

اثر یک دوره تمرین هوازی بر سطوح سرمی گرلین و لپتین در مردان میانسال

نویسندگان: امیرحسین حقیقی^{۱*}، هادی یاراحمدی^۲، آرزو ایلدرآبادی^۲ و
علیرضا رفیعی پور^۲

۱. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه حکیم
سبزواری، سبزوار، ایران

۲. کارشناس ارشد، فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه حکیم
سبزواری، سبزوار، ایران

* نویسنده مسئول: امیرحسین حقیقی
E-mail: ah.haghighi292@yahoo.com

چکیده

مقدمه: گرلین و لپتین دو هورمونی هستند که در تنظیم تعادل انرژی و چاقی نقش دارند.
هدف: هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر سطوح سرمی گرلین و لپتین در
مردان میانسال بود.

مواد و روش‌ها: ۲۰ مرد میانسال داوطلب شدند و به‌طور تصادفی به دو گروه تجربی (ده نفر) و کنترل
(ده نفر) تقسیم شدند. پروتکل تمرین هوازی به‌صورت سه جلسه در هفته به مدت ده هفته بود. هر جلسه
تمرین شامل دویدن نرم با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب و به مدت ده دقیقه بود. برای
پیروی از اصل اضافه بار، در هر جلسه نیم دقیقه به زمان دویدن افزوده می‌شد به طوری که در جلسه آخر،
زمان دویدن به ۲۵ دقیقه رسید. قبل و بعد از دوره تمرینی، خون‌گیری انجام شد. داده‌ها با استفاده از
آزمون t مستقل تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تفاوتی معنادار میان گروه کنترل و تجربی در میزان گرلین و لپتین سرمی
وجود ندارد ($P < 0.05$)؛ با این حال، انجام تمرین‌های هوازی باعث کاهش معنادار شاخص توده بدن، وزن
بدن، نسبت محیط کمر به لگن، درصد چربی بدن و افزایش معنادار وزن بدون چربی و حداکثر اکسیژن
مصرفی شد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت انجام ده هفته تمرین هوازی، اثری مفید بر سطوح سرمی گرلین و لپتین در
مردان میانسال ندارد؛ با این حال برای رسیدن به نتایج قطعی تر، انجام تحقیق‌هایی دیگر، ضروری است.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، گرلین، لپتین، تعادل انرژی، چاقی

دریافت: ۹۰/۱۰/۲۱

آخرین اصلاح‌ها: ۹۰/۱۲/۲

پذیرش: ۹۰/۱۲/۲

مقدمه

تنظیم وزن، فرایندی کنترل شده، بسیار پیچیده و دقیق است، وزن بدن به واسطه تعادل میان غذای دریافتی و انرژی مصرفی تنظیم می شود. تعادل انرژی از راه سیستمی پیچیده تنظیم می شود که شامل عوامل مرکزی و محیطی بوده، پپتیدهای موجود در معده، بافت چربی و مغز، نقشی مهم درباره آن برعهده دارند (۱) گرلین و لپتین، دو پپتید شناخته شده محیطی هستند که در تنظیم دریافت غذا و وزن بدن، وظیفه ای مهم را ایفا می کنند.

گرلین یک پپتید ۲۸ اسید آمینه ای است که نخستین بار در سال ۱۹۹۹، کوچی ما و همکاران، آن را به جهان پپتیدها معرفی کردند. گرلین به طور عمده از معده و از سلول های غده اکسینتیک ترشح شده، به جریان خون ریخته می شود؛ البته گرلین به مقادیر زیاد در روده کوچک، بیضه ها، هیپوفیز و بافت های متعدد دیگر نیز وجود دارد (۲). نشان داده شده است که گرلین به شرایط انرژی منفی حساس بوده، در تعادل کوتاه مدت و بلند مدت انرژی و نیز هموستاز انرژی نقشی قابل توجه بازی می کند؛ همچنین بیان ژن گرلین در معده به هنگام ناشتایی، افزایش و به هنگام سیری، کاهش می یابد؛ در واقع، سطوح پلاسمایی گرلین در شرایط تعادل مثبت انرژی، کاهش و در شرایط تعادل منفی انرژی، افزایش می یابد. گرلین از راه گردش خون بر مرکز سیری و گرسنگی در هیپوتالاموس اثر گذاشته، دریافت غذا و اکتساب وزن را تحریک می کند. گرلین مصرف غذا را افزایش داده، اشتها را زیاد می کند؛ بنابراین غلظت آن قبل از غذا زیاد و بعد از آن، کم می شود. گرلین نقشی کلیدی و مهم در تنظیم تعادل انرژی به عهده دارد (۳).

از طرف دیگر، لپتین، اصلی ترین پپتید ترشح شده از بافت چربی است که غلظت سرمی آن، پیام رسان مهم محیطی در تنظیم دریافت غذا و مصرف انرژی است.

لپتین، هورمون پروتئینی با وزن مولکولی ۱۶ کیلو دالتون است که به طور عمده توسط بافت چربی ساخته و ترشح می شود؛ این هورمون، تعادل و متابولیسم انرژی را تنظیم کرده، بدین وسیله باعث کنترل وزن بدن می شود (۴)؛ لپتین همچنین از طریق کاهش دریافت غذا و تحریک مصرف انرژی بر سیستم عصبی مرکزی به ویژه هیپوتالاموس تأثیر می گذارد. لپتین سبب افزایش اکسیداسیون چربی و کاهش ذخایر تری گلیسیرید در عضله اسکلتی می شود. مقدار ذخیره چربی بدن، میزان لپتین را تنظیم می کند و هرچه تعداد سلول های چربی فرد بیشتر باشد، میزان لپتین در خون او بیشتر است؛ با این حال، در شرایط وجود مقاومت به لپتین یا کاهش گیرنده های این هورمون، سطح لپتین گردش خون بیشتر از مقدار طبیعی آن می شود (۵)؛ همچنین سطوح لپتین سرم نسبتی مستقیم با شاخص توده بدن دارد و میزان بالای آن می تواند وزن بدن و توده چربی را افزایش دهد. بنابراین نه تنها باید به سطوح زیاد لپتین به عنوان پیامد بافت چربی اضافی نگریست، بلکه این شاخص، پیش بینی کننده و عامل خطری برای افزایش وزن محسوب می شود (۶).

