حال با ظهور کشفیات علمی اخیر در حوزه‌ی ژنتیک زبان و شناسایی ژن‌ها و مدارهای عصبی کنترل کننده‌ی تکلم در انسان و یافتن همولوگ‌های این ژن‌ها و مدارهای عصبی در برخی موجودات دیگر همچون شامپانزه‌ها، وال‌ها، میمون‌ها

و حتی پرندگان آوازخوان که قادر به برقراری ارتباطات صوتی با همنوعان خود می‌باشند، زمزمه‌هایی از شکستن این انحصار از انسان در بین برخی از محققین این حوزه به گوش می‌خورد. به طور حتم، پذیرش این مدعا منوط بر آن خواهد بود که علاوه بر تبیین بیولوژیکی و ژنتیکی همه‌ی حوزه‌های روانی و عصبی مرتبط با تکلم در انسان، بتوان به لحاظ زیست‌شناسی تکاملی اثبات کرد که تغییرات ژنوم نه تنها شرط لازم بلکه شرط کافی جهت تکامل تکلم در انسان بوده است، که با توجه به مطالعات رو به ازدیاد در این حوزه تا امروز، به نظر امری بسیار سخت و غیر قابل اثبات می‌نماید.

Fitch، یکی از متفکرین شناخته شده در عرصه‌ی زبان‌شناسی، به درستی بر این باور است که «تا به حال، گمانه‌زنی‌ها در مورد زمان، مکان، چگونگی و چرایی تکامل زبان بسیار بیشتر از تولید اطلاعات علمی ارزشمند بوده است» (۶). از این رو، ژنتیک زبان به جد می‌کوشد تا مسیری مشخص را برای تکامل و نوروفیزیولوژی زبان در ژنوم انسان بیابد و تبیینی سلسله‌وار از شبکه‌های ژنی که کمیت و کیفیت مجموعه‌ی رونوشت‌های سلول (Transcriptome) را در نواحی مختلف مرتبط با زبان در مغز کنترل می‌کنند، ارایه دهد و سرنخ‌هایی از مسیر تکاملی زبان را در پستانداران و نخستی‌های (Primates) پیش از انسان نشان دهد.

از این رو، به نظر می‌رسد گرایش به مطالعه‌ی زبان در سطح ژنتیکی، خود اتفاقی سراسر منبعث از تکامل فکری جامعه‌ی علمی امروزین دنیا است، که به خوبی می‌تواند از حجم این گمانه‌زنی‌ها که بعضی سست بنیاد و با شواهد تجربی و عقلی اندک هستند، به میزان زیادی بکاهد و به ظهور تئوری‌هایی دقیق‌تر و مستدل بیانجامد. به طور حتم، بهترین شیوه‌ی مستدل‌کردن و قابل پذیرش کردن یک پروفایل رفتاری و یا مکانیسم عصبی، مستند کردن آن به پروفایل ژنی و مجموعه‌ی رونوشت‌های مغزی است.

با این همه، اگر چه فهم علمی امروزین ما از سهم ژن‌ها در اکتساب این قابلیت انحصاری انسان بسیار اندک است و ما در امر ترسیم چهارچوبی معین از نقش ژن‌ها در تأسیس زبان در گام‌های نخست به سر می‌بریم، قدر مسلم این است که برپایی تکلم در انسان و به کارگیری صحیح آن، به وجود تمهیدات و عوامل ژنتیکی مخصوص به خود، حداقل به عنوان یک شرط لازم نیاز حیاتی دارد. بدین قرینه که امروزه در بسیاری از اختلالات زبانی، نقایص ژنتیکی مسلم و معنی‌داری کشف شده‌اند که بعضی تا حدود زیادی توجیه کننده‌ی پاتوژنز بیماری هستند. بی‌شک، این تحقیقات روزنه‌های امید نوینی را جهت تشخیص و درمان این اختلالات در پیش چشم ما خواهد گشود. با این حال، این مطالعات اهداف بنیادین‌تری را نیز دنبال می‌کنند که عبارت از گشودن راهی جهت فهم بهتر عملکردهای طبیعی و فیزیولوژیک زبان است. هدف از این مقاله، مروری بر تکامل زبان و ژنتیک اختلالات زبان و تکلم و ارایه‌ی پیشرفت‌های جدید در زمینه‌ی عملکرد و برهمکنش بسیاری از ژن‌های کلیدی در تکامل و رشد طبیعی مغز و ایجاد اختلالات زبان و تکلم می‌باشد. به طور قطعی، ارتقای درک مبانی تکاملی و ژنتیکی تکلم و پاتولوژی اختلالات زبان، به ارتقای کیفیت درمان این اختلالات نیز خواهد انجامید.

تعریف تکلم، زبان و اندام‌های گفتاری

تکلم شامل آواسازی، فرایندهای تنفسی و تولید صدا است. این علایم از طریق اندام‌های گفتاری در لب‌ها، زبان، نرم‌کام، سخت‌کام، دندان‌ها، حفره‌ی بینی، حلق، حنجره و تارهای صوتی ایجاد می‌شود. اما اصطلاح زبان به طور معمول به تمام اشکال و انواع ارتباطات انسانی اعم از نوشتن، گفتن، خواندن، به کارگیری دستور و قواعد زبان، تغییرات قیافه، اداها و در یک معنای ژرف‌تر به تفکر و تعقل نیز اطلاق می‌گردد. بنابراین تکلم بخشی از زبان است. اگر چه واژه‌ی «تکلم» اغلب به جنبه‌های حرکتی زبان اطلاق می‌گردد، با این حال در مقاله‌ی حاضر، واژه‌های زبان و تکلم به یک معنا به کار گرفته شده‌اند و کلیت دستگاه تکلم در انسان، منظور ما است.

فیزیولوژی زبان و تکلم

پردازش زبان که یکی از پیچیده‌ترین فرایندهای مغزی است، اغلب در نیمکره‌ی چپ (نیمکره‌ی غالب) مغز انجام می‌شود (۷) و چندین ناحیه در این نیمکره در شکل‌گیری زبان دخالت دارند (۹-۸). ناحیه‌ی اصلی درک زبان گفتاری و نوشتاری (Language comprehension) موسوم به ناحیه‌ی ورنیکه (Wernicke area) یا مرکز تکلم، ناحیه‌ی بزرگی در پشت قشر اولیه‌ی شنوایی در نیمکره‌ی چپ (در حدود ۹۷ درصد افراد) و مهم‌ترین منطقه در کل مغز از نظر اعمال عالی فکری است؛ چرا که به طور تقریبی تمام اعمال فکری، مبتنی بر کلام هستند. به همین دلیل، ورنیکه مرکز درک اطلاعات دریافت شده از مجاری بینایی و شنوایی و نیز شناسایی حروف الفبا و سپس تلفیق و معنی کردن آن‌ها و تعیین افکار و کلماتی که باید بیان شوند، نیز می‌باشد (۱۰). صدمه به ناحیه‌ی ورنیکه منجر به آفازی دریافتی (Receptive aphasia) یا آفازی ورنیکه (Wernicke aphasia) می‌گردد که در آن، شخص در فهم زبان نوشتاری و گفتاری دچار اختلال می‌گردد؛ اما تولید گفتار، فصیح باقی می‌ماند، هر چند بدون مفهوم است و به طور مشخص نتیجه‌ی یک تفکر منسجم نیست (۱۱). ناحیه‌ی متناظر ورنیکه در نیمکره‌ی راست در پردازش و شفاف‌سازی معانی فرعی لغات دو پهلو و مبهم نقش دارد (۱۲).

نئوکورتکس (Neocortex) که بخش بسیار وسیعی از قشر مغز (۹۰ درصد) انسان را شامل می‌شود، از یک پوشش شش لایه از ماده‌ی خاکستری مغز که در بر گیرنده‌ی اجسام سلولی نورون‌ها و فیبرهای بدون میلین می‌باشد، تشکیل یافته است. قشر مغز، مسؤول طیف وسیعی از عملکردهای عالی مغزی همچون حافظه، برنامه‌ریزی، حل مشکل، حواس پنج‌گانه، حرکت عضلات اختیاری و نیز زبان (در انسان) است. برخی نواحی نئوکورتکس وظایفی کلیدی در پردازش اطلاعات زبانی برعهده دارند.

نئوکورتکس به بیان حدود ۶۶ درصد از ژنوم انسان (بیش از ۱۱۴۰۷ ژن) برای عملکرد صحیح خود نیازمند است. اگر چه آنالیزهای درون نئوکورتکسی، تفاوت‌های اندکی را در کمیت و کیفیت ژن‌های بیان شونده نسبت به سایر نواحی مغزی نشان می‌دهند، اما جالب این که برخی ژن‌های دخیل در تکامل زبان همچون FOXP۲، ROBO۱ و CNTNAP۲ جزء ژن‌هایی هستند که به خصوص در اواخر دوره‌ی میانی جنینی به شکلی متمایز در نواحی نئورکوتکس بیان می‌شوند و تفاوت‌های کیفی در بیان

درون نئوکورتکسی آن‌ها، بسیار بیشتر از دیگر ژن‌های بیان شونده در نئوکورتکس است.

ناحیه‌ی مهم دیگر دخیل در فیزیولوژی زبان، ناحیه‌ی بروکا (Broca area) یا مرکز حرکتی تکلم (Motor center of speech) است (۷) و در موقعیتی نزدیک به ناحیه‌ی قشر حرکتی مربوط به صورت (Orofacial) قرار دارد و مدارهای عصبی جهت تولید کلمات را فراهم می‌کند (۱۳). بروکا اطلاعات دریافتی از ورنیکه را پردازش می‌کند و آن‌ها را به صورت یک الگوی دقیق و هماهنگ برای تولید و تلفظ اصوات در می‌آورد. سپس این الگو را از طریق ناحیه‌ی مربوط به گفتار و صحبت کردن در اینسولا (Insula) به قشر حرکتی می‌فرستد تا با تحریک همزمان عضلات تنفسی، حنجره و دهان و تولید صوت و ادای کلمات، موجب ظهور تکلم شود (۱۴). اگر چه در گذشته تصور می‌شد که دسته‌ی قوسی (Arcuate fasciculus) وظیفه‌ی اتصال ورنیکه و بروکا را بر عهده دارد، اما در سال‌های اخیر مشخص شده است که دسته‌ی قوسی از یک سر به نواحی دریافت کننده‌ی خلفی (ناحیه‌ی ورنیکه) و از سر دیگر به نواحی پیش‌حرکتی/حرکتی متصل می‌شود و نه به ناحیه بروکا (۱۵). در عوض، دسته‌ی قلاب‌دار (Uncinate fasciculus) وظیفه‌ی اتصال نواحی گیجگاهی قدامی (Anterior superior temporal) به ناحیه‌ی بروکا را بر عهده دارد (۱۶).

