

دانشور

پزشکی

توزیع پپتاید وابسته به ژن کالسی تونین ① در پیوندگاه عصبی- عضلانی مختلف موش سفید، متعاقب افزایش فعالیت بدنی

نویسنده: دکتر رضا قراخانلو^۱

۱. استادیار گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشگاه تربیت مدرس
✉ نویسنده مسئول:

✉ نویسنده مسئول: دکتر رضا قراخانلو

چکیده

مقدمه و هدف: اخیراً نشان داده شده که مقدار ① در جسم سلولی و آکسون نرون‌های حرکتی که به عضلات بازکننده موش‌های سفید عصب رسانی می‌کنند افزایش پیدا می‌کند. با توجه به نقش احتمالی رهایش ① از پایانه‌های عصبی در سازگاری‌های پیوندگاه عصبی- عضلانی ①، در این تحقیق، تأثیر یک برنامه تمرین استقامتی بر مقدار نسبی این نروپپتاید در پیوندگاه عضله تندانقباض (پلانتاریس) و عضله کندانقباض (نعلی) ساق موش‌های سفید ماده مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: صفحات عصبی-عضلاتی از طریق انکوبه کردن قطعات طولی عضلات با بونگارو توکسین نشان‌دار ① شناسایی شدند و مقدار نسبی ① در اعصاب انتهایی مربوط با روش ایمنووهیستوشیمیایی و نیز روش تجزیه و تحلیل تصویری اندازه‌گیری شد. اندازه پیوندگاه‌ها نیز مطالعه گردید.

نتایج: در هر دو عضله، کمتر از ۱۴ درصد از ① در حد شدید و متوسط رنگی‌شدن (نشانه وجود ①) را ظاهر ساختند، در حالی که در اکثر آن‌ها (بیش از ۵۰ درصد) وجود نداشت. در موش‌های تمرین‌کرده، یک کاهش معنادار (۱۴ درصد) در پیوندگاه‌های دارای ① در عضله نعلی دیده شد. در عضله پلانتاریس نیز چنین تمایلی وجود داشت، ولی مقدار آن معنادار نبود. در هر دو عضله نعلی و پلانتاریس از موش‌های تمرین‌کرده، اندازه پیوندگاه‌ها به طور با معنا بزرگتر از عضلات مشابه در حیوان‌های کنترل بود.

جمع‌بندی: نتایج این تحقیق حاکی از آن است که در پی تمرین استقامتی، مقدار ① در ① بر خلاف آنچه در جسم سلولی و آکسون اتفاق می‌افتد، کاهش می‌یابد. با توجه به کارکردهای مختلف ساختاری و عملکردی ①، این امر می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت فعالیت بدنی در پیشگیری و یا درمان اختلالات و بیماری‌های عصبی عضلانی باشد که معلوم کردن جزئیات آن، مستلزم انجام تحقیقات بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: ①، ①، تمرین استقامتی، موش سفید، ایمنووهیستوشیمی

دوماهنامه علمی
- پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال پانزدهم -
شماره ۷۲
دی ۱۳۸۶

وصول: ۸۴/۸/۴
ارسال اصلاحات: ۸۵/۲/۹
دریافت اصلاحات: ۸۸/۶/۲۷

نیازهای عملکردی پاسخ می‌دهد [۱].
خصوصاً افزایش و کاهش فعالیت،
تغییراتی را در ساختار و عملکرد
پیوندگاه ایجاد می‌کند که شامل
تغییر در اندازه و عناصر ساختاری

مقدمه
پیوندگاه عصبی- عضلانی، ساختاری
پویا است که در سرتاسر عمر از
نظر ساختاری و عملکردی دستخوش
سازگاری و تغییر می‌شود و نسبت به

پایانه‌های عصی و ره‌ایش این پیتاید دارند.

اخیراً گزارش شد که یک برنامه ۱۶ هفته‌ای استقامتی به شکل دویدن روی تردمیل موجب افزایش معنادار در مقدار Ca^{2+} جسم سلولی و آکسونی موش‌های سفید می‌شود. این افزایش در اندازه‌گیری‌های که یک هفته پس از آخرین جلسه تمرین انجام شد آشکار گردید [۱]. هدف خاص این تحقیق، تعیین محتوای Ca^{2+} بیوندگاه عصی-عضلانی عضلات تندانقباض (پلانتراریس) و کندانقباض (نعلی) موش سفید بود. علاوه بر این، تغییرات اندازه محل اتصال عصی-عضلانی و ارتباط احتمالی آن با تغییرات مقدار Ca^{2+} نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برنامه تمرین حیوانات: موش‌های ماده اسپراگ-داوین C57BL/6J با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به دو گروه تمرین و کنترل (۵ موش برای هر گروه) تقسیم شدند. گروه تمرین، هر روز در ساعت مشابه بر روی یک نوارگردان MOTOMED EX-6000 می‌دوید.

شدت تمرین در خلال ۴ هفته اول تمرین به تدریج اضافه شد و به ۳۰ متر در دقیقه رسید. شیب دستگاه ۵ درصد، مدت هر جلسه تمرین ۱۲۰ دقیقه، ۵ روز در هفته و به مدت ۱۶ هفته انجام شد. موش‌ها به وسیله صدا یا پمپ باد به دویدن تشویق می‌شدند و اغلب موش‌ها قادر بودند در طول مدت هر جلسه به صورت مستمر بدوند. در موارد معدود اگر حیوان قادر به ادامه تمرین نبود از برنامه کنار گذاشته می‌شد.