تعادل انرژی می تواند از عواملی مختلف، مانند تمرین و فعالیت بدنی متأثر شود. ورزش یکی از عوامل مؤثر در معادله انرژی است (۷). تمرین با ایجاد تغییرهای متابولیک و از طریق برهم زدن شارژ انرژی سلول، تقاضای سلول را در جهت تأمین انرژی مورد نظر برای ادامه حیات افزایش می دهد؛ در واقع، تمرین های ورزشی، ممکن است موجب تعادل منفی انرژی و به دنبال آن، تغییر در سطح پلاسمایی گرلین و لپتین شوند؛ بنابراین یکی از علایق تحقیقی درباره آثار ورزش بر گرلین و لپتین می تواند به دلیل اثر آن بر تعادل انرژی باشد زیرا استرس ناشی از فعالیت بدنی می تواند تنظیم کننده ای بالقوه در ترشح گرلین و لپتین باشد؛ با این حال در

جوریمی و همکاران (۲۰۰۳)، نیز کاهش در میزان لپتین را بدون تغییر وزن بدن مشاهده کردند (۱۴ و ۱۵). به طور کلی به نظر می‌رسد با وجود شواهدی مبنی بر اینکه فعالیت‌های استقامتی، بخشی بسیار مهم از تمرین‌های ورزشی برای کاهش وزن هستند، اما اثر این تمرین‌ها بر پیتیدهای گرلین و لپتین که نقشی مهم در متابولیسم انرژی دارند به طور کامل بررسی نشده است و با توجه به ناهمسوایی یافته‌ها در زمینه اثر تمرین‌های ورزشی بر گرلین و لپتین هنوز نمی‌توان در این خصوص به روشنی سخن گفت؛ بنابراین بر پایه آنچه درباره گرلین، لپتین و تمرین در خصوص تعادل انرژی گفته شد و با توجه به نقش کلیدی و مهم این پیتیدها در چاقی، هموستاز و تنظیم وزن، ضروری است تا تأثیر تمرین به عنوان عاملی مهم و اثرگذار بر تعادل انرژی بررسی شود؛ بنابراین هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر سطوح سرمی گرلین و لپتین در مردان میانسال است.

مواد و روش‌ها

روش پژوهش، نیمه تجربی است. جامعه آماری شامل همه مردان میانسال شهر سبزوار با دامنه سنی ۳۵ تا ۵۰ سال بودند که به جز فعالیت‌های جسمانی روزمره، فعالیت ورزشی دیگری نداشتند. پس از درج اطلاعات در سطح شهر از افرادی که برای شرکت در دوره فعالیت ورزشی تمایل داشتند، ثبت نام به عمل آمد. پس از توضیح هدف پژوهش و روش کار، ۲۰ نفر به صورت داوطلبانه انتخاب شدند. معیارهای خروج از پژوهش، شامل مصرف سیگار، سابقه بیماری خاص، استفاده از دارو، شرکت در فعالیت منظم ورزشی در شش ماه گذشته و BMI کمتر از ۲۵ کیلوگرم بر مترمربع بود. از همه آزمودنی‌ها خواسته شد، پزشک معتمد به منظور تأیید سلامت عمومی، سلامت قلبی تنفسی، کنترل عدم مصرف دارو، نداشتن بیماری‌های خاص و عدم مشکل

بررسی‌های هورمونی و متابولیکی، هنوز پرسش‌هایی فراوان درباره ساختار تغییرهای سطح گرلین و لپتین به عنوان یکی از عوامل مؤثر بر تعادل انرژی، اثر انجام تمرین‌های ورزشی وجود دارد؛ به طوری که برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند کاهش وزن ناشی از تمرین و به دنبال آن، کاهش نمایه توده بدن (BMI) می‌تواند سطح پلاسمایی گرلین و لپتین را تغییر دهد (۸، ۹، ۱۰) در حالی که برخی تحقیق‌های دیگر (۱۱ و ۱۲) این موضوع را تأیید نکرده‌اند؛ بنابراین تأثیر کاهش وزن ناشی از تمرین‌های ورزشی بر سطح پلاسمایی گرلین و لپتین به بررسی‌هایی بیشتر نیازمند است و پژوهش‌ها یافته‌هایی ضد و نقیض را نشان داده‌اند، به گونه‌ای که عدم تغییر (۶ و ۱۳)، افزایش (۹) یا کاهش (۱۴ و ۱۵) در نتایج آنها دیده می‌شود؛ در همین خصوص، جونز و همکاران (۲۰۰۹)، عدم تغییر لپتین و گرلین سرم را بدون تغییر وزن بدن در اثر ۳۲ هفته تمرین هوازی مشاهده و مطرح کردند. کاهش وزن، ناشی از ورزش است که باعث تغییرهای گرلین و لپتین می‌شود (۱۳). مگر و همکاران (۲۰۰۸)، فوستر-شویرت و همکاران (۲۰۰۵) و لیدی و همکاران (۲۰۰۴) (۱۶) افزایش گرلین را همراه با کاهش وزن در نتیجه تمرین‌های هوازی مشاهده کردند؛ در مقابل، راوزین و همکاران (۲۰۰۱) هیچ‌گونه ارتباطی میان گرلین پلاسمای و تغییرهای وزن در نتیجه تمرین‌های هوازی مشاهده نکردند (۱۷)؛ همچنین کیشالی و همکاران (۲۰۱۱) عدم تغییر میزان لپتین سرمی را با وجود کاهش معنادار وزن و درصد چربی بدن بر اثر تمرین‌های هوازی مشاهده کردند (۱۸). در حالی که لوندرز و همکاران (۲۰۰۸) پس از یک دوره تمرین شش ماهه عدم تغییر میزان لپتین سرمی را بدون کاهش معنادار وزن مشاهده کردند (۶)؛ همچنین تانگ و همکاران (۲۰۰۰) کاهش در میزان لپتین را همراه با کاهش وزن بدن گزارش کردند (۵)؛ هیکی و همکاران (۱۹۹۷) و