تخریب ناحیه‌ی بروکا سبب نوعی آفازی شدید به نام آفازی بروکا (Broca's aphasia) یا آفازی بیانی (Expressive aphasia) می‌گردد که در این نوع آفازی، افراد می‌فهمند چه می‌خواهند بگویند، اما در ادای کلامی آن مشکل دارند و اصواتی نامفهوم را تولید می‌کنند (۱۷). اگر چه برای سالیان متمادی، ناحیه‌ی بروکا را تنها در تولید کلام دخیل می‌دانستند، اما شواهد اخیر نشان می‌دهد که ناحیه‌ی بروکا نقشی کلیدی را در درک زبان نیز ایفا می‌کند (۲۰-۱۸).

تکامل زبان و نحوه‌ی عملکرد آن

علاوه بر انسان، حیوانات دیگری همچون پرندگان آوازخوان (Songbirds)، دلفین‌ها، وال‌ها، خفاش‌ها، فیل‌ها و میمون‌ها نیز قادر به تولید اصواتی مختلف و برقراری ارتباط با همنوعان خود بدین وسیله می‌باشند و در دهه‌های متمادی، رمزگشایی از این اصوات و ارتباطات در کانون توجه و تلاش دانشمندان بسیاری بوده است، اگر چه هیچ گاه این ارتباطات از آن قابلیت و کیفیت برخوردار نبوده‌اند که بتوان از لفظ «تکلم» برای توصیف آن‌ها استفاده کرد. نکته‌ی مهم در این جا این است که دستاوردها و کشفیات علمی اخیر، به طور روزافزون بر وجود ظرفیت‌های ژنتیکی و حتی عصبی و شناختی مشترکی در بین انسان و دیگر حیوانات واجد ارتباطات صوتی تأکید می‌ورزند (۲۱). بدین معنا که بسیاری از این شبکه‌های ژنی و مکانیسم‌های عصبی و شناختی/اجتماعی مرتبط با تکلم در انسان، همچون توانایی تقلید، ذهن‌خوانی، تئوری ذهن و غیره، همولوگ‌هایی در این نوع حیوانات نیز دارد. در واقع، جمع بین این دو واقعیت که از یک سو مطالعات بیولوژیکی در حوزه‌ی تکلم، هر روز دامنه‌ی اشتراکات ژنتیکی و عصبی مرتبط با تکلم را بین انسان و این دسته از حیوانات تعمیم و تعمیق می‌بخشند و از سوی دیگر، انحصار «تکلم و زبان» برای انسان غیر قابل تردید به نظر می‌رسد، بسیار سخت و دشوار است و مشخص نیست در

صورت انباشت بیشتر مطالعات تأییدی در این زمینه، تکلم در انسان حداقل به لحاظ نوروبیولوژیک بر چه پایه‌ای استوار خواهد بود. به همین دلیل، کلیدی‌ترین سؤال در حوزه‌ی بیولوژی تکاملی این است که «آیا انسان جهت برخورداری از زبان تنها به تغییر چیدمان و آرایش این شبکه‌های ژنی و مکانیسم‌های عصبی مشترک، آن گونه که برخی مطالعات بر آن تأکید ورزیده‌اند (۲۲) بسنده کرده است و یا وجه جدیدی نیز بر آن افزوده است؟».

با این همه، به نظر می‌رسد تفاوت‌هایی کلیدی بین این حیوانات و انسان از نظر قابلیت و کیفیت ایجاد ارتباطات صوتی وجود دارد، همچون گنجینه‌ی لغات، تکلم خلاقانه و دیگر موارد اختلاف که در مقالات دیگر نیز به آن‌ها اشاره رفته است. از آن جهت که وجود «مفاهیم ذهنی» و «اراده» در حیوانات به طور فزاینده‌ای مطرح و پذیرفته شده است (۲۵-۲۳)، بی‌شک یکی از ظریف‌ترین تفاوت‌های بین ارتباطات صوتی حیوانات و تکلم انسان را که کمتر به آن توجه شده است، می‌توان کیفیت نزول معانی و مفاهیم ذهنی دانست؛ به نحوی که فرایند نزول معنا از سطح مفاهیم ذهنی به الفاظ و عبارات کلامی در حیوانات به شکل «تجافی» صورت می‌گیرد، اما مفاهیم ذهنی در انسان، در کلام او «تجلی» می‌یابند و نه تجافی. در توضیح این مطلب باید گفت که تجافی شیوه‌ای از نزول و پایین آمدن است که شیء نازل شونده هر لحظه با خالی کردن جای خود در بالا، به پایین می‌آید، همچون نزول قطرات باران. اما در فرایند تجلی، شیء نازل شونده با پایین آمدن، در بالا نیز حضور دارد و تنها منزلت آن پایین می‌آید و نه منزل آن.

به بیان دیگر، مفاهیم ذهنی در انسان بر خلاف حیوانات با تکلم از ذهن او بیرون نمی‌ریزند، به شکلی که اثری از آن‌ها پس از تکلم در ذهن باقی نماند. این نزول تجلی‌گونه‌ی مفاهیم ذهنی، لازمه‌ی تفکر و تکلم منطقی پیوسته در انسان است. چیزی که هرگز در حیوانات دیده نمی‌شود. همچنین انسان‌ها بر خلاف حیوانات قادرند با مفاهیم ذهنی خود بازی کنند و یک مفهوم ذهنی را به اشکال بسیار متنوعی در ظرف کلام بریزند.

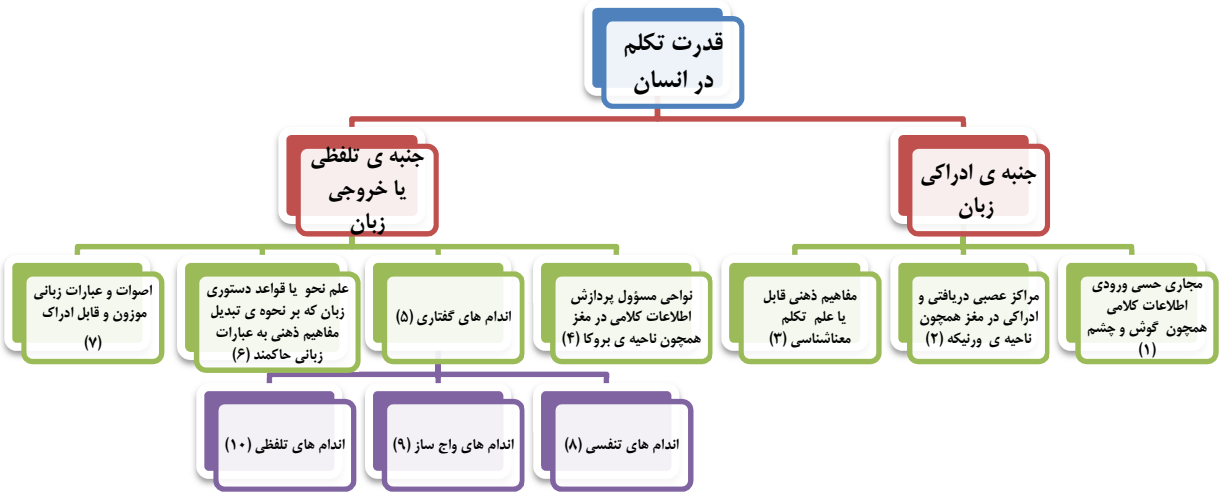
از سوی دیگر، حیوانات قادرند در زمینه‌های متنوعی همچون ایجاد جاذبه‌ی جفت‌گیری، تدافع اقلیمی، تجمع گروهی، یافتن علوفه و یا برهمکنش‌های والد- فرزندی با یکدیگر ارتباط صوتی برقرار کنند. با این حال، در یک نگاه دقیق، هیچ کدام از این نوع ارتباطات صوتی از یک قاعده‌ی کلیدی و جوهری مستثنی نیستند و آن این که به طور تقریبی، تمامی این ارتباطات، یا ۱۰۰ درصد تقلیدی و بدون توان به کارگیری آن در یک بستر ارتباطی اصیل (همچون تقلید صدا در قناری‌ها) است؛ یا این که این اصوات ارتباطی تولید شده توسط آن‌ها، فارغ از دیدگاه هستی‌شناختی و تنها به لحاظ روش‌شناختی، همچون صدای فروریختن یک دیوار مغروض به اغراضی درونی و یا مسبوق به مواجهه با محرکی مصنوعی و بیرونی و نه سابق و پیش از آن‌ها است. به بیان دیگر، نمی‌توان صدایی را که از فروریختن یک دیوار شنیده می‌شود، نوعی اظهار عجز و ناله‌ی دیوار تلقی کرد (!)؛ چرا که نوعی واکنش طبیعی به واقعه‌ای طبیعی یا مصنوعی به شمار می‌رود. به همین دلیل، بسیاری از اصوات تولید شده توسط حیوانات نیز نوعی واکنش طبیعی به فوران‌های غریزی جنسی

و یا جسمی (یافتن و شکار طعمه) می‌باشد و نه ظهور مفهومی خلاقانه، ابتدایی و شاعرانه. شاهد دیگر این معنا آن است که سخن گفتن با خود، به تأیید بسیاری از اندیشمندان حوزه‌ی زبان، یک ویژگی کلامی انحصاری انسان است (۲۶).

نتیجه این که، اگر چه نمی‌توان هر گونه توان ارتباط صوتی با همنوع را در حیوانات به طور مطلق نادیده گرفت، اما حداقل سطوح عالی این نوع ارتباط که «تکلم» نام دارد، به طور انحصاری متعلق به انسان است. با این حال، این احتمال نیز وجود دارد که تکلم انسانی نسخه‌ی تکامل یافته‌ی ارتباط صوتی در حیوانات و محصول فرایند تکامل باشد؛ چرا که دلیلی بر نفی آن اقامه نشده است.

قدرت تکلم در انسان را حداقل به ۲ بخش کلی می‌توان تقسیم کرد که به تفصیل در شکل ۱ آمده است.