آماده‌سازی یافت و برش آن: یک هفته پس از آخرین جلسه تمرین، حیوان‌ها بیهوش می‌شدند (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سدیم پنتوباریتال، CaCl_2) و سپس پرفیوژن آن از طریق قلب انجام می‌گرفت (یک حیوان از گروه تمرین و یک حیوان از گروه کنترل). پرفیوژن با استفاده از مواد زیر انجام می‌شد:

سالین (۷۵-۱۰۰ میلی‌لیتر، حرارت اتاق)، پارافرم آلدئید ۳ درصد که دارای ۰/۲ درصد اسید پیکریک (۳۵۰ میلی‌لیتر، CaCl_2) بود و ساکروز ده درصد (صد میلی‌لیتر، خنک شده توسط یخ) که همگی در بافر فسفات ۰/۱ CaCl_2 (۴/۷) بودند. میزان پرفیوژن توسط پمپ ۱۵ میلی‌لیتر در دقیقه

[۲-۸] و اختصاصات عملکردی آن [۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳] می‌شود.

به طور کلی باید گفت که نروپیتایدها در فرآیند پیچیده سازگاری واحدهای حرکتی، به‌ویژه در تغییرات بیوندگاه عصی-عضلانی دارای نقش مهمی هستند. شواهدی وجود دارد مبنی بر این‌که برخی از نروتروفین‌ها و پلی‌پپتیدهایی که تمایز سلولی و بقای نرون‌های مهره‌داران را کنترل می‌کنند خودشان از فعالیت متأثر می‌شوند [۱۴]. در حقیقت نشان داده شده که تمرین، چند عامل کلیدی سیستم مولکولی را که ممکن است در سازگاری واحدهای حرکتی نقش داشته باشند متأثر می‌سازد. مثلاً نپر Nepr و همکاران او (۱۹۹۵) نشان دادند که فعالیت بدنی، مقدار تظاهر عامل نروتروفیکی Nepr را در مغز موش سفید افزایش داد، به نحوی که مقدار افزایش با مقدار فعالیت ارادی روزانه موش‌ها (دویدن روی نوارگردان) همبستگی آشکار داشت. همچنین مشخص شده که تولید نروتروفین Nepr در عضلات اسکلتی موش سفید «وابسته به فعالیت» است و به علاوه این عامل احتمالاً به عنوان یک پیام‌آور نروتروفیکی در رشد و تجدید ساختار نرون‌های حرکتی بالغ ایفای نقش می‌کند [۱۴].

پروتئین Ca^{2+} ، با ۲۷ آمینو اسید، که یکی از محصولات ژن کلسیتونین است در سیستم اعصاب مرکزی گونه‌های مختلف یافت شده [۱۵] که این گونه‌ها، شامل انسان [۱۵ و ۱۶] نیز می‌شود.

این نروپیتاید در محل اتصال عصب و عضله از پایانه‌های عصی با یک فرایند وابسته به یون کلسیم ترشح [۱۷] و به گیرنده‌ها متصل می‌شود [۱۸] و عملکردهای مختلفی برای آن مفروض است که شامل تنظیم ساخت گیرنده‌های استیل‌کولین [۱۹ و ۲۰] تعدیل عملکرد گیرنده‌های استیل‌کولینی [۲۱ و ۲۲]، افزایش رهایشی استیل‌کولین [۲۳] و تنظیم کولین استراز نوع AChE در بیوندگاه عصی-عضلانی می‌شود [۲۴]. اگرچه نتایج تحقیقات قبلی [۲۵، ۲۶ و ۲۷] حاکی از آن است که Ca^{2+} نسبت به فعالیت‌های عصی-عضلانی کوتاه مدت حساسیت نشان می‌دهد، ولی این نتایج ابهام‌آمیز بوده است. در حال حاضر، این موضوع روشن نیست که تغییرات بلندمدت وابسته به فعالیت که در محل اتصال عصب و عضله اتفاق می‌افتند چه ارتباط احتمالی با تغییرات مربوط به محتوای Ca^{2+}

است و هیچ واکنشی نسبت به کلسیتونین موش سفید نشان نمی‌دهد
 برای کنترل واکنش و رنگی شدن ناخواسته به هنگام برش قطعات، قطعات اول تا چهارم به عنوان قطعات آزمایشی و قطعه پنجم به عنوان قطعه کنترل استفاده قرار می‌گرفت. با قطعه کنترل نیز عیناً شبیه قطعات آزمایشی رفتار می‌شد جز این که آنتی‌بادی اول از محیط حذف می‌شد. پس از چهار نوبت شستن (هر نوبت یک ساعت و با استفاده از ۵ قطعات، آن‌ها با آنتی‌بادی دوم ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) پس از آن با آنتی‌بادی دوم ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستشو (هر نوبت ۱۵ دقیقه در ۵ قطعات توسط هوا خشک می‌شدند، به وسیله الکل (با غلظت های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد، هر کدام ۵ دقیقه) آب‌گیری می‌شدند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سرانجام قطعات با پرمانت بر روی اسلاید سوار می‌شدند و تا مرحله تجزیه و تحلیل در تاریکی نگهداری می‌شدند.

ارزیابی بیوندگام عصب و عضله در قطعات از نظر رنگی شدن شبه ۵ و اندازه آن‌ها: بدین‌منظور از روش نیمه کمی و با استفاده از سیستم تجزیه و تحلیل تصویری بهره‌گیری شد. تجزیه و تحلیل تصویری قطعات شماره گذاری شده با استفاده از میکروسکوپ ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستشو (هر نوبت ۱۵ دقیقه در ۵ قطعات توسط هوا خشک می‌شدند، به وسیله الکل (با غلظت های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد، هر کدام ۵ دقیقه) آب‌گیری می‌شدند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سرانجام قطعات با پرمانت بر روی اسلاید سوار می‌شدند و تا مرحله تجزیه و تحلیل در تاریکی نگهداری می‌شدند.