حرکتی آنها را معاینه کنند. سه روز پیش از شروع فعالیت ورزشی، اندازه‌گیری‌های آنتروپومتریک و فیزیولوژیک آزمودنی‌ها شامل سن، قد، وزن، درصد چربی بدن، نسبت محیط کمر به لگن و حداکثر توان هوازی انجام شد؛ سپس آزمودنی‌ها به صورت تصادفی به دو گروه (۱) تمرین هوازی (۱۰ نفر) و (۲) کنترل (۱۰ نفر) تقسیم شدند. از همه آزمودنی‌ها برای شرکت در پژوهش، رضایت‌نامه کتبی گرفته شد.

تمرین‌های هوازی

گروه تجربی، تمرین‌های هوازی را در سالن سرپوشیده ورزشی و طی ساعات ۶ تا ۸ بعد از ظهر روزهای زوج، به تعداد سه جلسه در هفته و به مدت ده هفته انجام دادند. هر جلسه تمرین شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن با انواع حرکات کششی، نرمشی، راه رفتن و دویدن و سپس دویدن مداوم با آهنگ ثابت به مدت ۱۰ دقیقه و با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب بود. اصل اضافه بار به گونه‌ای طراحی شده بود که در هر جلسه به صورت پله‌ای نیم دقیقه به زمان دویدن افزوده می‌شد به طوری که در جلسه آخر، زمان دویدن به ۲۵ دقیقه رسید. در انتهای هر جلسه، عمل سرد کردن با اجرای دوی نرم به مدت ۵ دقیقه انجام می‌گرفت؛ همچنین در طول این مدت، گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکردند. ضربان قلب با ضربان‌سنج پلار کنترل می‌شد.

خون‌گیری و اندازه‌گیری شاخص‌های تحقیق

برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، عمل خون‌گیری از آزمودنی‌ها بعد از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی در دو مرحله (پیش از شروع تمرین‌ها و بعد از ده هفته تمرین) صورت گرفت؛ در مرحله اول از همه آزمودنی‌ها خواسته شد تا دو روز قبل از آزمون، فعالیت جسمانی سختی را انجام ندهند؛ سپس آزمودنی‌ها طی ساعت ۱۰-۸ صبح در آزمایشگاه حاضر شدند. از سیاهرگ دست

راست هر آزمودنی در وضعیت نشسته و به میزان ۵ میلی‌لیتر خون گرفته و سرم حاصل در فریزر و دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا در زمان لازم مورد استفاده قرار گیرد؛ پس از این مرحله، آزمودنی‌های گروه تجربی به مدت ده هفته تمرین هوازی انجام دادند؛ بعد از سپری شدن این مدت و گذشت ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، دوباره همه آزمودنی‌ها به آزمایشگاه دعوت شده، با حفظ شرایط مرحله اول از آنها خون‌گیری به عمل آمد. برای اندازه‌گیری گرلین از کیت شرکت بیوتکنولوژی کوسایبو ساخت کشور چین، با درجه حساسیت ۰/۱۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر و روش الایزا استفاده شد؛ همچنین برای اندازه‌گیری لپتین از کیت شرکت بیوشیمی دیاگنوستیک ساخت کشور کانادا و با درجه حساسیت ۰/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر و روش الایزا استفاده شد؛ برای اندازه‌گیری انسولین از کیت شرکت مرکودیا ساخت کشور سوئد و با درجه حساسیت ۱ میلی‌گرم واحد بین‌المللی در لیتر و روش الایزا استفاده شد و برای اندازه‌گیری گلوکز از روش رنگ‌سنجی آنزیماتیک کیت شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران و با درجه حساسیت ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر استفاده شد. برای اندازه‌گیری VO_{2max} از آزمون راه رفتن راکپورت (۱۹) و برای تعیین درصد چربی بدن، فرمول سه نقطه‌ای (سینه، شکم و ران) جکسون و پولاک به کار گرفته شد (۲۰)؛ همچنین برای ارزیابی رژیم غذایی آزمودنی‌ها از پرسش‌نامه ۲۴ ساعته رژیم غذایی، سه روز پیش از شروع دوره و سه روز پایانی دوره استفاده شد.

روش‌های آماری

آزمون کولموگراف-اسمیرنوف برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها، آمار توصیفی برای محاسبه شاخص‌های مرکزی و پراکندگی و آزمون t مستقل برای بررسی تغییرهای میان‌گروهی شاخص‌های تحقیق در وضعیت

بدن، دور کمر به لگن و درصد چربی بدن در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل، کاهش و شاخص‌های وزن بدون چربی بدن و VO_2max افزایش داشته‌است (جدول ۱).

آزمون t مستقل بر مقادیر پیش آزمون و تفاوت نمرات پس آزمون از پیش آزمون شاخص‌های گرلین، لپتین و انسولین نشان‌داد که تفاوتی معنی‌دار میان دو گروه کنترل و تجربی وجود ندارد؛ همچنین استفاده از این آزمون در خصوص شاخص گلوکز، تفاوتی معنی‌دار را در مقادیر پیش آزمون و تفاوت میانگین نمرات میان دو گروه نشان‌داد (جدول ۲ و تصاویر ۱ و ۲).

پایه و نیز تفاوت میانگین نمرات گروه‌ها، به‌کاررفتند. سطح معناداری آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد و تمام عملیات آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شدند.