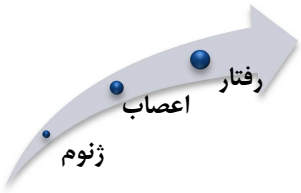
همه‌ی جنبه‌های تکلم به جز موارد ۶ و ۷ (شکل ۱) در بین همه‌ی مردم دنیا با زبان‌های مختلف، یکسان است. با این حال، نقش محوری ژنوم در ایجاد و صحت عملکرد موارد ۱، ۲، ۴، ۵، ۸، ۹ و ۱۰ غیر قابل انکار می‌نماید. حال سؤالات کلیدی که در این جا مطرح می‌شوند، عبارتند از: «آیا می‌توان نقشی برای ژنوم و یا مجموعه‌ی رونوشت‌های سلول در تولید اصوات و عبارات زبانی، مفاهیم ذهنی و یا قوانین دستوری حاکم بر تبدیل این مفاهیم به عبارات زبانی تصور کرد؟»، «به چه میزان تظاهرات رفتاری مختلف در حوزه‌ی تکلم و نیز تفاوت‌های بین فردی در توانایی به کارگیری زبان به تنوعات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی فرد قابل اتکا و انتساب است؟»، «چگونه مکانیسم‌های ژنتیکی و عصبی مشابه قادرند تنوعات چند هزاری زبان در دنیا را توجیه کنند؟»، به بیان دیگر، «تنوعات گسترده در زبان‌های زنده‌ی دنیا به لحاظ نوروبیولوژیکی بر چه چیز تکیه زده است؟»، از سوی دیگر، «از منظر مکتب داروینی آیا زبان در طی تکامل طبیعی انسان یک مزیت انتخابی به شمار می‌رفته است؟». پرداختن به این سؤالات و ده‌ها سؤال کلیدی دیگر در این زمینه، از دیدگاه ژنتیکی، به



شکل ۱. قدرت تکلم در انسان، جنبه‌های مختلف آن، مفاهیم و نواحی مسؤول صدور آن‌ها

پرورش نظریاتی عمیق‌تر خواهد انجامید و چشم ما را به حوزه‌هایی نوین از علم خواهد گشود. برای مثال این که «کیفیت ارتباط جنبه‌ی ادراکی و تلفظی به طور دقیق چگونه است؟» و این که «آیا همیشه تلفظ معلول ادراک است و یا این که می‌تواند بر ادراک نیز تأثیر بگذارد؟». اگر زبان یکی از اسرارآمیزترین پدیده‌های این جهان است، نباید انتظار داشت که کلام آخر قبل از طرح مسایل پرشمار دیگر ادا شود، چرا که بسیاری از محققین به درستی بر این باورند که تکلم جزیی از عالی‌ترین سطوح آگاهی به شمار می‌رود که تنها در انسان وجود دارد.

تکلم در انسان حداقل در سه سطح ژنتیک، سطح اعصاب و سطح رفتار قابل بررسی و تحلیل است (شکل ۲).



شکل ۲. سطوح تکلم در انسان شامل سه سطح ژنتیک، سطح اعصاب و سطح رفتار

با این همه، به عنوان یک قاعده‌ی کلی می‌توان این چنین تصور کرد که توانمندی‌های همگرا در یک سطح، می‌تواند از وجود مبانی و مکانیسم‌های مشابه و هومولوگ در سطحی دیگر حکایت کند (۱). در واقع، وجود رفتارهای همگرا و مشابه در گونه‌هایی از جانوران با ساختار و شبکه‌های عصبی واگرا و متفاوت، می‌تواند نتیجه‌ی وجود ژن‌های مشترک در دو گونه باشد که از آن به عنوان هومولوژی عمیق (Deep hemology) نیز تعبیر شده است (۲۷).

به بیان دیگر، احتمال می‌رود هر چه یک رفتار در دو گونه‌ی متفاوت به لحاظ ساختار سیستم عصبی، به هم شبیه‌تر باشد، سهم ژنتیک در تکامل آن رفتار چشمگیرتر است. معنای تلویحی این سخن آن است که احتمال می‌رود ژنوم هم با واسطه‌ی تغییر و تعدیل (Modification) اعصاب و هم به طور مستقیم قادر است در پروفایل رفتاری ارگانیسم تصرف کند. عکس این سخن نیز صادق است و آن این که وجود رفتارهای واگرا و غیر مشابه در گونه‌های مختلف جانوری، به احتمال قوی مبانی ژنتیکی همگرا و مشابهی نخواهد داشت. برای مثال، زمانی که از وظیفه‌ی ژن PAX۶ در ایجاد ساختار چشم در جانوران اولیه پرده برداشته شد، کمتر کسی فکر می‌کرد که با وجود تفاوت‌های چشمگیر در ساختار عصبی و فیزیکی چشم، همگی موجودات در درخت فیلوژنتیک و حتی ژنوم پیشرفته‌ی انسان نیز از همین عامل رونویسی و اهداف ژنی آن جهت ایجاد ساختار بینایی استفاده کنند (۲۸)؛ تا امروز که منطق غالب در بسیاری از حوزه‌های ژنتیک، همسانی مبانی ژنتیکی ساختارهای فیزیکی و بدنی مشابه در موجودات متفاوت به لحاظ عصبی و حتی رده‌ی تکاملی است.

در مورد زبان نیز حفاظت شدگی بسیار بالای FOXP۲، به عنوان شاخص‌ترین ژن مرتبط با دستگاه تکلم انسان و تولید و یادگیری‌های صوتی در حیوانات، عالی‌ترین نشان این امر به شمار می‌رود؛ به نحوی که FOXP۲ یکی از ۵ درصد ژن‌های بسیار حفاظت شده‌ی ژنوم انسان به لحاظ تکاملی می‌باشد. از این رو، امروزه راهکارهای مقایسه‌ای (Comparative genomics) با درصد موفقیت بسیار بالایی جهت مطالعه‌ی مکانیسم‌های مشترک در تکامل

رفتارهای اجتماعی در بی‌مهرگان (۲۹) و مهره‌داران (۳۰) به کار گرفته می‌شوند. برای مثال، با مقایسه‌ی ژن‌های هدف FOXP۲ در بین حیوانات واجد ارتباط صوتی، می‌توان اطلاعات ارزشمندی از نحوه‌ی تکامل زبان در انسان به دست آورد. بنابراین به نظر می‌رسد این امر، مهم‌ترین منطق توجیه کننده‌ی مطالعه‌ی مدل‌های حیوانی جهت تبیین مولکولی ویژگی‌هایی همچون زبان است که سطوح عالیه‌ی آن تنها در انسان وجود دارد.

اختلالات گفتاری (Speech disorders)

اختلالات گفتاری انواعی از اختلالات ارتباطی هستند که در آن‌ها مشکلاتی در تلفظ صحیح و منظم کلمات و ایجاد گفتار روان و قابل فهم وجود دارد؛ به طوری که نطق (سخنرانی) عادی در کودک مختل می‌گردد، مانند لکنت زبان، SSD (Speech sound disorder) یا مشکلاتی در تولید صداهای خاص. بنابراین گفتار غیر عادی یا ناهنجار، گفتاری غیر واضح و نامفهوم است که با بیان و گفتار عامه‌ی جامعه تفاوت فاحش دارد. این تفاوت، منجر به جلب توجه دیگران و ناراحتی و خستگی گوینده و شنونده می‌شود. بر طبق گزارش دبیر علمی دوازدهمین همایش گفتار درمانی ایران، اختلالات گفتاری در ایران ۶-۵ درصد جمعیت را شامل می‌شود که اختلال لکنت با ۱-۰/۷ درصد شیوع در جامعه، جزء اختلالات شایع است.

اختلالات زبانی (Language disorders)

اختلال زبانی عبارت از اختلال در فرایندهای یادگیری پایه‌ای است که در فهم یا استفاده از زبان گفتاری و نوشتاری دخالت دارند. اختلالات زبانی شامل اختلالاتی در پردازش اطلاعات زبانی می‌شوند که با مشکلاتی در گرامر یا آرایش صحیح کلمات (مورفولوژی) و جملات (نحو)، معانی یا دیگر جنبه‌های زبان همراهند و ممکن است زبان بیانی (تولید زبان)، شنوایی (اختلال در فهم زبان) و اشاره‌ای را تحت تأثیر قرار دهند، مانند آفازی و SLI (Specific language impairment).

اختلالات گفتار، زبان و خواندن از جمله شایع‌ترین اختلالات تکاملی در اوایل کودکی هستند که ۱۰-۴ درصد کودکان را متأثر می‌کند (۳۲-۳۱). این اختلالات در کودکان ممکن است تأثیرات کوتاه یا بلند مدتی بر سلامتی داشته باشد و آن‌ها را با مشکلات تحصیلی مواجه کند. اگر چه اختلالات ارتباطی ممکن است با اختلالات یا سندرم‌های دیگری همراه باشد؛ اما در اغلب موارد، علت آن‌ها ناشناخته است (۳۴-۳۳).

مهم‌ترین اختلالات زبانی و گفتاری

✓ **آفازی (Aphasia)**: یک نقص ارتباطی و نشانه‌ای از آسیب مغزی در نیمکره‌ی چپ مغز است که می‌تواند ناشی از سکته، ضربه، تومور مغزی، عفونت یا جراحت باشد و با مشکلاتی در به خاطر سپردن کلمات و نقص در صحبت کردن، شنیدن، خواندن و نوشتن همراه است و انواع مختلفی دارد (۳۵). حدود یک میلیون نفر در ایالات متحده‌ی امریکا به آفازی مبتلا هستند (۳۶) و شمار مبتلایان در هر سال، حدود ۸۰۰۰۰ نفر است (۳۷).

✓ **اختلال یادگیری (Learning disability)**: طیفی از اختلالات در فرایندهای روان‌شناختی پایه است که در فهم یا کاربرد زبان گفتاری یا نوشتاری دخیل هستند و ممکن است خود را به صورت

ناتوانی در مهارت‌های شنیدن، فکر کردن، حرف زدن، خواندن، نوشتن و یا انجام محاسبات ریاضی نشان دهد. اختلالات یادگیری از شایع‌ترین اختلالات دوران کودکی هستند و شایع‌ترین اختلال یادگیری، اختلال خواندن است (۳۹-۳۸). حدود ۵ درصد از جمعیت کلی کودکان مدرسه‌ای به این اختلال مبتلا هستند و میزان شیوع آن در حال افزایش است (۴۰). طبق آمار جهانی ۳۰-۳ درصد جمعیت طبیعی هر کشور، دچار اختلال یادگیری هستند که این آمار در کشور ما حدود ۱۲ درصد است.