بود و کل فرایند پرفیوژن ۸۰ دقیقه طول می‌کشید. بعد از پرفیوژن، عضلات پلانتریس ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به سرعت جدا شده، در ایزوپنتان که در داخل محلول نیتروژن قرار داشت منجمد می‌شدند و تا زمان استفاده در ۸۰- نگهداری می‌گردیدند. سپس ۲۱۰ عدد قطعات طولی (۱۶ میکرومتری) به وسیله دستگاه برش بافتی ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستن (هر نوبت یک ساعت و با استفاده از ۵ قطعات، آن‌ها با آنتی‌بادی دوم ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) پس از آن با آنتی‌بادی دوم ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستشو (هر نوبت ۱۵ دقیقه در ۵ قطعات توسط هوا خشک می‌شدند، به وسیله الکل (با غلظت های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد، هر کدام ۵ دقیقه) آب‌گیری می‌شدند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سرانجام قطعات با پرمانت بر روی اسلاید سوار می‌شدند و تا مرحله تجزیه و تحلیل در تاریکی نگهداری می‌شدند.

شناسایی صفحه‌های محرکه انتهایی: قطعات عضلانی بر روی اسلایدهایی که قبلاً با ژلاتین کروم- آلوم پوش داده شده بودند قرار می‌گرفتند و برای شناسایی صفحه محرکه انتهایی و یافتن محل اتصال عصب و عضله به‌کار گرفته می‌شدند. برای هر عضله ۶۰ قطعه مورد استفاده قرار گرفت. تمام مراحل شستن و آنکوبه کردن قطعات در یک محفظه مرطوب با حرارت ۱۶-۱۹ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد که این محفظه به آرامی حرکت داده می‌شد. قطعه‌های خارج شده از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ابتدا به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و سپس در محلول سالین ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستشو (هر نوبت ۱۵ دقیقه در ۵ قطعات توسط هوا خشک می‌شدند، به وسیله الکل (با غلظت های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد، هر کدام ۵ دقیقه) آب‌گیری می‌شدند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سرانجام قطعات با پرمانت بر روی اسلاید سوار می‌شدند و تا مرحله تجزیه و تحلیل در تاریکی نگهداری می‌شدند.


ایمونوهیستوشیمی: قطعات به مدت ۱۸ ساعت با آنتی‌بادی اول ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه آنکوبه می‌گردیدند. سپس قطعات شسته می‌شدند (یک ساعت با ۵ قطعه در دقیقه ۴۵ دقیقه در محلول استریل آب‌بیدین - پراکسیداز ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند) که غلظت ۱۰۰۰:۱ در ۵ داشته قرار می‌گرفتند. در مرحله بعد، قطعات باز هم شسته می‌شدند (یک ساعت در ۵ قطعه در دقیقه در یک محلول که حاوی پراکسید هیدروژن (۱/۰ درصد) و دی‌آمینوبنزدین (۵/۰ درصد) بود قرار می‌گرفتند تا رنگی بشوند. پس از چهار نوبت شستشو (هر نوبت ۱۵ دقیقه در ۵ قطعات توسط هوا خشک می‌شدند، به وسیله الکل (با غلظت های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد، هر کدام ۵ دقیقه) آب‌گیری می‌شدند. سپس ۵ قطعه کنترل و ۵ قطعه آزمایشی شستند. سرانجام قطعات با پرمانت بر روی اسلاید سوار می‌شدند و تا مرحله تجزیه و تحلیل در تاریکی نگهداری می‌شدند.


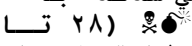
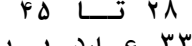
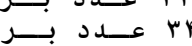
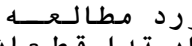
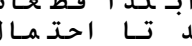
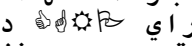
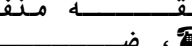
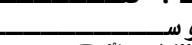

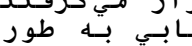
میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده اند.

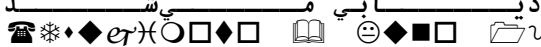
نتایج

نشان‌دار شدن: صفحات محرکه انتهایی که توسط آلفا بونگارو توکسیون نشان‌دار شده بودند در اکثر قطعات عضلانی به‌سهولت قابل شناسایی بودند. شدت نشان‌دار شدن در قطعات مختلف تفاوت می‌کرد و به نظر می‌رسید که این تفاوت، مستقل از نوع عضله (نعلی در مقابل پلاننتاریس) و مستقل از گروه حیوانات (تمرین‌کرده در مقابل کنترل) باشد. در برخی از قطعات عضلانی، میزانی از نشان‌دار شدن ناخواسته به چشم می‌خورد که به آسانی از صفحات محرک انتهایی نشان‌دار قابل تمایز نبود. نشان‌دار شدن ناخواسته غالباً در اطراف تارهای عضلانی دیده می‌شد یا به صورت یک لکه از فلورسنت ظاهر می‌گشت و به هر حال به‌سادگی تحت کنترل بود.