یافته‌ها

استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف، توزیع طبیعی شاخص‌های تحقیق را در میان گروه‌ها نشان‌داد. استفاده از آزمون t مستقل بر مقادیر پیش آزمون شاخص‌های جدول ۱، نشان‌داد که میان دو گروه کنترل و تجربی تفاوتی معنی‌دار وجود ندارد؛ همچنین انجام آزمون t مستقل بر تفاوت نمرات پس آزمون از پیش آزمون، نشان‌داد که شاخص‌های وزن بدن، شاخص توده

جدول شماره ۱. نتایج آزمون t مستقل بر متغیرهای آنترپومتریکی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها

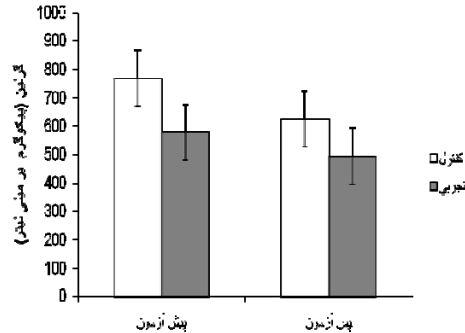
P	تفاوت نمرات	زمان اندازه‌گیری		گروه‌ها متغیرها	
		پس آزمون	پیش آزمون	کنترل	تجربی
0.018	-0.6 ± 3.9	93.2 ± 14.5	93.8 ± 14.4	کنترل	وزن (کیلوگرم)
	-4.9 ± 3.3	86.4 ± 10.7	91.3 ± 11.4	تجربی	
			0.673	P	
0.004	0.06 ± 1.1	31.4 ± 3.9	31.4 ± 3.7	کنترل	شاخص توده بدن (کیلوگرم متر مربع)
	-1.627 ± 1.04	29 ± 4.4	30.6 ± 4.2	تجربی	
			0.688	P	
0.019	0.01 ± 0.1	0.98 ± 0.05	0.98 ± 0.05	کنترل	نسبت محیط کمر به لگن
	-0.024 ± 0.02	0.95 ± 0.05	0.97 ± 0.04	تجربی	
			0.633	P	
0.001	0.45 ± 1.4	36.0 ± 4.8	35.5 ± 5.1	کنترل	درصد چربی
	-7.41 ± 2.3	29.7 ± 3.3	37.1 ± 2.6	تجربی	
			0.396	P	
0.001	-0.84 ± 2.7	59.2 ± 7.2	60.1 ± 7.6	کنترل	وزن بدون چربی (کیلوگرم)
	3.2 ± 2.1	60.4 ± 4.8	57.1 ± 4.7	تجربی	
			0.308	P	
0.012	0.004 ± 2.1	39.3 ± 4.3	39.3 ± 3.8	کنترل	حداکثر توان هوازی (میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن در دقیقه)
	2.5 ± 1.8	41.2 ± 5.2	38.7 ± 5.6	تجربی	
			0.789	P	

اعداد به صورت میانگین و انحراف استاندارد بیان شده‌اند.

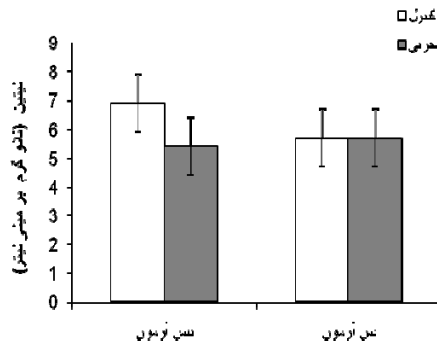
جدول شماره ۲. نتایج آزمون t مستقل بر شاخص‌های بیوشیمیایی آزمودنی‌ها

P	تفاوت نمرات	زمان اندازه‌گیری		گروه‌ها متغیرها	
		پس آزمون	پیش آزمون	کنترل	تجربی
۰/۶۱۰	-۱۴۴±۳۰۴	۶۲۴±۲۶۳	۷۶۸±۳۲۴	کنترل	گرلین (پیکوگرم بر میلی لیتر)
	-۸۳±۲۱۰	۴۹۴±۳۷۸	۵۷۷±۳۷۴	تجربی	
			۰/۲۳۸	P	
۰/۱۴۳	-۱/۲۶±۱/۲	۵/۷±۳/۰	۶/۹±۳/۶	کنترل	لپتین (نانو گرم بر میلی لیتر)
	۰/۳۲±۳/۰	۵/۷±۲/۶	۵/۴±۳/۴	تجربی	
			۰/۳۶۳	P	
۰/۴۹۱	-۱/۷۴±۱/۲	۴/۸±۲/۱	۶/۵±۲/۸	کنترل	انسولین (میلی واحد بین المللی بر لیتر)
	-۰/۸۴±۲/۴	۳/۷±۱/۱	۴/۵±۲/۲	تجربی	
			۰/۱۰۶	P	
۰/۰۲۳	-۵/۴±۱۱/۹	۷۴/۵±۸/۱	۷۹/۹±۶/۱	کنترل	گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)
	-۱۶/۴±۷/۲	۷۱/۲±۲/۱	۸۷/۶±۸/۱	تجربی	
			۰/۰۲۸	P	
۰/۲۸۹	۱۶±۱۶۲	۱۴۹۸±۲۲۳	۱۴۸۱±۲۲۲	کنترل	کالری دریافتی
	۱۰۹±۱۷۵	۱۵۰۹±۲۰۰	۱۴۰۰±۱۵۴	تجربی	
			۰/۴۱۱	P	

اعداد به صورت میانگین و انحراف استاندارد بیان شده‌اند.