✓ **اختلال خواندن (Reading disability) یا دیسلکسی (Dyslexia)**: در آمریکا، حدود ۱۵-۷ درصد از کودکان در سنین مدرسه دچار انواع مختلفی از اختلالات خواندن هستند. با توجه به عدم انجام بررسی در ایران، اطلاعات دقیقی در این زمینه وجود ندارد؛ اما بر اساس شواهد موجود، احتمال می‌رود آمار کودکان مبتلا به اختلال خواندن در ایران کمتر از آمار پیش‌گفته نباشد (۴۲-۴۱). شکل رایجی از اختلالات یادگیری است که در آن، با وجود برخورداری از سلامت بینایی، شنوایی و هوشی، توانایی فرد در یادگیری خواندن و نوشتن کلمات تحت تأثیر قرار می‌گیرد و با ناتوانایی در شناخت واژه‌ها، بخش کردن کلمه، خواندن کند و نادرست و درک ضعیف مطالب خوانده شده مشخص می‌شود. در این بیماری، مغز نمی‌تواند به درستی تصاویر معینی مانند اعداد و حروف را پردازش کند. دیسلکسی اغلب ناشی از اختلال در ناحیه‌ای قشری به نام Perisylvian است. این ناحیه وظیفه‌ی پردازش زبان را به عهده دارد و بروز اختلال در آن، توانایی کودک برای خواندن صحیح را مختل می‌کند (۴۳).

ناحیه‌ی قشری (Perisylvian) در بر گیرنده‌ی بسیاری از نواحی قشری مرتبط با تکلم از جمله VLPFC (ventrolateral prefrontal cortex)، MS، PAS، TAS و TAU می‌باشد. جالب این که مجموعه‌ی رونوشت‌های ناحیه‌ی Perisylvian در مقایسه با دیگر نواحی نئوکورتکس تفاوت اندک اما معنی داری را نشان می‌دهد. برای مثال، کمیت FOXP۲ یکی از این تفاوت ها است؛ به نحوی که مقدار بیان این پروتئین در نواحی Perisylvian یک افزایش حد میانه (۱/۱ برابری) را نسبت به دیگر نواحی نئوکورتکس نشان می‌دهد (۴۴).

دیسلکسی (RD یا Reading disorder) پسران را ۳-۲ برابر بیشتر از دختران مبتلا می‌سازد (۴۵) و عمده‌ی محققان به اشتباه نتایج مطالعات پسران را به دختران نیز تعمیم می‌دهند؛ چرا که امروزه می‌دانیم فرایندهای مولکولی مرتبط با تکلم در مغز پسران و دختران به طور یکسان نیست و تفاوت‌هایی مختص جنس حتی در آناتومی مغز کودکان وجود دارد. دختران دیسلکسیک نسبت به پسران حجم ماده‌ی خاکستری کمتری در نواحی حسی و حرکتی مغز خود دارند (۴۶). با این حال، جالب این که دختران تمایل دارند تا از هر دو نیمکره‌ی مغزی در ارتباطات کلامی خود بهره گیرند، در حالی که پسران تنها از نیمکره‌ی سمت چپ استفاده می‌کنند. همچنین هورمون‌های جنسی نیز با آناتومی مغزی در ارتباطند (۴۶).

این امر، به شکل فزاینده‌ای پذیرفته شده است که دیسلکسی یک ماهیت واحد در همه‌ی مبتلایان به آن ندارد و می‌توان آن را بر اساس فنوتیپ به زیر گروه‌هایی تقسیم کرد. برای مثال، دیسلکسی دارای ۳ زیر گروه شناختی (Cognitive subtypes) دارد که

عبارت از شنیداری (Auditory) -شایع‌ترین نوع دیسلکسی-، دیداری (Visual) و توجهی یا تمرکزی (Attentional) است (۴۸-۴۷).

دیسلکسی به معنای کم هوشی نیست و آن گونه که مطالعات دوقلویی و خانوادگی اثبات کرده‌اند، مبنای ژنتیکی قوی دارد (با نفوذ ژنتیکی (Penetrance) ۷۰-۵۰ درصد). اگر چه عوامل محیطی نیز سهم قابل ملاحظه‌ای در کمیت و کیفیت بروز آن دارند (۵۰-۴۸).

به دلیل نقش عمده‌ی عوامل محیطی در فرایند یادگیری و حافظه، این احتمال به طور قوی وجود دارد که اصلاحات (Modifications) اپی‌ژنتیکی نیز نقش تعیین کننده‌ای را در RD ایفا کنند، اگر چه این حوزه نیازمند تحقیقات وسیع‌تر است (۵۱). حداقل ۹ لوکوس ژنومی (DYX۱-۹) (Dyslexia-susceptibility۱-۹) به وسیله‌ی مطالعات پیوستگی سراسر ژنومی (genome wide linkage studies) و بیش از ۱۴ ژن کاندید برای دیسلکسی شناسایی شده است (۵۲).

مهم‌ترین این ژن‌ها عبارت از DYX۱C۱ (در DYX۱)، DCDC۲ و KIAA۰۳۱۹ (در DYX۲)، MRPL۱۹/C۲ORF۳ (در DYX۳)، ROBO۱ (در DYX۵)، DOCK۴، GTF۲I، FMR۱، DIP۲A، S۱۰۰B و KIAA۰۳۱۹L هستند. جالب این که مشخص شده است که حداقل به لحاظ تئوریک، بسیاری از این ژن‌ها می‌توانند در قالب یک شبکه‌ی مولکولی در مهاجرت نورونی (Neuronal migration) و رشد آکسونی (Neurite overgrowth) ایفای نقش کنند و به طور طبیعی، اختلال در عملکرد هر یک از آن‌ها، شبکه‌ی ژنی منسوب به آن‌ها و در نهایت، فرایند مهاجرت نورونی را متأثر خواهد ساخت که به شکل فنوتیپ دیسلکسی بروز خواهد یافت (۵۳).

✓ **آسیب زبانی ویژه (SLI یا Specific language impairment)**: عبارت از تأخیر در اکتساب مهارت‌های زبانی با وجود قابلیت‌های حسی، شناختی، عصبی و هوشی طبیعی است. SLI بعد از ۴ سالگی تشخیص داده می‌شود، زمانی که کودک علایمی از کندی یادگیری زبان در سال‌های اولیه را نشان می‌دهد (۵۵-۵۴). در مقام تعریف، SLI اختلالی بسیار هتروژن است که علت حرکتی مشخصی ندارد و با نقایصی در دیگر حوزه‌های زبان همچون گرامر و معناشناسی و نیز قابلیت‌های شنوایی زبان همراه است. گفته‌های این افراد با سن و هوش آن‌ها تناسبی ندارد. کودکان SLI مهارت‌های زبانی را با سرعت کمتری یاد می‌گیرند، در فهم معنای واژگان مشکل دارند و خزانه‌ی لغات آن‌ها کمتر از حد متوسط است (۵۶).

دو آنالیز پیوستگی سراسر ژنومی، تنها سه لوکوس را برای SLI یافته‌اند: ۱۶q۲۴ (SLI۱)، ۱۹q۱۳ (SLI۲) و ۱۳ (SLI۳) (۵۷). علاوه بر این، سه ژن کاندید اصلی که همراهی معنی‌داری را با SLI نشان می‌دهند، عبارت از ATP۲C۲ و CMIP (در لوکوس SLI۱) و CNTNAP۲ هستند. SLI در حدود ۷-۵ درصد از جمعیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵۸) و بررسی‌های اپیدمیولوژیکی در ایالات متحده‌ی امریکا (۳۲) و کانادا (۵۹) نشان داده است که شیوع این اختلال در کودکان ۵ ساله حدود ۷ درصد است.

✓ **کنش پریشی رشدی کلامی (DVD یا Developmental verbal dyspraxia)**: اختلال در

هماهنگی و کنترل حرکتی انـدام‌هـای گفتـاری را کـه منجـر بـه اخـتلال در ایجـاد گفتـارِ روان مـی‌گـردد، کنش‌پریشی رشدی کلامی (DVD) یا آپراکسی گفتـار دوران کـودکی (Childhood apraxia of speech) گویند. این حالت، زمانی اتفاق می‌افتد که در پیام‌دهی مغز به عضلات گفتاری (زبان، لب و حنجره) اختلال ایجاد شود و فرد، قادر به سازمان‌دهـی ایـن عضـلات در جهت ایجاد صداهای منظم نباشد (۶۰). آپراکسـی، یک اختلال حرکتی و ناتوانی در انجام فعالیـت ارادی و هدفدار، با وجود داشتن هماهنگی و توان عضـلانی طبیعی است که با فلج یا سایر آسیب‌هـای حسـی یـا حرکتـی قابـل توضـیح نباشـد و در نتیجـه‌ی آسـیب عصبی ایجاد می‌شود. به عبارت دیگر، ماهیچه‌ها قـادر به عملکرد طبیعی هستند، اما برنامـه‌ریـزی معیـوب از سوی مغـز مـانع از انجـام دقیـق حرکـات صـحیح و هدفمند می‌شود (۶۱). بر طبـق گـزارش Shriberg و همکـــــاران، DVD، ۲-۱ کـــــودک از ۱۰۰۰ (۰/۲-۰/۱ درصـد) کـودک را درگیـر مـی‌کنـد (۶۲). جهش در ژن معروف FOXP۲ نیز می‌تواند بـه DVD منجـر گـردد، اگـر چـه تنهـا درصـد کـوچکی از مـــوارد DVD نتیجـــه‌ی جهـــش در ایـــن ژن می‌باشد.

✓ **اخـــتلال صـــدای گفتـــار (SSD یـــا Speech sound disorder)**: اختلال صدای گفتار یـا اختلال واجی (Phonological disorder) کـه شـیوع آن در کودکان سه ساله حـدود ۱۶ درصـد (۶۳) و در کودکـان شـش سـاله حـدود ۴ درصـد (۳۱) اسـت، گروهی از اختلالات گفتاری اسـت کـه بـا مشـکلات تلفظـی و نقایصـی در تولیـد و اسـتفاده‌ی مناسـب از آواهای گفتاری همراه اسـت و تلفـظ برخـی آواهـای گفتاری (واج) در زبان مادری کودک یـا گـاهی افـراد بالغ به لحاظ کمی یـا کیفـی بـه شـدت دچـار نقـص می‌گردد (۶۴). SSD ممکن است اثرات بلند مـدتی را بر زندگی کودک اعمال کند. برای مثـال، بـالغینی کـه تاریخچه‌ای از SSD را در ایام کودکی خـود گـزارش می‌کنند، نقایص بیشـتری را در اجـرای مهـارت‌هـای ارتباطی و کلامی خود نسـبت بـه دیگـر افـراد نشـان می‌دهند و اغلب مایلند شغل‌هایی را انتخاب کنند کـه بیشتر در انزوا باشـد و نیـاز کمتـری بـه اعمـال ایـن مهارت‌ها داشته باشد (۶۵). بـه دلیـل تشـابهات قابـل توجهی که بین فنوتیـپ دیسلکسـیک و SSD وجـود دارد، احتمـال مـی‌رود همپوشـانی سـبب‌شناسـی (Etiologic) بالایی بین این دو اختلال وجـود داشـته باشد (۶۶-۶۴). بر همین اساس، محققـان بـا بررسـی لوکوس‌های ژنی کاندیـد دیسلکسـی در مبتلایـان بـه SSD، بیشترین میزان پیوسـتگی را بـین کرومـوزوم ۳ (DYX۵) و ویژگـــی‌هـــای رمزگشـــایی آوایـــی (Speech-sound coding) و حافظـــه‌ی آوایـــی (Phonological memory) در کودکان SLI مشخص کرده‌اند (۶۷).