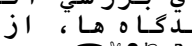
الگوی گوی  در محل‌های اتصال عصب و عضله: پیوندگاه‌های عصب و عضله در هر دو گروه حیوان تمرین‌کرده و کنترل با آنتی‌بادی ضد  نشان‌دار شدند. در این پیوندگاه‌ها، تنوعی از شدت رنگی شدن مشاهده می‌شد که در قطعات کنترل  حداقل رنگی شدن به چشم می‌خورد. این اختلاف در شدت رنگی شدن به عنوان بازتابی از اختلاف در مقدار  موجود در بافت قلمداد می‌شد. الگوی رنگی شدن با آنتی‌بادی  در پیوندگاه‌های دارای  یکنواخت نبود که این امر، مستقل از نوع عضله (نعلی در مقابل پلاننتاریس) و مستقل از گروه حیوان‌ها (تمرین‌کرده در مقابل کنترل) بود. در برخی از موارد  به‌طور یکنواخت در سرتاسر ناحیه پیوندگاه  وجود داشت، در حالی که در سایر موارد  به‌صورت نقطه به نقطه پدیدار می‌شد. تفاوت در شدت رنگی شدن در پیوندگاه‌های کنترل  و آزمایشی به وضوح آشکار بود و تنها در برخی موارد تعیین درجه مناسب برای رنگی از پیوندگاه‌ها که شدت رنگی شدن آن‌ها نزدیک به هم بود دشوار به نظر می‌رسید (مثلاً قرار گرفتن در طبقه منفی یا ضعیف). چهار مورد از این پیوندگاه‌ها وجود داشت (۵۹/۰ درصد از کل پیوندگاه‌های مورد مطالعه) که از تجزیه و تحلیل حذف شدند.

ویدیویی  انجام شد. ارزیابی شدت رنگی شدن و اندازه‌گیری مساحت پیوندگاه‌های عصی-عضلانی به وسیله یک نرم‌افزار کامپیوتری

 تجزیه و تحلیل تصاویر دیجیتال بود صورت می‌گرفت. قطعات به نحوی کدگذاری شده بودند که در جریان تجزیه و تحلیل، نوع عضله یا گروه حیوانی آن برای فرد تجزیه و تحلیل‌کننده معلوم نبود. قطعات به ترتیب بررسی می‌شدند به نحوی که تعداد مطلوب  (۲۸ تا ۴۰ در هر عضله ، ۲۸ تا ۴۵ در هر عضله ، کلاً ۳۳۰ عدد برای کل عضلات  و ۳۴۶ عدد برای کل عضلات ) مورد مطالعه قرار بگیرند. همواره ابتدا قطعات کنترل ارزیابی می‌شدند تا احتمال وجود رنگی شدن ناخواسته معلوم گردد. ابتدا پیوندگاه‌های نشان‌دار شده توسط فلئورسنت شناسایی می‌شدند و در مرحله بعد بر اساس مقدار و شدت رنگی شدن برای  در یکی از چهار طبقه منفی ، ضعیف ، متوسط  و قوی  قرار می‌گرفتند. در خلال جریان ارزیابی به‌طور مستمر به نمونه‌های مربوط به هر طبقه و به پیوندگاه‌های کنترل توجه می‌شد تا طبقه‌بندی از ثبات و روایی کافی برخوردار باشد.

برای اندازه‌گیری مساحت پیوندگاه‌ها، ابتدا صفحه محرکه انتهایی بر اساس نشان‌دار شدن آن توسط آلفا-بونگارو توکسون شناسایی می‌شد. سپس محدوده ظاهری پیوندگاه‌ها با استفاده از موشواره کامپیوتر روی یک صفحه ویدیویی ردیابی می‌شد .

تجزیه و تحلیل آماری

آزمون آماری مجذور کای مورد استفاده قرار گرفت تا تفاوت میان فراوانی‌های طبقات مختلف در عضلات دو گروه حیوان تمرین و کنترل معلوم شود. سپس در موارد ضروری از آزمون «تی» برای مطالعه نسبت‌ها استفاده شد. برای بررسی اثر تمرین بر اندازه پیوندگاه‌ها، از آزمون آماری آنوا  سه طرفه (نوع عضله، گروه حیوان‌ها، طبقات) استفاده شد. داده‌ها به صورت

شدت عضلانی در پیوندگاه‌ها عصبی-عضلانی: در تعداد ۲۱۰ قطعه عضلانی که مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱) تعداد ۶۷۶ صفحه محرک انتهایی نشان‌دار شده با فلورسنت بررسی شدند که به عضله نعلی و عضله پلانتریسی از ۵ حیوان گروه کنترل و ۵ حیوان گروه تمرین تعلق داشتند. توزیع این صفحات محرک انتهایی در جدول ۲ ارائه شده است. به طور کلی، چنانچه تعداد و در صد های طبقات در جدول ۲ نشان می‌دهد، در هر دو نوع عضله، از هر دو گروه حیوانات، اکثر صفحات محرک انتهایی فاقد فلورسنت بودند. در هر دو عضله، شدت رنگی شدن (مقدار فلورسنت) در گروه تمرین‌کرده نسبت به حیوانات گروه کنترل کاهش داشت. در عضلات گروه تمرین‌کرده، پیوندگاه های عصبی-عضلانی دارای فلورسنت در عضله نعلی و پلانتریسی به ترتیب ۱۶/۲ درصد و ۹/۳ درصد کمتر از عضلات مشابه در گروه کنترل بود (نمودار ۱). روش آماری جذور کای برای آزمون فرض معنادار بودن اختلاف میان دو گروه حیوان، از نظر طبقات شدت رنگی شدن مورد استفاده قرار گرفت. هنگامی که دو گروه عضلات پلانتریسی با هم مقایسه شدند هیچ تفاوت معناداری مشاهده نشد (نمودار ۲). این مقایسه در دو حالت ۴ طبقه‌ای (منفی، ضعیف، متوسط، قوی) و دو طبقه‌ای (منفی، مثبت) انجام شد. در خصوص عضله نعلی