تصویر ۱. تغییرهای گرلین سرم در دو گروه کنترل و تجربی



تصویر ۲- تغییرهای لپتین سرم در دو گروه کنترل و تجربی

بحث

یافته اصلی پژوهش حاضر، بیانگر این نکته بود که انجام ده هفته تمرین هوازی بر سطوح سرمی گرلین و لپتین، اثری معنادار ندارد، اما کاهش معنادار شاخص توده بدن، وزن بدن، نسبت محیط کمر به لگن، درصد چربی بدن و افزایش معنادار وزن بدون چربی و VO_{2max} را سبب می‌شود؛ این نتیجه با یافته‌های جونز و همکاران (۲۰۰۹) همسو بوده، با نتایج مگر و همکاران (۲۰۰۸)، فوستر-شویبرت و همکاران (۲۰۰۵)، لیدی و همکاران (۲۰۰۴)، و تانگ و همکاران (۲۰۰۰) ناهمسو بود. درخصوص با گرلین، مگر و همکاران (۲۰۰۸) اثر ۳۳ هفته تمرین هوازی (دویدن با شدت ۵۵ تا ۶۵ درصد توان هوازی پیشینه به مدت ۳۰ دقیقه) و مقاومتی (تمرین مقاومتی با شدت ۶۰ درصد یک تکرار پیشینه) را بر گرلین سرم مردان و زنان دارای اضافه وزن بررسی و افزایش سطح گرلین پلازما را مشاهده کردند، آنها دلیل افزایش گرلین پلازما را کاهش وزن در مدت تمرین مطرح کردند به طوری که در آزمودنی‌هایی که بیش از ۵ درصد کاهش وزن داشتند، تمایل به افزایش گرلین پلازما بیشتر از آزمودنی‌هایی بود که کمتر از ۵ درصد کاهش وزن داشتند (۸). فوستر-شویبرت و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که بر اثر انجام دوازده ماه تمرین دویدن روی نوارگردان با شدت ۶۰ تا ۷۵ درصد، حداکثر ضربان قلب، سطح گرلین خون در زنان چاق یائسه افزایش می‌یابد و دلیل این افزایش را کاهش وزن دانستند به طوری که در آزمودنی‌هایی که وزن آنها بدون تغییر مانده بود، سطح گرلین پلازما نیز تغییری نداشت؛ این محققان بیان کردند که تمرین هوازی باعث تعادل منفی انرژی شده و این عامل به افزایش گرلین سرم انجامیده است؛ آنها همچنین بیان کردند که مصرف مواد مغذی، بیان گرلین سرم را سرکوب می‌کند (۹). در تحقیق حاضر، کاهش وزن بدون

تغییر معنی‌دار در کالری دریافتی، در هر دو گروه رخ داد که می‌تواند یکی از دلایل عدم تغییر گرلین سرم باشد؛ بررسی‌های لیدی و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان داد که انجام سه ماه تمرین هوازی با شدت ۷۰ تا ۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب در زنان جوان با وزن طبیعی، باعث افزایش گرلین خون می‌شود و دلیل این افزایش را کاهش وزن مطرح کردند به طوری که در زنان با وزن طبیعی که از راه ترکیب فعالیت ورزشی و رژیم غذایی بیش از ۳ کیلوگرم کاهش وزن داشتند، افزایش معناداری در سطح گرلین پلازما مشاهده شد و در آزمودنی‌هایی که کاهش وزن نداشتند، سطح گرلین ثابت باقی ماند (۱۶)، از تحقیق‌های بالا چنین برمی‌آید که گرلین به تغییرهای وزن حساس بوده، افزایش آن، رفتاری جبرانی در پاسخ به کاهش وزن است؛ به عبارت دیگر، افزایش گرلین ممکن است به عنوان سازوکاری جبرانی برای بازگرداندن وزن بدن به یک نقطه تنظیم شده عمل کند (۲۱). در مجموع، تفاوت تحقیق حاضر با تحقیق‌های بالا می‌تواند به دلیل نوع آزمودنی‌ها، پروتکل‌های متفاوت تمرینی، شدت و مدت کل برنامه‌های تمرینی باشد؛ با این حال، برای رسیدن به نتایج دقیق‌تر، انجام تحقیق‌هایی دیگر مشابه با تحقیق‌های پیشین و تحت شرایط کنترل شده ضروری است.

در مقابل و همسو با نتیجه تحقیق حاضر، جونز و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که ۳۲ هفته تمرین هوازی با شدت ۶۵ تا ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، تأثیری معنادار بر میزان گرلین سرم در نوجوانان دارای اضافه وزن ندارد. آنها بیان کردند که ورزش به طور مستقیم، باعث ترشح گرلین نمی‌شود و کاهش وزن ناشی از ورزش است که سبب افزایش گرلین می‌شود (۱۳)؛ البته نقش کاهش وزن بر افزایش گرلین پلازما در بعضی مطالعات تأیید شده (۹ و ۱۶) اما در برخی دیگر (۱۷ و ۲۲) مورد تأیید قرار نگرفته است. در پژوهش

ایجاد نمی‌کند؛ این نتیجه با یافته‌های کیشالی و همکاران (۲۰۱۱) (۱۸)، لوندرز و همکاران (۲۰۰۸) (۶)، جونز و همکاران (۲۰۰۹) (۱۳) و تانگ و همکاران (۲۰۰۰) (۵) همسویی نداشت، ولی با یافته‌های کورت و همکاران (۱۹۹۶) (۱۰)، اکاساکی و همکاران (۲۰۰۴) (۲۵) و هیکی و همکاران (۱۹۹۶) (۱۵) ناهمسو بود. کیشالی و همکاران، نشان دادند که هشت هفته تمرین دویدن با شدت ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر ضربان قلب تغییر معناداری در لپتین سرمی مردان جوان غیرفعال ایجاد نمی‌کند؛ آنها علاوه بر کافی نبودن شدت و مدت تمرین برای اثرگذاری بر میزان لپتین، وجود عوامل موثر دیگری مانند تغییر در تولید یا پاک شدن لپتین، نسبت لپتین آزاد و لپتین متصل به پروتئین‌های پلاسما و تفاوت‌های فردی را مؤثر بر تنظیم لپتین سرمی بیان کردند (۱۸). لوندرز و همکاران (۲۰۰۸) نیز پس از شش ماه تمرین هوازی، تغییری معنادار در غلظت لپتین سرم مردان و زنان مشاهده نکردند (۶). در تحقیق جونز و همکاران (۲۰۰۳) هفت هفته تمرین هوازی با شدت ۶۵ تا ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تانگ و همکاران (۲۰۰۰) هفت هفته دویدن روی نوارگردان با شدت کمتر از ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه (میزان لپتین سرم، تغییری معنادار را نشان نداد (۵ و ۱۳) و آنها اعلام کردند که ترشح لپتین با تغییر در وزن بدن، شاخص توده بدن، چربی بدن و محیط دور کمر مرتبط است؛ این پژوهشگران بیان کردند، تمرین هوازی بدون این که کاهشی در وزن بدن به وجود آورد، نمی‌تواند سبب تغییر در سطوح لپتین شود. در تحقیق حاضر با توجه به مشاهده کاهش ۴/۹ کیلوگرمی وزن بدن در گروه تجربی، تغییری در میزان لپتین سرم مشاهده نشد؛ در مقابل، کورت و همکاران (۱۹۹۶)، کاهش غلظت لپتین را پس از یازده ماه تمرین دویدن آهسته در زنان مسن مشاهده کردند؛ آنها کاهش توده چربی بدن را که با تمرین ایجاد می‌شود، عامل اصلی