✓ **لکنت زبان (Stuttering)**: لکنـت زبـان از مهم‌ترین و متداول‌ترین اخـتلالات تکلمـی در انسـان اسـت کـه سـلیس و روان بـودن تکلـم دچـار نقـص می‌گردد (۶۸). لکنت زبان نوعی نقص در گفتار است که جریان گفتار توسـط تکرارهـا یـا امتـدادهای غیـر ارادی آواها، هجاها، لغات یا انسـدادها و مکـث‌هـای غیر ارادی مختل می‌شود و گوینده گمان می‌کند که بر روی گفتار خود تسلط لازم را نـدارد و مـی‌توانـد بـه واکنش‌هایی رفتاری و عاطفی ختم گردد (۶۹). شـیوع این اختلال در طول زنـدگی، یـا نسـبت افـرادی کـه

انتظار می‌رود یک بار در زندگی خود به این اختلال مبتلا شوند، حدود ۵ درصد است (۷۰) و به طور کلی، مردها ۵-۲ برابر بیشتر از زن‌ها به لکنت زبان دچار می‌شوند (۷۱). لکنت زبان اغلب در اوایل کودکی آغاز می‌گردد و مطالعات نشان داده‌اند که ۲/۵ درصد از کودکان زیر ۵ سال دچار لکنت زبان هستند (۷۳-۷۲) و حدود ۲۰ درصد از این افراد (اغلب مردها) این اختلال را تا آخر عمر با خود به همراه دارند (۷۴).

چندین مطالعه پیوستگی و همراهی سراسر ژنومی، بیشترین میزان پیوستگی را در کروموزوم‌های ۲، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ یافتند و مشخص کردند که یک اثر جنسیتی قوی اما پیچیده در بین واریانت‌های خطر وجود دارد، اگر چه هم‌پوشانی بین نتایج این مطالعات بسیار اندک بوده است و اغلب شواهدی متوسط از وجود چنین پیوستگی را گزارش کردند (۷۸-۷۵). قوی‌ترین پیوستگی بین کروموزوم ۱۲q (STUT۲) و لکنت زبان مشاهده شده است (۷۹). چهار موتاسیونی که در نواحی کد کننده‌ی ژن GNPTAB (واقع شده در ناحیه‌ی STUT۲) شناسایی شده است، مسؤولیت بیشترین تفاوت بین افراد مبتلا و سالم را بر عهده گرفت (۸۰). جالب این که ژن GNPTAB زیر واحدی از یک آنزیم را کد می‌کند که در هدف‌گیری لیزوزومی پروتئین‌ها نقش دارد و می‌تواند موارد نادری از موکولیپیدوزها را نیز ایجاد کند (۸۱). این مطالعات، از نقش فرایندهای بیولوژیکی لیزوزومی در اختلالات زبانی پرده برداشت و بر لزوم بازنگری و دقت همه جانبه در تشریح ژنتیکی اختلالات زبانی تأکید کرد.

ترجیح دستی (Handedness) و اختلالات زبانی

مدت‌ها است که می‌دانیم سمت چپ مغز کنترل سمت راست بدن را بر عهده دارد و بالعکس، نیمکره‌ی راست کنترل نواحی سمت چپ را عهده‌دار است (۸۲). در حدود ۹۰ درصد از افراد در همه‌ی جوامع راست دست‌اند (۸۳) که به آن ترجیح دست راست بر چپ اطلاق می‌گردد. همچنین در بیش از ۹۹ درصد از افراد در دنیا، نواحی شناخته شده‌ی مغزی مرتبط با ادراک و تولید کلام همچون نواحی ورنیکه و بروکا نیز در نیمکره‌ی چپ قرار دارند. به این دلیل، در اغلب افراد نیمکره‌ی چپ مغز را نیمکره‌ی غالب می‌دانند (۸۲). علاوه بر این، حدود ۹۵ درصد از راست دستان و ۸۱/۲ درصد از چپ دستان جهت پردازش اطلاعات زبان به ناحیه‌ی قشری (Perisylvian) نیمکره‌ی چپ وابسته‌اند و حدود ۱۸/۸ درصد از چپ دستان از نیمکره‌ی راست و ۲۵ درصد از آن‌ها از هر دو نیمکره‌ی مغزی خود به طور مساوی استفاده می‌کنند (۸۴). این عدم تقارن نواحی کنترلی زبان در نیمکره‌های مغزی و نیز ارتباط آن با ترجیح دستی (استفاده از یک دست در اغلب مهارت‌های ظریف و دقیق همچون نوشتن) بسیار جالب توجه است. با این وجود، اگر چه بر اساس مطالعات گذشته (۸۵) الگوی راست دستی در فرهنگ‌های نخستین انسانی شیوع کمتری داشته است، اما تحقیقات اخیر آشکار کرده‌اند که غالبیت ۹۰ درصدی راست دستی در اجتماعات انسانی بیش از ۵۰۰ هزار سال پیش به این سو در بین اجداد نئاندرتال‌ها (Neanderthals) نیز برقرار بوده است (۸۷-۸۶). این یافته با توجه به شباهت بسیار بالای FOXP۲ انسان‌های کنونی با نئاندرتال‌ها، می‌تواند

سرنخ‌های مهمی در فهم تکامل زبان و ظرفیت تکلم در انسان‌های نخستین به شمار آید؛ به دلیل این که کنترل حرکتی زبان و راست دستی بر عهده‌ی نیمکره چپ مغز است. با این همه، اگر چه تا امروز شاهدی قوی بر تکلم انسان‌های نخستین در دست نیست، اما شواهد موجود به سمت تأیید وجود ظرفیت تکلم در آن‌ها در حال انباشته شدن است. در این واقعیت نیز نمی‌توان تردید کرد که هر چه فرایند تکامل به سمت انسان‌های مدرن کنونی به پیش آمده است، ظرفیت‌های ژنتیکی و نورولوژیک تکلم، تعمق و پیچیدگی بیشتر یافته است و احتمال می‌رود تکلم پیچیده‌تری را به انسان بخشیده است. جالب این که در بین شامپانزه‌های امروزی نیز همین الگوی شیوع بالای راست دستی حاکم است (۸۸).

بسیاری از جانوران ترجیح مشخصی را در استفاده از یک دست/چنگال/سم بر دیگری نشان می‌دهند. همچنین برخی گونه‌ها اثرات جنسی مشخصی را در ترجیح دستی بروز می‌دهند که به طور کلی در بین پستانداران کیسه‌دار این گرایش به شکل مردان راست دست و زنان چپ‌دست و بالعکس در بین پستانداران غیر کیسه‌دار به شکل مردان چپ دست و زنان راست دست بروز یافته است (۸۹).

چپ دستی که در همه‌ی گروه‌های فرهنگی و اجتماعی یافت می‌شود، به نظر می‌رسد در مراحل اولیه‌ی تکامل انسان بروز کرده و نقشی کلیدی را در رشد عملکردهای شناختی عالی در انسان ایفا کرده است. تکلم انسان را، برای مثال می‌توان به عنوان یک پیش رشد یک طرفه‌ی کنترل مغزی جهت برقراری ارتباط به واسطه‌ی تلفظ لغات تلقی کرد. به طور حتم، این امر تنها پس از ترجیح دستی به خوبی تأسیس شده است، زمانی که فعالیت‌های بسیار ظریف حرکتی دست انسان توانست رشد یابد (۹۰).

از مطالعات مختلف ژنتیکی و خانوادگی این امر به خوبی روشن شده است که ژنتیک به شدت بر ترجیح دستی اثرگذار است. برای مثال، بر خلاف تصور عموم که اعمال مهارت با هر دو دست را نوعی مزیت تلقی می‌کنند، در سال‌های اخیر مشخص شده است که این طیف از کودکان به احتمال بیشتری نسبت به راست یا چپ دستان به مشکلات ذهنی، زبانی، تحصیلی و نیز ADHD (Attention deficit hyperactivity disorder) دچار می‌شوند (۹۱). این مطالعه و مطالعات مشابه بر این امر تأکید می‌ورزند که عدم تقارن نیمکره‌های مغزی و الگوی راست دستی به دنبال آن در جمعیت انسانی، در تکامل مغز انسان و اکتساب بسیاری از قابلیت‌های ویژه توسط آن همچون توانایی تکلم و ادراک، نقشی حیاتی بر عهده دارد.

اگر چه تا امروز در گشودن کامل پیچیدگی‌های این عدم تقارن سخت درمانده‌ایم، با این حال مشهورترین تئوری در این زمینه، علت این امر را تقسیم کار بین نیمکره‌های مغزی جهت کاهش انرژی مصرفی و افزایش کارایی و تخصص‌گرایی نیمکره‌های مغزی می‌داند (۹۲) و معتقد است به دلیل این که کنترل حرکتی تکلم و فعالیت‌های دستی نیازمند مهارت‌های حرکتی ظریفی است، اگر کنترل این هر دو بر عهده‌ی یک نیمکره‌ی مغز باشد، کارایی این امور ارتقا می‌یابد و نیمکره‌ی دیگر (سمت راست) این فرصت را می‌یابد تا در امور و وظایف دیگر متخصص شود (۹۳). با این حال، به این تئوری ایراداتی نیز وارد است و قادر به پاسخگویی همه‌ی

سؤالات در این زمینه نیست.

آن چه در این جا برای ما اهمیت دارد، این است که فرایندهای مولکولی و ژنتیکی برقرار کننده و کنترل کننده‌ی این عدم تقارن، اغلب در افراد مبتلا به دیسلکسی، SLI، اوتیسم و اسکیزوفرنی، که در همگی آن‌ها نوعی اختلال تکلم دیده می‌شود، دچار آشفتگی و اختلال می‌گردد. اغلب بیماران اسکیزوفرنی از الگوی غیر دست راست (چپ دستی یا ابهام دستی) پیروی می‌کنند (۹۴). با این حال، در برخی مطالعات نیز رابطه‌ی ترجیح دستی مخلوط (Mixed handedness) با افزایش احتمال ابتلا به اسکیزوفرنی در آن جمعیت تحت مطالعه به اثبات نرسیده است (۹۵). از این رو، محققان در مطالعات خود در پی کشف ژن‌هایی هستند که مسؤول استقرار این عدم تقارن در بین نیمکره‌های مغزی، همچون ژن‌های مرتبط با ترجیح دستی می‌باشند.