دو گروه حیوان (نمودار ۱ و ۲)، تفاوت‌ها معنادار بودند که این امر، هم در حالت ۴ طبقه‌ای (۱/۰/۱) و هم در حالت دو طبقه‌ای (۱/۰/۱) مشاهده شد. برای تعیین گروه‌های پیوندگاه ①②③④ که از یکدیگر متفاوت بودند نسبت‌های هر طبقه برای عضلات نعلی در هر دو گروه حیوان با استفاده از آزمون مقایسه شدند. نتایج حاکی از آن بود که بین نسبت‌های طبقات مثبت (۱/۰/۱)، منفی (۵/۰/۱)، متوسط (۱/۰/۱) و شدید (۵/۰/۱) از ①②③④ های دو گروه حیوان تفاوت معنادار هست که بیانگر کم‌تر بودن تعداد پیوندگاه های عصبی-عضلانی دارای فلورسنت در عضلات نعلی ورزیده بود. در هر دو گروه حیوان، اغلب پیوندگاه‌ها به صورت ضعیف رنگی شده بودند (جدول ۲). گام آخر از تجزیه و تحلیل داده‌ها برای عضله پلانتریسی برداشته نشد زیرا چنان‌که ذکر شد روش آماری جذور کای، تفاوت معناداری را میان عضلات پلانتریسی ورزیده و کنترل ظاهر نداشت.

جدول ۱. توزیع قطعات عضلانی که برای شناسایی و ارزیابی تعداد پیوندگاه‌های عصبی - عضلانی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند

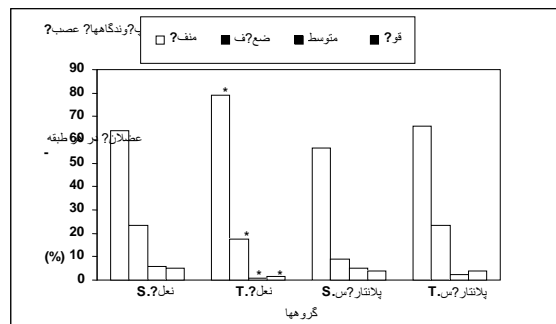
عضلات نمونه‌ها	نعلی (کنترل)		نعلی (تمرین کرده)		پلانتریسی (کنترل)		پلانتریسی (تمرین کرده)		جمع
	کنترل	آزمایشی	کنترل	آزمایشی	کنترل	آزمایشی	کنترل	آزمایشی	
۱	۱۱	۲	۱۳	۲	۱۵	۱۰	۷	۴۹	
۲	۱۰	۲	۱۰	۲	۵	۷	۲	۳۲	
۳	۱۰	۲	۱۱	۲	۵	۲	۶	۳۲	
۴	۷	۳	۷	۱	۸	۲	۴	۲۶	
۵	۱۲	۱	۱۰	۲	۶	۱	۸	۳۶	
جمع	۵۰	۲	۵۱	۱	۳۹	۲	۳۵	۱۷۵	
جمع	۶۰	۱۰	۶۰	۹	۴۷	۸	۴۳	۲۱۰	

جدول ۲ تعداد پیوندگاه‌های عصی - عضلانی در هر طبقه برای عضلات نعلی و پلانتریس از گروه‌های کنترل و تمرین

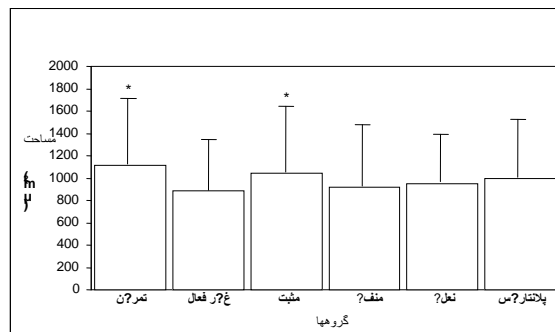
جمع	کنترل	قوی	متوسط	ضعیف	منفی	نعلی (کنترل)
۱۶۵	۳۹	۷	۹	۳۰	۸۰	نعلی (تمرین کرده)
۱۶۵	۳۲	۲	۱	۲۴	۱۰۶	پلانتریس (کنترل)
۱۷۳	۴۴	۶	۹	۳۹	۷۵	پلانتریس (تمرین کرده)
۱۷۳	۳۸	۷	۳	۳۴	۹۱	

استفاده از آزمون مقایسه شدند و نتایج حاکی از وجود اختلاف معنادار (۰/۰۵) میان دو عضله بود؛ به این معنا که مقدار واکنش ایمنی نسبت به در پیوندگاه‌های عصی-عضلانی عضله نعلی، نسبت به عضله پلانتریس کمتر بود.

بررسی ارتباط میان اندازه پیوندگاه‌های عصی-عضلانی و مقدار واکنش آن‌ها: آزمون آنوا سه طرفه (نوع عضله، گروه‌های دوگانه، طبقات) نشان داد که اندازه پیوندگاه‌ها در عضلات گروه تمرین و کنترل تفاوت دارند. اولاً قطع نظر از نوع عضله، پیوندگاه‌های عصی-عضلانی در عضلات گروه تمرین ۲۶/۳ درصد بزرگتر از پیوندگاه‌های عضلات گروه کنترل بود (نمودار ۳، ۰/۰۱). همچنین چنانچه پیوندگاه‌ها را بر اساس طبقه‌بندی آن‌ها به مثبت و منفی در نظر بگیریم، اندازه آن‌ها متفاوت بود (۰/۰۳)، به طوری که پیوندگاه‌های عصی-عضلانی مثبت که حاوی واکنش بودند به میزان ۱۲/۶ درصد بزرگتر از پیوندگاه‌های منفی بودند (نمودار ۳). ثانیاً، پیوندگاه‌های عصی-عضلانی مثبت از پیوندگاه‌های منفی بزرگتر از پیوندگاه‌های منفی معنادار (۰/۰۱) بزرگتر از پیوندگاه‌های منفی از همین نوع عضله بودند؛ حال آن‌که اندازه پیوندگاه‌های مثبت و منفی در عضله نعلی تفاوتی نداشت. همچنین اگر چه اندازه پیوندگاه‌های عضله پلانتریس تا حدودی (۳/۸ درصد) بزرگتر از پیوندگاه‌های عضله نعلی بودند، ولی این تفاوت معنادار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۱ نمودار ۱ پیوندگاه‌های عصی-عضلانی موش‌های گروه تمرین و غیرفعال