حاضر پس از ده هفته تمرین هوازی، کاهش وزن مشاهده شد اما گرلین سرم تغییر معناداری نداشت. این احتمال وجود دارد که کاهش وزن ایجاد شده در مطالعه حاضر به اندازه‌ای نبوده است که ایجاد تغییر در گرلین سرم را سبب شود؛ از سوی دیگر، این نکته نیز قابل توجه است که در پژوهش ما سطح گرلین غیرآسیل‌دار اندازه‌گیری شد. گرلین بی‌آسیل در انسان، فعالیت هیپوفیزی و پانکراسی گرلین آسیل‌دار را ندارد. گرلین آسیل‌دار، گیرنده ویژه هورمون رشد واقع در هیپوفیز و نورون‌های محتوی هورمون رهاکننده هورمون رشد را فعال کرده، ترشح هورمون رشد را تحریک می‌کند. این احتمال وجود دارد که سطح گرلین آسیل‌دار تغییر کرده باشد اما این شاخص را اندازه‌گیری نکردیم و پیشنهاد می‌شود تا تحقیقات آینده، مجموعه‌ای از شاخص‌ها را برای بررسی اثر تمرین اندازه‌گیری کنند.

همچنین، بررسی‌ها نشان می‌دهند که سطح گرلین پلاسما می‌تواند به وسیله هورمون‌هایی از جمله انسولین و متابولیت‌هایی مانند گلوکز تنظیم شود؛ در واقع مشاهده شده است که کاهش انسولین در حالت ناشتا سبب افزایش ترشح گرلین می‌شود و بلافاصله بعد از غذا خوردن نیز، انسولین ترشح شده موجب سرکوب ترشح گرلین می‌شود (۲۳)؛ بوروگلیو و همکاران (۲۰۰۳) نیز بیان کردند که پیام‌های سیری، مانند گلوکز و انسولین موجب کاهش و مهار گرلین می‌شوند؛ بنابراین، این امکان وجود دارد که کاهش این پیام‌ها بر اثر تمرین طولانی مدت و ناشتایی، اثر مهاری آنها را برداشته، زمینه را برای افزایش سطح گرلین فراهم‌سازد (۲۴). در پژوهش حاضر، انسولین سرم تغییری نداشت و این موضوع می‌تواند یکی دیگر از دلایل عدم تغییر گرلین سرم باشد.

تحقیق حاضر، همچنین نشان داد که انجام ده هفته تمرین هوازی، تغییری معنادار را در میزان لپتین سرم

مرتبط با لپتین گزارش کردند (۱۰)؛ همچنین، اکاساکی و همکاران (۲۰۰۴) و هایاسه و همکاران (۲۰۰۲) دلیل کاهش لپتین را کاهش توده چربی بدن و BMI دانستند و به این نتیجه رسیدند که تمرین بدنی، بدون ایجاد کاهش توده چربی بدن، لپتین را کاهش نمی‌دهد (۲۵ و ۲۶). در پژوهش حاضر با توجه به کاهش ۷ درصدی در توده چربی بدن، غلظت لپتین سرم تغییری معنادار نداشت. امکان دارد کاهش توده چربی در تحقیق حاضر به اندازه‌ای نبوده باشد که بر لپتین سرم تأثیر بگذارد یا به-احتمال، تفاوتی آشکار در پروتکل تمرین‌ها و نوع آزمودنی‌ها، باعث این اختلاف در مطالعات مختلف شده باشد؛ از طرف دیگر، جورومی و همکاران (۲۰۰۳) و میکی و همکاران (۱۹۹۶) کاهش لپتین را در مردان و زنان بدون تغییر معنادار در وزن و توده چربی بدن نشان دادند. آنها بیان کردند که تمرین بر سطوح لپتین گردش خون در زنان نسبت به مردان اثر بیشتری دارد. از آنجاکه وزن بدن، تغییری نکرد، محققان ذکر کردند کم-شدن سطوح لپتین در زنان، مستقل از کاهش وزن بدن ایجاد می‌شود (۱۴ و ۱۵)؛ تفاوت این تحقیق با تحقیق ما در نوع آزمودنی و شدت تمرین (۸۵ درصد حداکثر ضربان قلب) است. در تحقیق حاضر، آزمودنی‌ها، مرد و شدت تمرین ۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب بود؛ شاید اگر تمرین با شدت بالاتر انجام می‌شد، احتمال دیدن نتایجی دیگر وجود داشت. نولاند و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند در شناگران زن دانشگاهی در طول یک فصل رقابت، به‌رغم کاهش توده چربی، هیچ تغییری در غلظت لپتین ایجاد نمی‌شود. آنها وضعیت بیش‌تمرینی و افزایش کورتیزول را دلیل عدم کاهش لپتین سرمی مطرح کردند (۱۱). آرا و همکاران (۲۰۰۶)، پس از شش هفته تمرین‌های قدرتی روی مردان سالم، با وجود کاهش توده چربی، عدم تغییر غلظت لپتین را مشاهده کردند و آن را به بالا بودن غلظت لپتین سرمی در مقایسه