حال یک سؤال کلیدی مطرح می‌شود: «به خصوص به لحاظ زیست‌شناختی تکاملی، آیا پذیرش این دو مسؤولیت توسط نیمکره‌ی چپ به صورت مستقل از هم صورت گرفته است و یا پذیرش یکی از آن‌ها، پذیرفتن دیگری را ایجاب کرده است و آیا بین پذیرش این دو، رابطه‌ای قطعی لازم است؟». این سؤال از آن جا اهمیت دو چندان می‌یابد که می‌دانیم برخی از پستانداران نزدیک به انسان همچون میمون‌ها، الگوی مشخص و ثابتی از ترجیح دستی را نشان نمی‌دهند (۹۶). به همین دلیل، پرداختن به این سؤال و فهم دقیق مبانی ژنتیکی ترجیح دستی و ارتباط آن با تکلم، می‌تواند دیدگاه‌های نوینی را در چگونگی تحقق تکامل انسان نیز ایجاد کند. اگر چه در نگاه اول می‌توان چنین استنباط کرد که این گرایش جمعیتی به سمت راست دستی، نوعی پیامد تکامل زبان است، اما این که بسیاری از نواحی اختصاصی مغزی کنترل کننده‌ی زبان در نیمکره‌ی چپ ساکنند و این نیمکره، مسؤول کنترل سمت راست بدن است، نمی‌تواند لزوم راست دست بودن غالب افراد انسانی را توجیه کند؛ مگر این که شواهد ژنتیکی ارتباط راست دستی انسان‌ها با قدرت تکلم را توجیه و اثبات کند. در صورتی که این الگوی ترجیح دستی در گونه‌ی انسانی حاکم نمی‌شد، تکامل انسان با کیفیت کنونی، در عمل امکان پذیر نبود. به همین دلیل، محققان بر این اعتقادند که بر اساس شواهد ممکن است رابطه‌ای بین ترجیح دستی و اختلالات اثرگذار بر تکامل زبان همچون اوتیسم، RD، DVD، SLI و غیره وجود داشته باشد. از این رو، امروزه چندین شاهد ژنتیکی مؤید این ارتباط در دست است که پذیرش هر دو فعالیت حرکتی زبان و راست دستی را توسط نیمکره‌ی چپ توجیه می‌کند.

پس از این که در مطالعات پیشین پیشنهاد شد که از یک سو افراد مبتلا به دیسلکسی به احتمال زیاد بیشتر چپ دست هستند (۹۷)، و از سوی دیگر، عدم تقارن مغزی در افراد چپ دست به میزان بسیار بیشتری در مقایسه با راست دستان کاهش می‌یابد و نوعی تقارن بین نیمکره‌ها حاکم می‌گردد (۹۸). اگر چه Francks و همکاران نتوانستند این ارتباط را در مطالعه‌ی خود تأیید کنند، اما ناحیه‌ای را بر روی کروموزوم ۲ یافتند که به نظر می‌رسد با چپ دستی در ارتباط باشد (۹۹). ارتباط این ناحیه با چپ دستی در بررسی‌های بعدی که بر روی DNA برادرهای سالم چپ دست صورت گرفت نیز به تأیید رسید (۱۰۰) و شاهدی را مبنی بر حضور ژن یا ژن‌هایی در

این ناحیه که بتواند بر ترجیح دستی اثر بگذارند، فراهم کرد. جالب این که درگیری این ناحیه در برادر و خواهرهای (Siblings) اسکیزوفرن که از اختلالات زبانی رنج می‌برند نیز بر اهمیت موضوع افزود (۹۹).

در راستای یافتن ژن و یا ژن‌هایی در قلب این ناحیه، محققان به همراهی معنی‌دار یک هاپلوتیپ در بالادست ژن LRRTM۱ با یک معیار کمی از ترجیح دستی در گروهی از برادر و خواهرهای دیسلکسیک پی بردند (۱۰۱). LRRTM۱ اولین ژن شناسایی شده‌ای بود که احتمال چپ دست شدن را به شدت افزایش می‌داد. ژن LRRTM۱ عضوی از خانواده‌ی پروتئین‌های عبور کننده از غشای غنی از تکرارهای لوسین یا LRR (Leucin-Rich-Repeat) است که در شکل‌گیری ساختارهای پایه‌ی مغزی (Forebrain) و نیز کیفیت اتصالات نورونی نقش دارد (۱۰۲). از این رو، این امکان وجود دارد که این ژن بتواند استقرار عدم تقارن نیمکره‌های مغزی را در اوایل دوران جنینی نیز مخدوش سازد. علاوه بر این، مطالعات دیگر نشان داد که داشتن یک فرم خاص از این ژن، حداقل به میزان اندکی خطر اسکیزوفرنی را افزایش می‌دهد (۱۰۳، ۱۰۱).

جالب این که این فرم از LRRTM۱ به دلیل ایمپرینت شدن به واسطه‌ی ابزارهای اپی‌ژنتیکی در ژنوم مادری، تنها زمانی که از ژنوم پدری به ارث می‌رسد، می‌تواند این اثرات خود را اعمال کند (۱۰۱). به احتمال قوی، کاهش سطوح LRRTM۱ می‌تواند از طریق کاهش عدم تقارن مغزی، معیارهای رشدی را به سمت چپ دستی و اسکیزوفرنی و نیز به طور بالقوه به سمت طیفی از اختلالات زبان و تکلم سوق دهد. جالب این که نه LRRTM۱، بلکه SNP (Single nucleotide polymorphisms)های دو ژن دیگر از اعضای خانواده‌ی پروتئینی LRR یعنی LRRN۱ (۷q) و LRRTM۲ (۱۰q)، به شکل معنی‌داری با بیماری اوتیسم در جمعیت حرکت می‌کنند و به عنوان یک عامل خطر برای اختلالات طیف اوتیسم (ASD یا autism spectrum disorders) مطرح می‌باشند (۱۰۴).

علاوه بر این، در سال‌های اخیر محققان دانشگاه آکسفورد واریانتی ژنتیکی را شناسایی کرده‌اند که تعیین می‌کند آیا یک شخص مبتلا به دیسلکسی، مهارت بیشتری را در به کارگیری دست چپ دارد یا دست راست؟ در این مطالعه، با اسکن ژنومی ۱۹۲ کودک RD، ارتباطی قوی بین یک واریانت ژن PCSK۶ و مهارت نسبی دستی در این کودکان مشاهده شد (۱۰۵). در حالی که اغلب افراد راست دست هستند، آن‌هایی که این واریانت مشخص از ژن PCSK۶ را حمل می‌کنند، به طور میانگین مهارت بیشتری را با دست راست خود در مقایسه با دست چپ نسبت به افرادی که حامل این واریانت نیستند، اعمال می‌کنند (۱۰۵). جالب این که محصول ژن PCSK۶ با پروتئین دیگری به نام NODAL، که نقش آن در برپایی عدم تقارن چپ دستی در اوایل رشد جنینی مسلم شده است، برهمکنش می‌دهد (۱۰۶). واریانت‌های ژنتیکی PCSK۶ ممکن است بر الگوبندی چپ- راست اولیه‌ی جنین اثر بگذارد که این امر نیز به نوبه‌ی خود استقرار عدم تقارن نیمکره‌های مغزی و به دنبال آن، ترجیح دستی را متأثر می‌سازد. این واقعیت که این ارتباط در افراد دیسلکسی آشکار شده است، بر ارتباط ترجیح دستی با اختلالات مرتبط با زبان که شواهد بسیاری از آن

حکایت می‌کرد، تأکید ورزید (۱۰۵).

با این همه، بسیار بعید به نظر می‌رسد که جهش در ژن‌های منفردی همچون PCSK۶ و یا LRRTM۱، به تنهایی بتوانند بر هم خوردن استقرار این عدم تقارن و ایجاد آشفتگی‌های کلامی و ترجیح دستی ناشی از آن را بر عهده گیرد، بلکه می‌بایست شبکه‌های بسیار گسترده‌تری از ژن‌ها را در این امر دخیل دانست. اگر چه اطلاعات امروزین ما راجع به این ارتباط ناچیز است، با این حال به نظر می‌رسد مرور ارتباطات بین ژنی و اختلالات تکلم و افزایش نظریه پردازی و طراحی مطالعات تأیید کننده در این زمینه، در نهایت ما را به فهم چرخه‌هایی عصبی که تنها یک انسان و نه یک شامپانزه را قادر به ادراک حقیقی خود و عالم پیرامون خود و پرسش از خویشتن خویش می‌سازد، رهنمون خواهد شد.

References

1. Fitch WT, Huber L, Bugnyar T. Social cognition and the evolution of language: constructing cognitive phylogenies. Neuron 2010; 65(6): 795-814.
2. Luna D, Ringberg T, Peracchio LA. One individual, two identities: frame switching among biculturals. Journal of Consumer Research 2008; 35(2): 279-93.
3. Paul LM. Ethnologue: languages of the world. 16th ed. Dallas, TX: SIL International; 2009.
4. Fisher SE, Vargha-Khadem F, Watkins KE, Monaco AP, Pembrey ME. Localisation of a gene implicated in a severe speech and language disorder. Nat Genet 1998; 18(2): 168-70.
5. Lai CS, Fisher SE, Hurst JA, Vargha-Khadem F, Monaco AP. A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. Nature 2001; 413(6855): 519-23.
6. Fitch WT. The evolution of speech: a comparative review. Trends Cogn Sci 2000; 4(7): 258-67.
7. Damasio AR, Geschwind N. The neural basis of language. Annual Review of Neuroscience 1984; 7: 127-47.
8. Bogen JE, Bogen GM. Wernicke's region--Where is it? Ann N Y Acad Sci 1976; 280: 834-43.
9. Demonet JF, Chollet F, Ramsay S, Cardebat D, Nespoulous JL, Wise R, et al. The anatomy of phonological and semantic processing in normal subjects. Brain 1992; 115(Pt 6): 1753-68.
10. Poeppel D, Idsardi WJ, van Wassenhove V. Speech perception at the interface of neurobiology and linguistics. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2008; 363(1493): 1071-86.
11. Robson H, Sage K, Ralph MA. Wernicke's aphasia reflects a combination of acoustic-phonological and semantic control deficits: a case-series comparison of Wernicke's aphasia, semantic dementia and semantic aphasia. Neuropsychologia 2012; 50(2): 266-75.
12. Harpaz Y, Levkovitz Y, Lavidor M. Lexical ambiguity resolution in Wernicke's area and its right homologue. Cortex 2009; 45(9): 1097-103.
13. Dronkers NF, Plaisant O, Iba-Zizen MT, Cabanis EA. Paul Broca's historic cases: high resolution MR imaging of the brains of Leborgne and Lelong. Brain 2007; 130(Pt 5): 1432-41.
14. Skipper JI, Goldin-Meadow S, Nusbaum HC, Small SL. Speech-associated gestures, Broca's area, and the human mirror system. Brain Lang 2007; 101(3): 260-77.
15. Bernal B, Ardila A. The role of the arcuate fasciculus in conduction aphasia. Brain 2009; 132(Pt 9): 2309-16.
16. Saur D, Kreher BW, Schnell S, Kummerer D, Kellmeyer P, Vry MS, et al. Ventral and dorsal pathways for language. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(46): 18035-40.
17. Bastiaanse R, van ZR. Broca's aphasia, verbs and the mental lexicon. Brain Lang 2004; 90(1-3): 198-202.
18. Caplan D. Why is Broca's area involved in syntax? Cortex 2006; 42(4): 469-71.
19. Caramazza A, Zurif EB. Dissociation of algorithmic and heuristic processes in language comprehension: evidence from aphasia. Brain Lang 1976; 3(4): 572-82.
20. Friederici AD, Meyer M, von Cramon DY. Auditory language comprehension: an event-related fMRI study on the processing of syntactic and lexical information. Brain Lang 2000; 74(2): 289-300.
21. Fitch WT. The evolution of language. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2010.

22. Konopka G, Bomar JM, Winden K, Coppola G, Jonsson ZO, Gao F, et al. Human-specific transcriptional regulation of CNS development genes by FOXP2. Nature 2009; 462(7270): 213-7.
23. Griffin DR. Animal minds. Chicago, IL: University of Chicago Press; 1992.
24. Hurford JR. The origins of meaning. Oxford, UK: Oxford University Press; 2007.
25. Emery N, Clayton N, Frith Ch. Social intelligence: from brain to culture. Oxford, UK: Oxford University Press; 2008.
26. Hurford J. The evolution of human communication and language. In: D'Ettorre P, Hughes D, editors. Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective. Oxford, UK: Oxford University Press; 2008. p. 249-64.
27. Fitch WT. The biology and evolution of language: Deep homology and the evolution of innovation. In: Gazzaniga MS, editor. The cognitive neuroscience. Cambridge, MA: MIT Press; 2009. p. 873–83.
28. Fernald RD. Casting a genetic light on the evolution of eyes. Science 2006; 313(5795): 1914-8.
29. Toth AL, Robinson GE. Evo-devo and the evolution of social behavior. Trends Genet 2007; 23(7): 334-41.
30. Goodson JL, Kabelik D. Dynamic limbic networks and social diversity in vertebrates: from neural context to neuromodulatory patterning. Front Neuroendocrinol 2009; 30(4): 429-41.
31. Shriberg LD, Tomblin JB, McSweeny JL. Prevalence of speech delay in 6-year-old children and comorbidity with language impairment. J Speech Lang Hear Res 1999; 42(6): 1461-81.
32. Tomblin JB, Records NL, Buckwalter P, Zhang X, Smith E, O'Brien M. Prevalence of specific language impairment in kindergarten children. J Speech Lang Hear Res 1997; 40(6): 1245-60.
33. National Dissemination Center for Children with Disabilities (NICHCY). Speech and language impairments [Online]. [cited 2011 Jan]; Available from: URL: http://www.parentcenterhub.org/repository/speechlanguagel/
34. Gierut JA. Treatment efficacy: functional phonological disorders in children. J Speech Lang Hear Res 1998; 41(1): S85-100.
35. Kirshner HS. Aphasia. In: Ramachandran VS, editor. Encyclopedia of human behavior. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press; 2012. p. 177-86.
36. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. NINDS aphasia information page [Online]. [cited 2014 Feb 14]; Available from: URL: http://www.ninds.nih.gov/disorders/aphasia/aphasia.htm
37. National Stroke Association [Online]. [cited 2008]; Available from: URL: www.stroke.org
38. Mizen L, Cooper SA. Learning disabilities. Medicine 2012; 40(11): 619-22.
39. Cortiella C. The state of learning disabilities. New York, NY: National Center for Learning Disabilities; 2009.
40. Lagae L. Learning disabilities: definitions, epidemiology, diagnosis, and intervention strategies. Pediatr Clin North Am 2008; 55(6): 1259-68, vii.
41. Interagency Committee on Learning Disabilities. Learning disabilities: a report to the U.S. Congress. Washington, DC: Government Printing Office; 1987.
42. Shaywitz SE. Dyslexia. N Engl J Med 1998; 338(5): 307-12.
43. Schumacher J, Hoffmann P, Schmal C, Schulte-Korne G, Nothen MM. Genetics of dyslexia: the evolving landscape. J Med Genet 2007; 44(5): 289-97.
44. Johnson MB, Kawasawa YI, Mason CE, Krsnik Z, Coppola G, Bogdanovic D, et al. Functional and evolutionary insights into human brain development through global transcriptome analysis. Neuron 2009; 62(4): 494-509.
45. Flannery KA, Liederman J, Daly L, Schultz J. Male prevalence for reading disability is found in a large sample of black and white children free from ascertainment bias. J Int Neuropsychol Soc 2000; 6(4): 433-42.
46. Evans TM, Flowers DL, Napoliello EM, Eden GF. Sex-specific gray matter volume differences in females with developmental dyslexia. Brain Struct Funct 2014; 219(3): 1041-54.
47. Heim S, Tschierse J, Amunts K, Wilms M, Vossel S, Willmes K, et al. Cognitive subtypes of dyslexia. Acta Neurobiol Exp (Wars) 2008; 68(1): 73-82.
48. Chung KK, Ho CS, Chan DW, Tsang SM, Lee SH. Cognitive profiles of Chinese adolescents with dyslexia. Dyslexia 2010; 16(1): 2-23.
49. Taylor J, Roehrig AD, Soden HB, Connor CM, Schatschneider C. Teacher quality moderates the genetic effects on early reading. Science 2010; 328(5977): 512-4.
50. Pennington BF, McGrath LM, Rosenberg J, Barnard H, Smith SD, Willcutt EG, et al. Gene X environment interactions in reading disability and attention-deficit/hyperactivity disorder. Dev Psychol 2009; 45(1): 77-89.
51. Roth TL, Roth ED, Sweatt JD. Epigenetic regulation of genes in learning and memory. Essays Biochem 2010; 48(1): 263-74.

52. Gibson CJ, Gruen JR. The human lexinome: genes of language and reading. J Commun Disord 2008; 41(5): 409-20.
53. Poelmans G, Buitelaar JK, Pauls DL, Franke B. A theoretical molecular network for dyslexia: integrating available genetic findings. Mol Psychiatry 2011; 16(4): 365-82.
54. Joanisse MF, Seidenberg MS. Specific language impairment: a deficit in grammar or processing? Trends Cogn Sci 1998; 2(7): 240-7.
55. Parisse Ch, Maillart Ch. Specific language impairment as systemic developmental disorders. Journal of Neurolinguistics 2009; 22(2): 109-22.
56. Newbury DF, Monaco AP. Genetic advances in the study of speech and language disorders. Neuron 2010; 68(2): 309-20.
57. Bartlett CW, Flax JF, Logue MW, Vieland VJ, Bassett AS, Tallal P, et al. A major susceptibility locus for specific language impairment is located on 13q21. Am J Hum Genet 2002; 71(1): 45-55.
58. Conti-Ramsden G, Botting N. Specific Language Impairment. In: Brown K, editor. Encyclopedia of language and linguistics. 2nd ed. Oxford, UK: Elsevier; 2006. p. 629-32.
59. Johnson CJ, Beitchman JH, Young A, Escobar M, Atkinson L, Wilson B, et al. Fourteen-year follow-up of children with and without speech/language impairments: speech/language stability and outcomes. J Speech Lang Hear Res 1999; 42(3): 744-60.
60. Ripley K, Daines B, Barrett J. Dyspraxia: a guide for teachers and parents. London, UK: David Fulton Publishers; 1997.
61. Shriberg LD. Childhood apraxia of speech. Genetics 2011; 25: 166-77.
62. Shriberg LD, Aram DM, Kwiatkowski J. Developmental apraxia of speech: I. Descriptive and theoretical perspectives. J Speech Lang Hear Res 1997; 40(2): 273-85.
63. Shriberg LD. Classification and misclassification of child speech sound disorders. Proceedings of the Annual Convention of the American Speech-Language-Hearing Association; 2002; Atlanta, GA, USA.
64. Sices L, Taylor HG, Freebairn L, Hansen A, Lewis B. Relationship between speech-sound disorders and early literacy skills in preschool-age children: impact of comorbid language impairment. J Dev Behav Pediatr 2007; 28(6): 438-47.
65. Felsenfeld S, McGue M, Broen PA. Familial aggregation of phonological disorders: results from a 28-year follow-up. J Speech Hear Res 1995; 38(5): 1091-107.
66. Raitano NA, Pennington BF, Tunick RA, Boada R, Shriberg LD. Pre-literacy skills of subgroups of children with speech sound disorders. J Child Psychol Psychiatry 2004; 45(4): 821-35.
67. Stein CM, Schick JH, Gerry TH, Shriberg LD, Millard C, Kundtz-Kluge A, et al. Pleiotropic effects of a chromosome 3 locus on speech-sound disorder and reading. Am J Hum Genet 2004; 74(2): 283-97.
68. Prasse JE, Kikano GE. Stuttering: an overview. Am Fam Physician 2008; 77(9): 1271-6.
69. Maguire GA, Yeh CY, Ito BS. Overview of the Diagnosis and Treatment of Stuttering. Journal of Experimental and Clinical Medicine 2012; 4(2): 92-7.
70. Mansson H. Childhood stuttering: Incidence and development. Journal of Fluency Disorders 2000; 25(1): 47-57.
71. Ashley C, Yvonne T. The epidemiology of stuttering: the need for reliable estimates of prevalence and anxiety levels over the lifespan. Int J Speech Lang Pathol 2005; 7(1): 41-6.
72. Yairi E, Ambrose NG. Early childhood stuttering for clinicians by clinicians. Austin, TX: 2005.
73. Proctor A, Duff M, Yairi E. Early childhood stuttering: African Americans and European Americans. ASHA Leader 2002; 4(15): 102.
74. Brkanac Z, Chapman NH, Igo RP, Jr., Matsushita MM, Nielsen K, Berninger VW, et al. Genome scan of a nonword repetition phenotype in families with dyslexia: evidence for multiple loci. Behav Genet 2008; 38(5): 462-75.
75. Shugart YY, Mundorff J, Kilshaw J, Doheny K, Doan B, Wanyee J, et al. Results of a genome-wide linkage scan for stuttering. Am J Med Genet 2004; 124A (2): 133-5.
76. Wittke-Thompson JK, Ambrose N, Yairi E, Roe C, Cook EH, Ober C, et al. Genetic studies of stuttering in a founder population. J Fluency Disord 2007; 32(1): 33-50.
77. Raza MH, Riazuddin S, Drayna D. Identification of an autosomal recessive stuttering locus on chromosome 3q13.2-3q13.33. Hum Genet 2010; 128(4): 461-3.
78. Riaz N, Steinberg S, Ahmad J, Pluzhnikov A, Riazuddin S, Cox NJ, et al. Genomewide significant linkage to stuttering on chromosome 12. Am J Hum Genet 2005; 76(4): 647-51.
79. Suresh R, Ambrose N, Roe C, Pluzhnikov A, Wittke-Thompson JK, Ng MC, et al. New complexities in the genetics of stuttering: significant sex-specific linkage signals. Am J Hum Genet 2006; 78(4): 554-63.
80. Kang C, Riazuddin S, Mundorff J, Krasnewich D, Friedman P, Mullikin JC, et al. Mutations in the lysosomal enzyme-targeting pathway and