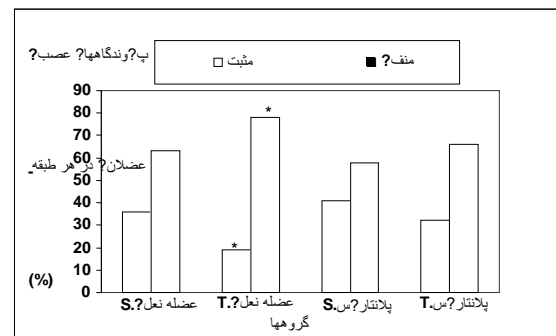
نمودار ۲ نمودار ۲ اندازه محدوده ظاهری پیوندگاه‌های عصی-عضلانی در گروه‌های مختلف

همچنین برای مطالعه تفاوت احتمالی میان عضلات نعلی و پلانتریس گروه کنترل و عضلات نعلی و پلانتریس گروه تمرین از نظر تعداد پیوندگاه واکنش قرار گرفته در طبقات مختلف رنگی‌شدن، از روش آماری جذور کای استفاده شد. مقایسه دو نوع عضله در حیوانات گروه کنترل، تفاوت معناداری را نشان نداد، در حالی که همین مقایسه در حیوانات گروه تجربی، حاکی از وجود اختلاف معنادار (۰/۰۵) میان دو نوع عضله بود. علاوه بر این، پیوندگاه‌های عصی و عضلانی در عضلات نعلی و پلانتریس از گروه تمرین‌کرده، بر اساس حالت دو طبقه‌ای (مثبت و منفی) و با

دارد یا خیر، در سوابق تحقیقاتی مربوط به موضوع با ابهام همراه است. در حالی که برخی تحقیقات بیان می‌دارند که $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در عضلات اسکلتی موش سفید یافت نمی‌شود [۲۶، ۳۰، ۳۱ و ۳۲] اکثر دیگر محققین معتقدند که حداقل مقدار قابل توجهی از پیوندگاه های عصبی-عضلانی واکنش ایمنی نسبت به نروپیتاید $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ را ظاهر نمی‌سازد [۲۵]. نتایج تحقیق حاضر با سوابق تحقیقاتی مربوط سازگاری دارد، زیرا در این بررسی نیز اکثر پایانه های عضله کندانقباض نعلی و عضله تندانقباض پلانناریس در موش های سفید بالغ ماده کنترل فاقد $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ بودند یا دارای مقدار اندکی از این پیتاید بودند؛ در حالی که تعداد کمی از آنها، مقادیری از $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ را ظاهر ساختند.

پیشنهادهایی وجود دارد، مبنی بر این که تظاهر $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در محل اتصال عصب و عضله به نوع واحد حرکتی مربوط می‌شود؛ به طوری که پیوندگاه های عضلانی که فعالیت کم تر دارند (نظیر آنچه در تارهای عضلانی $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ وجود دارند) تظاهر بیش تری نسبت به پیوندگاه های مربوط به عضلات فعالتر (نظیر نعلی) نشان می‌دهند [۲۵]. به هر حال، نتایج ابهام آمیز هستند و چنین به نظر می‌رسد که نوع تار عضله، تنها عامل تعیین کننده مقدار $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در پیوندگاه های عصبی-عضلانی نیست [۲۵ و ۳۳]. نتایج تحقیق حاضر به طور کلی حاکی از آن است که نوع تار عضلانی و فعالیت استقامتی بلندمدت عوامل تعیین کننده واکنش ایمنی پیوندگاه های عصبی-عضلانی نسبت به نروپیتاید $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ نیستند و اولاً بین دو عضله نعلی و پلانناریس که از نظر میزان فعالیت حرکتی متفاوتند تفاوتی مشاهده نشد و ثانیاً افزایش مقدار فعالیت حرکتی، به شکل برنامه روزانه دویدن استقامتی، نتوانست تغییرات قابل توجهی را در نیم رخ رنگی شدن پیوندگاه های عصبی-عضلانی این دو عضله ایجاد کند (تغییرات اندک، ولی معنادار در عضله نعلی و عدم تغییر در پلانناریس مشاهده شد).

تأثیر تمرینات استقامتی بر مقدار $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در محل اتصال عصب و عضله افزایش اندازه محل اتصال عصب و عضله در پی تمرینات استقامتی که در هر دو عضله مورد مطالعه مشاهده شد با نتایج تحقیقات قبلی [۸، ۳۴، ۳۵ و ۳۶] سازگار است و همین



مقدار ۳ پیوندگاه های عصبی-عضلانی عضله نعلی و پلانناریس از موش های گروه تمرین $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ و گروه غیرفعال $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$

بحث
نتایج این تحقیق با استفاده از یک روش نیمه کمی برای اولین بار نشان داد که مقدار $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در محل اتصال عصب و عضله موش سفید، در پی یک فعالیت استقامتی بلندمدت با تنظیم کاهشی $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ مواجه می‌شود. با توجه به این که نمونه های عضلانی، یک هفته پس از انجام آخرین جلسه تمرین دویدن تهیه شدند، تغییرات مقدار $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ را نمی‌توان به آثار حاد جلسه آخر نسبت داد. کاهش در مقدار نروپیتاید در عضله نعلی، بارزتر از عضله پلانناریس بود و در گروه کنترل، مقدار نروپیتاید مورد نظر در پیوندگاه های عصبی-عضلانی هر دو نوع عضله مشابه بود. به علاوه، معلوم شد که اندازه پیوندگاه ها به طور کلی در عضلات ورزیده، بزرگتر از عضلات گروه ساکن بود.