با توده چربی آزمودنی‌ها پیش از آغاز تمرین‌ها نسبت دادند؛ آنها همچنین مطرح کردند که همبستگی لپتین و درصد چربی بدن در محدوده خاصی صدق می‌کند و بالا بودن غلظت لپتین سرمی در مقایسه با توده چربی آزمودنی‌ها دلیلی برای عدم کاهش لپتین است (۱۲)؛ از دلایل دیگر عدم کاهش لپتین در تحقیق حاضر، می‌توان به تعداد کم آزمودنی‌ها و وجود تفاوت‌های درون گروهی زیاد در میزان لپتین سرمی در آنها اشاره کرد. به-طوری‌که میزان لپتین در دامنه $1/20 \text{ ng/ml}$ تا $14/50 \text{ ng/ml}$ قرار داشت و این موضوع می‌تواند دلیلی بر توان آماری پایین یا وجود عواملی دیگر در تنظیم میزان لپتین سرمی در افراد چاق باشد؛ به‌علاوه، با اندازه‌گیری کالری دریافتی مشخص شد که به‌رغم عدم تفاوت معنادار میان گروه‌ها، گروه تجربی در برنامه غذایی پایان دوره، افزایش ۱۰۹ کیلوکالری را در انرژی دریافتی خود داشته‌اند. شاید بتوان این فراهمی انرژی را یکی دیگر از دلایل عدم تغییر لپتین دانست.

عوامل هورمونی نیز، نقشی مهم در تنظیم میزان لپتین ایفای می‌کنند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بعد از افزایش میزان انسولین در پاسخ به غذا خوردن، تولید لپتین افزایش می‌یابد و به دنبال کاسته شدن انسولین در حالت ناشتا، لپتین نیز کم می‌شود. ورود وابسته به انسولین گلوکز به داخل سلول‌های چربی می‌تواند ساختار احتمالی چگونگی تحریک ترشح لپتین توسط انسولین باشد. انسولین موجب انتقال گلوکز به داخل سلول‌های چربی از طریق پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز GLUT4 می‌شود؛ سپس گلوکز به‌عنوان سیگنال داخل سلولی عمل کرده، تحریک ترشح لپتین از سلول‌های چربی را سبب می‌شود (۲۷). جورومی و همکاران (۲۰۰۶) عدم تغییر غلظت لپتین سرمی را پس از ۲۴ هفته تمرین هوازی با شدت بالا و پایین در ۱۱ مرد قایقران نخبه مشاهده کردند و دلیل آن را به عدم تغییر انسولین نسبت دادند (۲۷).

بدن، وزن بدن، نسبت محیط کمر به لگن، درصد چربی بدن و افزایش معنادار وزن بدون چربی و VO_2max می‌شود. مدت و شدت برنامه تمرین می‌تواند در تغییرهای سطح گرلین و لپتین به دنبال تمرین، تأثیرگذار باشد؛ بنابراین برای دستیابی به نتایج قطعی‌تر به تحقیق‌هایی بیشتر نیاز است.

فرنج و کاستیگیون (۲۰۰۲) بیان کردند که تمرین‌های استقامتی شنا به مدت دوازده هفته باعث کاهش لپتین و کاهش هم‌زمان در میزان انسولین می‌شود (۲۸). مطالعات نشان‌دهنده‌اند، سه عامل مقاومت به انسولین، وزن بدن و تعادل منفی انرژی در تنظیم میزان لپتین با همدیگر ارتباطی متقابل دارند؛ ارتباطی نزدیک میان میزان لپتین پلاسما با شاخص توده بدن و غلظت انسولین نیز وجود دارد. مشخص شده‌است که با مهار فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز که آنزیمی مهم در سیگنال-دهی با انسولین است، توانایی لپتین در توزیع مجدد اسید چرب به مسیر اکسایش و دوری از مسیر ذخیره-شدن چربی، تا حد زیادی از بین می‌رود (۲۹). در مطالعه حاضر، تغییری معنادار در میزان انسولین سرم مشاهده نشد که شاید یکی دیگر از دلایل احتمالی عدم تغییر لپتین باشد؛ ازسوی دیگر، بعضی تحقیق‌ها نشان‌دهنده‌اند زمانی که سطح گلوکز خون بالا می‌رود میزان لپتین پلاسما کاهش می‌یابد (۳۰). شایان ذکر است که تغییر در سطوح لپتین به لحاظ توانایی آن در کنترل برون‌ده گلوکز کبدی و نیز تأثیر مقاومت به لپتین در مقاومت به انسولین است. در این پژوهش گلوکز سرم کاهش یافت اما تأثیری بر انسولین و لپتین سرم نداشت. این احتمال وجود دارد که در پژوهش حاضر، تمرین استقامتی سبب برهم‌خوردن تعادل انرژی و کاهش لپتین به‌طور حاد شده‌باشد، ولی در اثر افزایش اشتهای ناشی از آن و نداشتن رژیم غذایی مناسب، سطوح لپتین به حد پایه بازگشته‌است؛ در مجموع پیشنهاد می‌شود برای رسیدن به نتایج قطعی‌تر، تحقیق‌هایی دیگر انجام شوند.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت که ده هفته تمرین هوازی بر سطوح سرمی گرلین و لپتین در مردان میانسال اثری معنادار ندارد؛ اما باعث کاهش معنادار شاخص توده