persistent stuttering. N Engl J Med 2010; 362(8): 677-85.
81. Cury GK, Matte U, Artigalas O, Alegra T, Velho RV, Sperb F, et al. Mucolipidosis II and III alpha/beta in Brazil: analysis of the GNPTAB gene. Gene 2013; 524(1): 59-64.
82. Sun T, Walsh CA. Molecular approaches to brain asymmetry and handedness. Nat Rev Neurosci 2006; 7(8): 655-62.
83. Corballis MC. From mouth to hand: gesture, speech, and the evolution of right-handedness. Behav Brain Sci 2003; 26(2): 199-208.
84. Treiman R, Clifton C, Meyer AS, Wurm LH. Language comprehension and production. handbook of psychology. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc.; 2003.
85. Boesch C. Handedness in wild chimpanzees. International Journal of Primatology 1991; 12(6): 541-58.
86. Frayer DW, Fiore I, Lalueza-Fox C, Radovcic J, Bondioli L. Right handed Neandertals: Vindija and beyond. J Anthropol Sci 2010; 88: 113-27.
87. Estalrrich A, Rosas A. Handedness in Neandertals from the El Sidron (Asturias, Spain): evidence from instrumental striations with ontogenetic inferences. PLoS One 2013; 8(5): e62797.
88. Medland SE, Duffy DL, Wright MJ, Geffen GM, Hay DA, Levy F, et al. Genetic influences on handedness: data from 25,732 Australian and Dutch twin families. Neuropsychologia 2009; 47(2): 330-7.
89. Giljov A, Karenina K, Malashichev Y. Forelimb preferences in quadrupedal marsupials and their implications for laterality evolution in mammals. BMC Evol Biol 2013; 13(1): 61.
90. Gutwinski S, Loscher A, Mahler L, Kalbitzer J, Heinz A, Bermpohl F. Understanding left-handedness. Dtsch Arztebl Int 2011; 108(50): 849-53.
91. Rodriguez A, Kaakinen M, Moilanen I, Taanila A, McGough JJ, Loo S, et al. Mixed-handedness is linked to mental health problems in children and adolescents. Pediatrics 2010; 125(2): e340-e348.
92. Banich MT. The missing link: the role of interhemispheric interaction in attentional processing. Brain Cogn 1998; 36(2): 128-57.
93. Hardyck C, Petrinovich LF. Left-handedness. Psychol Bull 1977; 84(3): 385-404.
94. Deep-Soboslay A, Hyde TM, Callicott JP, Lener MS, Verchinski BA, Apud JA, et al. Handedness, heritability, neurocognition and brain asymmetry in schizophrenia. Brain 2010; 133(10): 3113-22.
95. El-Rakhawy M. Mixed handedness and the schizophrenic spectrum. Current Psychiatry [Egypt] 2009; 16(3): 236-42.
96. Deuel RK, Dunlop NL. Hand preferences in the rhesus monkey. Implications for the study of cerebral dominance. Arch Neurol 1980; 37(4): 217-21.
97. Tonnessen FE, Lokken A, Hoien T, Lundberg I. Dyslexia, left-handedness, and immune disorders. Arch Neurol 1993; 50(4): 411-6.
98. Przybyla A, Good DC, Sainburg RL. Dynamic dominance varies with handedness: reduced interlimb asymmetries in left-handers. Exp Brain Res 2012; 216(3): 419-31.
99. Francks C, DeLisi LE, Shaw SH, Fisher SE, Richardson AJ, Stein JF, et al. Parent-of-origin effects on handedness and schizophrenia susceptibility on chromosome 2p12-q11. Hum Mol Genet 2003; 12(24): 3225-30.
100. Francks C, DeLisi LE, Fisher SE, Laval SH, Rue JE, Stein JF, et al. Confirmatory evidence for linkage of relative hand skill to 2p12-q11. Am J Hum Genet 2003; 72(2): 499-502.
101. Francks C, Maegawa S, Lauren J, Abrahams BS, Velayos-Baeza A, Medland SE, et al. LRRTM1 on chromosome 2p12 is a maternally suppressed gene that is associated paternally with handedness and schizophrenia. Mol Psychiatry 2007; 12(12): 1129-39, 1057.
102. Lauren J, Airaksinen MS, Saarma M, Timmusk T. A novel gene family encoding leucine-rich repeat transmembrane proteins differentially expressed in the nervous system. Genomics 2003; 81(4): 411-21.
103. Ludwig KU, Mattheisen M, Muhleisen TW, Roeske D, Schmal C, Breuer R, et al. Supporting evidence for LRRTM1 imprinting effects in schizophrenia. Mol Psychiatry 2009; 14(8): 743-5.
104. Sousa I, Clark TG, Holt R, Pagnamenta AT, Mulder EJ, Minderaa RB, et al. Polymorphisms in leucine-rich repeat genes are associated with autism spectrum disorder susceptibility in populations of European ancestry. Mol Autism 2010; 1(1): 7.
105. Scerri TS, Brandler WM, Paracchini S, Morris AP, Ring SM, Richardson AJ, et al. PCSK6 is associated with handedness in individuals with dyslexia. Hum Mol Genet 2011; 20(3): 608-14.
106. Constam DB, Robertson EJ. SPC4/PACE4 regulates a TGFbeta signaling network during axis formation. Genes Dev 2000; 14(9): 1146-55.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014

Received: 28.03.2014

Accepted: 01.09.2014

An Overview on the Evolution of Language and Genetics of Speech Disorders

Seyyed Mohammad Mousavi MSc[1], Elaheh Kamali MSc[2], Padideh Karimi MSc[3], Mansour Salehi PhD[4]

Review Article

Abstract

Language, as an exclusive salient of human kind, is the requisite of development and formation of the human society; thus, it is at the topmost of human evolutionary features. Language and speech can be studied in various fields such as biology. Biolinguistics is an interdisciplinary field in which biological development of language is studied. It aims to find the functioning cycle in mind that enables humans to perceive the principles and bases of language. Language genetics, a subfield of biolinguistics, traces genetic factors in the formation and perception of language. Although a variety of theories have been introduced to explain the origins of language, considering recent studies, acquiring essential genetic abilities for speaking are undoubtedly of the most crucial necessities of this skill. Researchers have recently found defective genes in a wide spectrum of language disorders, through which they strongly confirm that speech systems rely on these genes to function properly. However, there is no report on a study which answers this question clearly: considering the origins of language and human evolution, is the proper function of genes, genetic structures, and general requirements necessary for speaking? The evolution of language and genetics of speech disorders along with the outstanding improvements and recent studies are discussed in this review article.

Keywords: Language, Genetics, Evolution, Speech disorders

Citation: Mousavi SM, Kamali E, Karimi P, Salehi M. **An Overview on the Evolution of Language and Genetics of Speech Disorders.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1509-29

1- Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord AND General Office of Legal Medicine, Isfahan, Iran
2- PhD Student, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- PhD Student, Department of Genetics, School of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences AND Medical Genetics Center of Genome, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mansour Salehi PhD, Email: m_salehi@med.mui.ac.ir

errors author should verify references against the original documents. The Reference should provide the following information as stated in the presented models as follows:

a. **Article**: Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res. 2002;935(1-2):40-6.
b. **Chapter in a book**: Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
c. **Book**: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

14. **Proof Reading:** A computer prints out is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
15. **Abbreviations and symbols**: Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract**. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
17. **Ethical guidelines**: Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project.Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (http://journals.mui.ac.ir/jims) only. For more in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
   This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications,Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: http://journals.mui.ac.ir/jims**
   Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
   The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction**, **Materials & Methods**, **Results**, **Discussion**, **Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background**, **Methods**, **Results** and **Conclusion** followed by 3 **to** 5 **Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age ± standard deviation must be given. Statistical method must be mentioned and specify any general computer program used.
8. **Results:** It must be presented in the form of text, tables and illustrations. The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, a reference to the table number may be given. Long articles may need sub-headings within some sections (especially the Results and Discussion parts) to clarify their contents.
9. **Discussion:** This should emphasize the present findings and the variations or similarities with other work done in the field by other workers. The detailed data should not be repeated in the discussion again. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. It must be mentioned whether the hypothesis mentioned in the article is true, false or no conclusions can be derived.
10. **Acknowledgement:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgement section. It should include persons who provided technical help, writing assistance and departmental head who only provided general support. Financial and material support should also be acknowledged.
11. **Tables:** In limited numbers should be submitted with the **captions placed above**. Do not submit tables as photograph. Place explanatory matters in footnotes, not in the heading.
12. **Figures:** Should be in limited numbers, with high quality art work and mounted on separate pages. The captions **should be placed below**. The same data should not be presented in tables, figures and text, simultaneously.
13. **References**: Should be as **Vancouver style**. All manuscripts should be accompanied by relevant references. The author should ensure reference to locally published studies by doing proper literature search. It may not be possible for the editor and reviewers to check the accuracy of all reference citations. To minimize such

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmaeil Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Leuis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Barekatain** MD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmaeil beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophtalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Flourida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saied Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian.** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 301, 2nd week, November 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible**: Mansour Sholehvar MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief**: Majid Barekatain MD**

Associate Editor: **Reza Rouzbahani MD, MPH**

Published by:
Isfahan University of Medical Sciences
E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 7922291
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://www.journals.mui.ac.ir/jims
Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:
Farzanegan Radandish Co.
P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 6686302
E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database (www.sid.ir)
- www.iranmedex.com

The online version is available in; IUMS website (www.journals.mui.ac.ir/jims), Iran Publications database (www.magiran.com), Scientific Information Database website (www.sid.ir) and in Health Researchers website (www.iranmedex.com).

Copyright: All rights reserved, no part may be reproduced without the prior permission of the publisher.