مقدار $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در پیوندگاه های عصبی-عضلانی

نروپیتاید $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در پایانه های عصب حرکتی در موش $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ توسط تکامی $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ و همکاران وی [۲۸] در موش سفید $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ توسط کسپلیک $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ و همکارانش [۲۹] یافت شده که این نروپیتاید غالباً به سطوح سیتوپلاسمی از ارگانل های نظیر میتوکندری نسبت داده شده است [۲۸]. چنین به نظر می‌رسد که $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ در پایانه های عصب حرکتی و در کیسه های خنثی $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ قرار دارد [۲۸ و ۲۹]. به هر صورت، این که آیا مقادیر قابل شناسایی از $\text{☰} \text{☷} \text{☱} \text{☲}$ (با استفاده از روش های ایمنو هیستوشیمیایی) در پیوندگاه های عصبی-عضلانی وجود

توقف آخرین جلسه تمرین، قربانی شدند.

می‌توان چنین بیان کرد که در پی تمرین، مقدار رهایش نروپیتاید مورد نظر فزونی می‌یابد که این امر احتمالاً در ارتباط با وقوع سازگاری‌های عصی-عضلانی ناشی از تمرین است. کاهش مقدار β -TG در محل اتصال عصب و عضله در پی تمرین ممکن است منعکس‌کننده تغییرات و سازگاری ایجاد شده در سطح فعالیت طبیعی عضله نعلی و یا بیانگر تأثیرات به‌جامانده از تمرین یک هفته قبل باشد.

نظریه‌های ارائه شده [۲۴ و ۲۹] مبني بر این‌که رهایش β -TG از پایانه‌های عصی ممکن است اثر مهاری بر سنتز استیل‌کولین استراز β داشته باشد. مبانی این نظریه بر دو مشاهده استوار شده است. اول این‌که یک یا دو روز تمرین طولانی به شکل دویدن روی تردمیل موجب دو اثر متضاد در عضله می‌شود (کاهش β -TG و افزایش β) و جالب این‌که افزایش β -TG برون‌زاد (آگزونوس) مانع از افزایش مقدار β -TG می‌گردد [۲۴]. دیگر این‌که قطع‌کردن عصب در عضله نیز پیامدهای مشابهی دارد (کاهش مقدار β -TG و افزایش مقدار β) که این مورد هم با حضور β -TG برون‌زاد مهار می‌شود [۲۴]. آنچه اشاره شد به دستکاری‌هایی باز می‌گشت که در مقابل تمرین به کار گرفته شده در تحقیق حاضر نسبتاً کوتاه مدت محسوب می‌شوند. با عنایت به این‌که قبلاً نشان داده شده که مدل تمرینی به‌کاررفته در تحقیق حاضر موجب افزایش مقدار β -TG در عضلات بازکننده اندام خلفی موش (که عضله پلانتریس نیز یکی از آن‌ها است) می‌شود، می‌توان توقع داشت که مقدار β -TG در محل اتصال عصب و عضله در این تحقیق باید به طور معنادار کاهش یابد. توجه به این نکته اهمیت دارد که ساختار و حتی عملکرد پیوندگاه به‌الگوهای شلیک موتونرون‌ها و به بیانی به ماهیت فعالیت حرکتی بستگی دارد؛ به نحوی که نوعی رقابت سیناپسی وابسته به فعالیت در محل اتصال عصب و عضله پستانداران مشاهده شده است [۴۰].

ممکن است رابطه بین β -TG و استیل‌کولین استراز β بر یک مکانیسم کوتاه مدت استوار باشد، مکانیسمی که به وسیله آن، برخی از اختصاصات عملکردی سیستم عصی-عضلانی با ظرفیت تنظیم می‌شود. گفتنی است در موش‌هایی که به طور ارادی در قفس گردان تمرین‌کرده

امر نشان می‌دهد که برنامه تمرینی مورد استفاده در این تحقیق، مؤثر بوده است.

در واقع، همین برنامه تمرینی منجر به سازگاری‌هایی شده که شامل افزایش محتوای β -TG در جسم سلولی و در اکسون موتونرون‌هایی که عضلات اندام تحتانی موش سفید را عصی می‌کنند، از جمله عضله نعلی نیز می‌شود [۱]. علاوه بر این قبلاً نشان داده شده [۲۷] که در پی همین برنامه تمرینی، تعداد گیرنده‌های استیل‌کولین (که سنتز آن‌ها تحت تأثیر β -TG است) در عضلات اندام تحتانی موش سفید، از جمله عضله نعلی افزایش می‌یابد. در پرتو همین یافته‌ها و با توجه به نقش احتمالی β -TG در این واکنش‌های سازگاری شدید شاید توقع طبیعی آن باشد که مقدار β -TG در محل اتصال عصب و عضله نیز بالا برود؛ حال آن‌که در تحقیق حاضر و در پی اجرای برنامه تمرینی در پیوندگاه‌های عصی-عضلانی عضله نعلی، شاهد کاهش مقدار β -TG هستیم.