منابع

1. Huda MS, Durham BH, Wong SP, Deepak D, Kerrigan D, McCulloch P. Plasma obestatin levels are lower in obese and post-gastrectomy subjects, but do not change in response to a meal. *International Journal of Obesity* 2008; 32: 129-135.
2. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
3. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev* 2007; 8: 21-34.
4. Weigle S, Cummings E, Newby D, Breen A, Frayo S, Matthys C, Callahan S, Purnell, Q. Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1577-1586.
5. Thong F, Hudson R, Ross R, Janssen I, Graham T. Plasma leptin in moderately obese men: independent effects of weight loss and aerobic exercise. *AJP- Endo* 2000; 279: 307-313.
6. Lowndes J, Zoeller F, Caplan JD, Kyriazis GA, Moynan M, Seip RI, et al. Leptin responses to long-term cardiorespiratory exercise training without concomitant weight loss: a prospective study. *Journal of sports medicine and physical fitness* 2008; 48: 391-397.
7. Martins C, Morgan LM, Bloom SR, Robertson MD. Effects of exercise on gut peptides energy intake and appetite. *Journal of Endocrinology* 2007; 193: 251-258.
8. Mager U, Kolehmainen M, Mello V, Schwab U, Laaksonen D, Rauramaa R, et al. Expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells and plasma ghrelin concentrations in patients with metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 499-510.
9. Foster-Schubert KE, Tiernan AM, Frayo RS, Schwartz RS, Rajan KB, Yasui Y, et al. Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; 90: 820-825.
10. Kohrt WM, Landt M, Birge SJ. Serum leptin levels are reduced in response to exercise training, but not hormone replacement therapy, in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3980-5.
11. Noland RC, Baker JT, Boudreau SR, Kobe RW, Tanner CJ, Hickner RC, et al. Effect of intense training on plasma leptin in male and female swimmers. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2001; 33: 227-231. PMID: 11224810
12. Ara I, Perez-Gomez J, Vicente-Rodriguez G, Chavarren J, Dorado C, Calbet JAL. Serum free testosterone, leptin and soluble leptin receptor changes in a 6-week strength-training programme. *British Journal of Nutrition* 2006; 96: 1053-1059
13. Jones T, Basilio JL, Brophy PM, McCammon MR, Hickner RC. Long-term exercise training in overweight adolescents improves plasma peptide YY and resistin. *Obesity* 2009; 17: 1189-1195.
14. Jurimae J, Maestu J, Jurimae T. Leptin as a marker of training stress in highly trained male rowers? *Eur J Appl Physiol* 2003; 90:533-8.
15. Hickey M, Considine V, Israel G, Mahar T, Cammon M, Tyndall G, et al. Leptin is related to body fat content in male distance runners. *AJP - Endo* 1996; 271: 938-940.
16. Leidy HJ, Gardner JK, Frye BR, Snook ML, Schuchert MK, Richard EL, et al. Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal-weight young women. *The journal of clinical endocrinology & metabolism* 2004; 89: 2659-2664.
17. Ravussin E, Tschop M, Morales S, Bouchard C, Heiman M. Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001; 86: 4547.
18. Kishali NF. Serum leptin level in healthy sedentary young men after a short-term exercise. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011; 5(4): 522-526.
19. Mackenzie B.101 Performance evaluation tests .2005; 33 - 34.
20. Williams M. Nutrition for health, fitness and sport. MC crow Hill Sixth Edition 2002; 466-467.
21. De Souza M, Leidy H, O'Donnell E, Lasley B, Williams N. Fasting ghrelin levels in physically active women: relationship with menstrual disturbances and metabolic hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004; 89: 3536-3542.
22. Morpurgo PS, Resnik M, Agosti F, Coppiello V, Sartorio A, Spada A. Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 723-7. PMID: 14669825
23. Saad M, Bernaba B, Hwu C, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *Endocrinol Metab* 2002; 87: 3997-4000.
24. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodam F, Destefanis S, et al. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003; 88: 1537-1542.
25. Okazaki T, Himeno E, Nanri H, Ogata H, Ikeda M. Effects of mild aerobic exercise and a mild hypocaloric diet on plasma leptin in sedentary women. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 1999; 26: 415-420.
26. Hayase H, Nomura S, Abe T, Izawa T. Relation between Fat Distributions and Several Plasma Adipocytokines after Exercise Training in Premenopausal and Postmenopausal Women. *PHYSIOLOGICAL ANTHROPOLOGY* 2002; 21: 105-113.
27. Jurimae J, Jurimae T. Plasma leptin in female rowers: relationship with body composition and performance parameters. *Med Dello Sport* 2006; 56:293-9.

28. French S, Castiglione K. Recent advances in the physiology of eating. *Proc Soc* 2002; 61: 489-496.
29. Dyck DJ. Leptin sensitivity in skeletal muscle is modulated by diet and exercise. *Exercise & Sport Sciences Reviews*: 2005; 33: 189-194.
30. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism* 1996; 81: 3419- 3423.

Daneshvar

Medicine

The effect of aerobic training on serum levels of ghrelin and leptin in middle-aged men

Amir Hossein Haghghi*, Hadi Yarahmadi, Arezu IldarAbadi, Alireza Rafieepour

Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Sabzevar Tarbiat Moallem University, Sabzevar, Iran.

E-mail: ah.haghghi292@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Ghrelin and leptin are two hormones involved in the regulation of energy balance and obesity. The objective of this study was to investigate the effect of a course of aerobic training on serum levels of ghrelin and leptin in the middle-aged men. Materials and

Materials and Methods: Twenty middle-aged volunteered males were randomly divided into experimental (n=10) and control (n=10) groups. Aerobic training protocol consisted of 3 sessions per week for 10 weeks. Each training session was a slow running trial with intensity of 65 to 75 percent of maximal heart rate for a period of 10 minutes. To follow the principle of overload, half-a-minute was added to each session, so that, at the last session the running time reached to 25 minutes. Before and after the training period, blood sampling was performed. Data were analyzed using independent t-test.

Results: There was no significant difference in serum levels of ghrelin and leptin between control and experimental groups ($p < 0.05$). However, aerobic training significantly reduced body mass index, body weight, waist to hip ratio, and body fat percent and significantly increased the lean body weight and maximum oxygen uptake.

Conclusion: It can be deduced that 10-week aerobic training has no beneficial effect on serum levels of ghrelin and leptin in the middle-aged men. However, to achieve more conclusive results, further investigation is warranted.

Key words: Aerobic training, Ghrelin, Leptin, Energy balance, Obesity.

Received: 11/1/2012

Last revised: 20/2/2012

Accepted: 21/2/2012