مقدار β -TG پایانه‌های عصی تا حدودی نشانگر مقدار فعالیت محل اتصال عصب و عضله در خلال دوره زمانی قبل از نمونه برداری از عضله است. به عنوان مثال، تحریک الکتریکی یا غلظت بالای پتاسیم، موجب رهایش وابسته به کلسیم β -TG از پایانه‌های عصی می‌شود، به طوری که در چند دقیقه، پایانه‌های عصی از این ماده تخلیه کامل می‌شوند [۱۲ و ۱۷]. از سوی دیگر، فلج کردن ترمینال موجب تجمع نروپیتاید β -TG می‌شود [۲۸]. در این خصوص آثار فعالیت قبلی می‌تواند برای چند روز باقی بماند. به عنوان مثال، مقدار β -TG در عضله گراسیلیس موش سفید، در پی تمرین یک روزه با شدت کم به صورت دویدن روی تردمیل تا حدودی کاهش یافت و در پی دو روز تمرین، کاهش بیشتری را نشان داد. این‌که تمرین روزانه تا چه حد بر مقدار β -TG ترمینال‌ها اثر گذاشت می‌تواند بر نتایج تحقیق حاضر مؤثر باشد، اما این تأثیر در حد اقل خواهد بود؛ زیرا حیوان‌ها یک هفته پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی قربانی شدند. در واقع در تحقیق، قصد بر این بود که پیامدها و آثار تمرین حاد به حد اقل برسد. در تحقیق دیگری [۱] گزارش داده شده که همین برنامه تمرینی استقامتی موجب افزایش β -TG در جسم سلولی و همین طور افزایش در مقدار β -TG اکسون می‌شود. در آن تحقیق نیز حیوان‌ها یک هفته پس از

مقدار بهترین شاخص برای
برآورد اثر تمرینی بود و مقدار آن
نیز حاصل مجموعه فعالیت‌هایی بود
که حیوان در پنج روز قبل از
قربانی‌شدن انجام داده بود [۱۲].

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، آثار تمرین
استقامتی بر فیزیولوژی و مورفولوژی
پیوندگاه‌های عصبی-عضلانی عضله
گنداق‌قباض نعلی و عضله تنداق‌قباض
پلان‌تاریس در موش‌های ماده بالغ
مورد بررسی قرار گرفت. تمرین
استقامتی، مقدار نروپیتاید
را در محل‌های اتصال عصبی-عضلانی
تنظیم کاهشی کرد، ولی اندازه این
پیوندگاه‌ها را افزایش داد. کمیت
سازگاری‌ها در عضله نعلی بارزتر
بود. این یافته‌ها مؤید نتایج قبل
است که در آن‌ها پیشنهاد شده
فعالیت بدنی می‌تواند ساختار و
عملکرد پیوندگاه عصبی-عضلانی را
دستخوش تغییر کند.

منابع

- ۱. ...
- ۲. ...
- ۳. ...
- ۴. ...
- ۵. ...
- ۶. ...
- ۷. ...
- ۸. ...
- ۹. ...
- ۱۰. ...
- ۱۱. ...
- ۱۲. ...

۱۳. ...

۱۴. ...

۱۵. ...

۱۶. ...

۱۷. ...

۱۸. ...

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰
 ۱۳۴۰

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 23:06 IRDT on Friday July 20th 2018

دومامنامه علمي - پژوهشي دانشگور پژشكي / دانشگاه شاهده / دي ۸۶

○□◆□■□◆□□ ♪⊙◆✦□■✦
■ ♪♫■♫■□♫⊙◆♫⊕ □♫□
◆✦⊕♫⊕ □◆✦■♫⊕ ⊙□□■
♫□□◆◆♫ ⊙■⊕ ■♫◆□□○
◆✦♪◆⊙⊕ □⊕□⊕□◆✦♪ □⊕
⊕◆✦♪✦◆□ ✦■⊕◆♫♫⊕ □⊕
□◆◆◆✦■◆○ ◆□□✦■ □⊕
◆✦⊕ ⊙◆□⊕⊕ ⊙⊕ ⋊♫◆□□◆
♪✦⊕ ♫□■♫■♫■♫■♫■♫■

□□♫○⊕ ⋊♫♫ ■♫◆□□○◆◆
♪◆⊙⊕ ⊙◆■♫◆✦□■♫ ⋊■⊕
◆□○✦♪⊕⊕ ♫⊕⊕◆◆□♫⊕ ⊙■
⊕ ⊙⊕⊕□◆⊕◆✦□■◆ ◆□ ⊕⊕
□✦□◆◆ ◆□ ⊕⊕□✦□◆◆ ♫□□
○ □✦ ✦■♫□♫⊕⊕⊕□ □□
⊕♫♪□♫⊕⊕⊕ ■♫◆□□○◆◆
♪◆⊙⊕ ⊙⊕◆✦✦◆✦◆⊕⊕ ♫■
◆♫□■⊕⊕ ⊙⊕⊕ ⋊♫◆□□◆✦✦♫
■♫♫⊕ ♫⊕♫♫♫♫♫♫♫♫♫♫

♫⊕⊕⊕♫⊕⊕⊕⊕⊕♫⊕ ♫⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕ ♫□⊕♫♫⊕⊕⊕ ⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ♫⊕⊕⊕⊕⊕□□
♫✦♪⊕⊕⊕ □♫♫⊕◆⊕◆✦□□ □
♫ ⋊♫⊕ ⋊♫⊕⊕⊕ ✦■ ♫⊕⊕◆⊕⊕⊕
◆✦✦◆♫⊕⊕⊕ ○◆◆♫⊕♫⊕ ♫♫♫♫
♪◆ □♫♫ ♫⊕♫□♫♫♫♫⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ⋊♫
□□□□⊕⊕⊕⊕⊕⊕

♫⊕⊕⊕♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ♫⊕⊕⊕⊕
♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ♫⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ⊕⊕⊕⊕⊕⊕
■♫⊕ ✦■⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕ □♫♫♫⊕□□□ ■◆
○⊕♫□ ✦■ ♫■⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
□✦♪⊕⊕⊕ □♫♫⊕□■◆ □✦⊕⊕◆
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
□⊕⊕⊕⊕ ○◆◆♫⊕♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕

♫□⊕⊕⊕ ⋊◆✦♫♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕ ⋊*⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕

♫⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕
⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕⊕