Journal of Gerontology (joge)
Vol 2, No 3, Winter 2018
DOI: 10.29252/joge.2.3.64

Comparison of the effect of dark chocolate extract supplementation with eight weeks resistance training on plasma Follistatin level in older adults

*Mafi F[1], Gaeini A[2], Kordi M[3], Biglari S[1], Sarabi S[4], Honarmand nasab Y[4]

1- M.A. Student, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran **(Correspondence Author)**
E-mail: farnoosh.mafi@ut.ac.ir
2- Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Associate Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
4- PhD Student, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Exercise training and nutrition are non-pharmacological strategies which can reduce the sarcopenia-induced muscle atrophy in the older adults. Investigating the skeletal muscle mass atrophy is achievable by measuring the amount of plasma follistatin, as one of the key markers of determining lean body mass. Therefore, the aim of this study was to compare the effect of dark chocolate extract supplementation with eight weeks resistance training on plasma Follistatin level in older adults.

Method: In this semi-experimental study, 36 elderly adults (19 males, 17 females), mean age 67.21±4.19 years, randomly divided to four groups: training (EX), supplement (S), training + supplement (EX+S), and control (C). Subjects of the training groups underwent a resistance training program including eight movements (intensity: 60-80% 1RM), three sessions per week for eight weeks. Subjects of supplements groups consumed capsules containing 500mg of dark chocolate extract –contain epicatechin- every day. Follistatin levels were measured before and after eight weeks intervention. The data were analyzed with ANOVA and LSD post hoc tests with SPSS software (version 22).

Results: Follistatin values increased significantly in EX (P=0.01), S (P=0.02) and EX+S (P=0.001) groups compared to C group after the intervention. The percentage of the changes of follistatin values were significantly higher in EX+S group (63.15%) compared to EX (43.48) and S (29.05%) groups. Moreover, chest press and leg press maximal strength increased in EX (P=0.03) and EX+S (P=0.01) groups in comparison with C group (P≤0.05).

Conclusion: Consequently, considering the increasing effect of resistance training and dark chocolate extract supplementation on Follistatin levels in the elderly, it seems that resistance training with dark chocolate extract supplementation is a suitable strategy to reduce the effects of sarcopenia in the older adults.

Key words: Sarcopenia, Epicatechin, Follistatin.
Received: 20/12/2017 Accepted: 18/2/2018

Access this article online

Website: www.joge.ir

DOI: 10.29252/joge.2.3.64

مقایسهٔ تأثیر مصرف مکمّل عصارهٔ شکلات تلخ با هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان پلاسمایی فولیستاتین در سالمندان

*فرنوش مافی[۱]، عباسعلی گائینی[۲]، محمدرضا کردی[۳]، سهیل بیگلری[۱]، سامسون سرابی[۴]، یاسمن هنرمندنسب[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران **(نویسنده مسئول)**
پست الکترونیکی: farnoosh.mafi@ut.ac.ir
۲- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۴- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

نشریه سالمندشناسی دوره ۲ شماره ۳ زمستان۱۳۹۶، ۷۲-۶۴

چکیده

مقدمه: تمرین ورزشی و تغذیه ازجمله راهبردهای غیر دارویی هستند که می توانند کاهش تودهٔ عضلانی (آتروفی) ناشی از سارکوپنیا را در سالمندان کاهش دهند. بررسی میزان آتروفی تودهٔ عضلهٔ اسکلتی با استفاده از سنجش میزان پلاسمایی فولیستاتین به‌عنوان یکی از شاخص های مهم تعیین تودهٔ خالص بدن- محقق می شود؛ بنابراین، هدف از این پژوهش، مقایسه تأثیر مصرف مکمّل عصارهٔ شکلات تلخ با هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان پلاسمایی فولیستاتین در سالمندان بود.

روش: در این پژوهش نیمه تجربی، ۳۶ سالمند (۱۹ مرد و ۱۷ زن) با میانگین سنی ۴/۱۹±۶۷/۲۱ سال، تصادفی به چهار گروه تمرین، مکمل، تمرین + مکمل و کنترل تقسیم شدند. آزمودنی‌های گروه های تمرین در یک برنامهٔ تمرینی مقاومتی شامل هشت حرکت با شدت ۶۰ تا ۸۰ درصد 1RM، سه جلسه در هفته، به مدت هشت هفته شرکت کردند. آزمودنی‌های گروه‌های مکمل کپسول‌های حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم عصارهٔ شکلات تلخ حاوی اپی کاتچین را روزانه مصرف کردند. سطوح فولیستاتین پلاسما پیش و پس از هشت هفته مداخله اندازه گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ ارزیابی شد.

یافته ها: پس از مداخله، مقادیر فولیستاتین در گروه های تمرین (P=۰/۰۱)، مکمل (P=۰/۰۲) و تمرین+مکمل (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری افزایش‌یافته بود. درصد تغییرات مقادیر فولیستاتین در گروه مکمل + تمرین (۶۳/۱۵٪) در مقایسه با گروه تمرین (۴۳/۴۸٪) و گروه مکمل (۲۹/۰۵٪) به‌صورت معناداری بیشتر بود. همچنین، قدرت حداکثر پرس سینه و پرس پا تنها در گروههای تمرین (P=۰/۰۳) و تمرین + مکمل (P=۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری افزایش‌یافته بود.

نتیجه‌گیری: درنتیجه، با توجّه به اثر افزایشی تمرین مقاومتی و مکمّل عصارهٔ شکلات تلخ بر مقادیر فولیستاتین در سالمندان، به نظر می رسد، اجرای تمرین مقاومتی به همراه مصرف عصارهٔ شکلات تلخ یک راهبرد مناسب برای کاهش آثار سارکوپنیا در سالمندان باشد.

کلیدواژه‌ها: سارکوپنیا، اپی‌کاتچین، فولیستاتین.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

مقدمه

با افزایش سن به دلیل بروز سارکوپنیا، توده، قدرت و توان عضلانی کاهش می یابد (۱). کاهش توده و قدرت عضلانی در سالمندان، این افراد را با مشکلات جدی ازجمله ناتوانی در اجرای کارهای روزمره، کاهش کیفیت زندگی و حتی افزایش احتمال خطر مرگ همراه می کند (۲). شدت و سرعت گسترش سارکوپنیا تحت تأثیر عوامل مختلفی ازجمله ژنتیک، تمرین مقاومتی و تغذیه است (۱، ۲). مکانیسم های فیزیولوژیکی زیادی در بروز سارکوپنیا درگیرند، اما مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نشده است. یکی از سازوکارهای مؤثر در بروز سارکوپنیا کاهش سنتز پروتئین های عضلانی در پاسخ به تحریکات آنابولیکی است. به نظر می رسد عضلهٔ یک فرد سالمند در مقایسه با عضلهٔ یک فرد جوان، توانایی کمتری در پاسخگویی به تحریکات آنابولیکی مانند پروتئین ها، انسولین و فعالیت ورزشی مقاومتی دارد و با کاهش سنتز پروتئین به این محرکها پاسخ می دهد. درحالی که، اعمال این محرکها در عضلهٔ اسکلتی یک فرد جوان با افزایش سنتز پروتئین و در نتیجه هایپرتروفی عضلانی همراه می شود (۳،۴). این موضوع به‌احتمال زیاد ریشه در تغییر غلظت پروتئین های انتقال پیامی دارد که هایپرتروفی و آتروفی عضلات را محقق می کنند (۴، ۵). بر اساس پژوهش های انجام گرفته در این حوزه، اقداماتی که بتواند عوامل مهم تنظیم‌کنندهٔ رشد عضلانی مانند فولیستاتین را تحت تأثیر قرار دهد سرعت تحلیل عضلانی ناشی از سارکوپنیا در افراد سالمند را کاهش می دهد (۱).

عامل اصلی مهارکنندهٔ رشد عضلانی مایوستاتین است. مایوستاتین پس از اتصال به گیرندهٔ خود در سطح سلولهای عضلانی با به راه انداختن مسیر پیام رسانی مایوستاتین، رشد عضلانی را مهار می کند. با وجود این، فولیستاتین به عنوان قوی ترین عامل آنتاگونیست مایوستاتین بااتصال به گیرندهٔ مایوستاتین (اکتیوین IIb[1]) از اثر مهاری مایوستاتین بر رشد عضله جلوگیری می کند. حذف ژن فولیستاتین در عضلهٔ اسکلتی باعث کاهش تودهٔ عضلانی می‌شود، درحالی‌که بیش‌بیانی ژن آن باعث رشد بیش از حد عضله می‌شود. در صورتی که حذف مایوستاتین همراه با بیان بیش از حد فولیستاتین همزمان باشد، تودهٔ عضلانی افزایش چهار برابری را نشان می دهد (۶). با این حال، نشان داده شده است، تمرین مقاومتی و تغذیه می تواند مقادیر فولیستاتین را تغییر دهد (۷، ۸).

تا به امروز، تأثیر تمرین مقاومتی و انواع مداخلات تغذیه ای بر فولیستاتین بررسی شده است (۷،۸). مطالعات نشان داده اند، پس از تمرین مقاومتی مقادیر mRNA، پروتئین پلاسما و پروتئین بافتی فولیستاتین افزایش (۹-۱۱) یافته اند. از سوی دیگر، برخی از مطالعات نیز نتایج متناقضی را نشان داده اند، برای مثال عدم تغییر فولیستاتین پس از تمرین مقاومتی را گزارش کرده اند (۱۲). علاوه بر فعالیت ورزشی، مداخلات تغذیه ای نیز بر عوامل رشد عضلانی تأثیرگذار هستند. از جمله این اقدامات، مصرف مکمل اپی کاتچین است. اپی کاتچین‌ها مولکول‌هایی از خانوادهٔ فلاونوئیدها هستند که در شکلات تلخ و چای سبز به‌وفور یافت می شوند. تحقیقات اخیر نشان داده اند، این مولکول ها می‌توانند بر عوامل رشد عضلانی تأثیر مثبت داشته باشند. به نظر می رسد، اپی کاتچین‌های موجود در شکلات تلخ می‌توانند با تقلید آثار هورمون‌های جنسی، گیرنده‌های مربوط به عوامل رشد عضله را تحریک کنند (۱۳). در مطالعه ای تأثیر مصرف مکمل اپی کاتچین، بر عوامل رشد عضله بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد مصرف مکمل اپی‌کاتچین به مدت یک هفته تأثیر معناداری بر فولیستاتین بافت عضلانی و سرم نمونه های انسانی و حیوانی جوان و سالمند دارد (۱۴).

اگرچه پذیرفته شده است تمرین مقاومتی باعث افزایش قدرت عضلانی می شود، اما نتایج پژوهش ها به صورت متناقض نشان می دهند که عوامل رشد عضلانی نسبت به تمرین مقاومتی سازگاری های مختلفی را به همراه داشته است. از سوی دیگر، تأثیر بلندمدت مصرف عصارهٔ شکلات تلخ بر فولیستاتین نامشخص است. همچنین تأثیر هم زمان مصرف مکمل حاوی اپی کاتچین و تمرین مقاومتی بر عوامل رشدی عضلهٔ اسکلتی نیز مشخص نیست؛ بنابراین، ما فرض کردیم مصرف بلندمدت مکمل عصارهٔ شکلات تلخ –حاوی اپی کاتچین و تمرین مقاومتی سطوح پلاسمایی فولیستاتین سالمندان را افزایش می دهد و این افزایش نیز با بالا رفتن قدرت عضلانی سالمندان همراه است. بنابراین، هدف از این پژوهش مقایسهٔ تأثیر مصرف مکمّل عصارهٔ شکلات تلخ با هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان پلاسمایی فولیستاتین در سالمندان بود.

روش مطالعه

شرکت کنندگان

در این مطالعهٔ نیمه تجربی با طرح دو سو کور، به روش نمونه‌گیری هدفمند و در دسترس، از استان قزوین با استفاده از آگهی در روزنامه، افراد سالمندی که مشمول شرایط ذکر شده در معیارهای ورود و خروج بودند فراخوانده شدند و نهایتاً ۴۰ نفر از آنها (۲۰ مرد، ۲۰ زن) انتخاب شدند که ۴ نفر از این افراد به دلیل بیماری و مسائل شخصی از ادامهٔ کار انصراف دادند؛ بنابراین، نمونه های

1- Activin IIB

این پژوهش را ۳۶ سالمند مرد (۱۹ نفر) و زن (۱۷ نفر) با دامنه سنی ۴/۱۹±۶۷/۲۱ سال تشکیل دادند. معیارهای ورود به مطالعه شامل، سالمندان سالم با سن بین ۶۵ تا ۷۵ سال و کم تحرک (شرکت نکردن در فعالیت‌های منظم ورزشی در ۱۲ ماه گذشته) بود. معیارهای خروج از پژوهش شامل سابقهٔ بیماری‌های خاص (مانند بیماری مزمن ریوی (COLD)؛ بیماری ایسکمیک قلبی (IHD)؛ بیماری دریچه ای قلب (VHD)؛ بیماری فشارخون (HTN)؛ بیماری چربی های مضر (HLP)؛ بیماری نارسایی قلبی هیپرتروفیک (HCM) و...)؛ عدم تمایل به ادامه کار؛ مصرف سیگار؛ عدم مصرف مکمل و دارو (در یک ماه گذشته)؛ بیماری های روحی و روانی (مانند بیماری زوال عقل)؛ آسیب های عضلانی و مفصلی (مانند بیرون‌زدگی دیسک کمر) بود که به منظور غربالگری افراد داوطلب جهت شرکت دادن در این پژوهش توسط پزشک مورد آزمایش قرار گرفت و سپس افراد واجد شرایط انتخاب شدند.

پروتکل پژوهش حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه تهران (IR.UT.Rec.۱۳۹۵۰۰۹) پذیرفته شد و با توجه به بیانیه هلسینکی در (IRCT۲۰۱۶۱۲۰۱۳۱۱۸۰N۱) http://www.irct.ir/ ثبت شد. در این پژوهش، آزمودنی ها به‌صورت تصادفی به چهار گروه: گروه اول: تمرین مقاومتی+پلاسیبو (۸ نفر، تمرین)، گروه دوم: مکمل عصارهٔ شکلات تلخ (۱۰ نفر، مکمل)، گروه سوم: تمرین مقاومتی و مکمل عصارهٔ شکلات تلخ (۹ نفر، تمرین+مکمل) و گروه چهارم: پلاسیبو (۹ نفر، کنترل) تقسیم شدند. تصادفی سازی با روش جدول اعداد تصادفی انجام شد.

طرح مطالعه

در جلسه ای با حضور همهٔ آزمودنی ها و پزشک، توضیحات لازم و روش اجرای پژوهش تشریح و به همه افراد دعوتنامه ای شامل چگونگی اجرای پژوهش، فرم رضایت نامه و شرکت داوطلبانه همچنین پرسشنامهٔ سلامت و ریسک بیماری داده شد. پیش از شروع مداخله، اطلاعات مربوط به سن، قد، وزن، شاخص تودهٔ بدنی (BMI) و قدرت بیشینه ثبت شد. به‌منظور اندازه‌گیری وزن، از ترازوی Seca ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۱ کیلوگرم و برای اندازه گیری قد، از قد سنج Seca با دقت ۰/۱ سانتی‌متر استفاده شد. پس از اندازه‌گیری قد و وزن آزمودنی ها، از تقسیم وزن (کیلوگرم) بر قد (سانتی‌متر) به توان ۲، BMI افراد محاسبه گردید. برای بررسی متغیّرهای بیوشیمیایی، پیش از آغاز برنامهٔ هشت‌هفته‌ای، از هر آزمودنی در حالت ناشتا (بین ساعت ۰۸:۰۰ تا ۰۹:۰۰)، پنج سی‌سی خون ورید بازویی گرفته شد. ۴۸ ساعت پس از خون‌گیری پیش‌آزمون، گروه‌های اول (تمرین+پلاسیبو) و سوم (تمرین+مکمل) به مدّت هشت هفته، پروتکل تمرینی منتخب را انجام دادند. هم‌چنین، افراد گروه‌های دوم (مکمل) و سوم (تمرین+مکمل) نیز در همین دورهٔ هشت‌هفته‌ای به صورت روزانه مکملهای در نظر گرفته شده را در ساعت مشخصی از روز مصرف کردند. دو روز پس از آخرین جلسهٔ تمرینی ابتدا وزن، BMI و قدرت بیشینهٔ آزمودنی‌ها اندازه‌گیری، سپس (بین ساعت ۰۸:۰۰ تا ۰۹:۰۰) در حالت ناشتا مجدداً خون‌گیری به همان روش پیش‌آزمون انجام شد. نمونه‌های خونی در لوله‌های آزمایشی با مادهٔ ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای بررسی مقادیر فولیستاتین پلاسما از کیت ۹۶ تایی انسان فولیستاتین (Human Follistatin (FS ZellBio.H۹۶۴۸-۱۰۱۰-ELISA kit, cat. No. ZB GmbH, Ulm, Germany) به روش الایزا طبق پروتکل شرکت سازنده (Zellbio,Germany) استفاده شد. غلظت های پلاسمایی پس آزمون فولیستاتین نسبت به تغییرات حجم پلاسما با استفاده از هماتوکریت و هموگلوبین بر اساس معادلات دیل و کاستیل بیان شد (۱۵).

مکمل دهی

افراد گروه‌های سوم (تمرین+مکمل) و دوم (مکمل) در همین دورهٔ هشت هفته‌ای روزانه یک کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی عصارهٔ شکلات تلخ را با ۲۰۰ میلیلیتر آب دریافت کردند (در حدود ساعت ۱۶:۰۰). این کپسول ها حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم عصارهٔ دانهٔ شکلات تلخ، ۱۲۵ میلی گرم فلاونول و ۲۵ میلی گرم اپی کاتچین (Futurebiotics, the USA) بود. مقدار مصرف مورد توصیهٔ این مکمل بر اساس جدول RDA آن، روزانه یک کپسول بود. گروه چهارم (کنترل) نیز در این مدّت هیچ‌گونه فعالیت ورزشی نداشت. برای کنترل تأثیر روانی مکمل، گروه های اول (تمرین+پلاسیبو) و چهارم (کنترل) درزمانی مشابه با گروه‌های دوم (مکمل) و سوم (مکمل+تمرین)، یک کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی دارونما (نشاسته) با شکل و رنگی مشابه کپسولهای حاوی عصارهٔ شکلات تلخ مصرف کردند (۱۴).

تمرین مقاومتی

پیش از شروع مطالعه، آزمودنی های گروه های اول (تمرین+پلاسیبو) و سوم (تمرین+مکمل) طی سه جلسه (تحت نظارت فرد متخصص علوم ورزشی) با تجهیزات و دستگاه های تمرین مقاومتی (Technogym, Italy) در محل در نظر گرفته شده برای انجام تمرین آشنا شدند.

آزمودنی های گروههای تمرین سه روز غیرمتوالی در هفته (بین ساعت ۱۷:۰۰ تا ۱۸:۰۰) به مدت هشت هفته برنامهٔ تمرینی

منتخب را اجرا کردند. برنامهٔ هر جلسه تمرین، شامل گرم کردن با انواع حرکات نرمشی و کششی به مدت ۱۰ دقیقه، انجام هشت حرکت پرس پا دستگاه ، باز کردن زانو دستگاه، حرکت پشت ران دستگاه ، پرس سینه با هالتر ، پرس سرشانه دستگاه ، قایقی دستگاه، جلو بازو دمبل و دراز و نشست به مدت ۴۵ دقیقه و در انتها سرد کردن به مدّت ۱۰ دقیقه با انجام حرکات کششی بود (۱۶). هر حرکت در سه نوبت و هر نوبت با ۸ تا ۱۲ تکرار انجام شد. تمرین‌ها با شدّت ۶۰ تا ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه (1RM) انجام شد. استراحت بین ست‌ها نیز ۹۰ ثانیه در نظر گرفته شده بود (۱۷). برای رعایت اصل اضافه بار، آزمون 1RM هر دو هفته یک‌بار برای هرکدام از آزمودنی‌ها تکرار شده تا پیشرفتی که براثر تمرین در قدرت سالمندان ایجاد می‌شود، در تنظیم شدّت این تمرین‌ها لحاظ شود. دستورالعمل‌های تمرینی توسط متخصص علوم ورزشی داده شد که به همراه یک دستیار به همه جلسات تمرینی نظارت می‌کردند.

حداکثر قدرت عضلانی

حداکثر قدرت پرس پا و پرس سینه آزمودنی ها پیش و پس از هشت هفته مداخله با استفاده از آزمون استاندارد 1RM مورد بررسی قرار گرفت. پس از پنج دقیقه گرم کردن عمومی بدن روی دوچرخه ثابت، آزمودنی ها دو ست گرم کردن با وزنه را به این‌ترتیب انجام دادند: یک ست با ۱۰ تکرار، با استفاده از وزنهٔ تعیین شده توسط خود آزمودنی که به راحتی بتواند آن را جابجا کند و یک ست با پنج تکرار با استفاده از وزنهٔ افزایش یافته نسبت به میزان وزنه انتخابی اول، سپس دو دقیقه پس از انجام ست های گرم کردن، وزنه ها به صورت پیش رونده برای هر تلاش تا رسیدن به 1RM با فاصله زمانی دو دقیقه استراحت افزایش داده می شدند. 1RM آزمودنی ها به طور معمول و بدون احتساب دو ست اولیه جهت گرم کردن، طی چهار تا شش تلاش به دست می آمد (۱۸). با استفاده از این روش علاوه بر سنجش حداکثر قدرت آزمودنی ها در دو حرکت پرس سینه و پرس پا، 1RM تمامی حرکات پروتکل تمرین مقاومتی جهت اعمال اضافه بار اندازه گیری شد.

روش‌های آماری مورد استفاده

به جهت اطمینان از توزیع طبیعی داده ها، از آزمون شاپیرو–ویلک استفاده گردید. برای مقایسهٔ تأثیر تمرین مقاومتی، مکمل عصارهٔ شکلات تلخ و ترکیب این دو بر متغیرهای موردنظر ابتدا مقدار تغییرات متغیرها در هر گروه محاسبه شد، سپس با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD برای بررسی تفاوت بین چهار گروه، مورد بررسی قرار گرفت. کلیهٔ تجزیه‌وتحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام گرفت و سطح معناداری برای تمامی عملیات آماری ($P\leq ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

ویژگیهای فردی آزمودنی ها در ابتدا، همچنین اختلاف این مقادیر با مقادیر پس آزمون آزمودنی ها در (جدول۱) گزارش شده است. با توجه به (جدول۱) آزمودنی های چهار گروه هیچ تفاوت معناداری در مقادیر متغیرهای ذکر شده در پیش آزمون با یکدیگر نداشتند. پس از هشت هفته مداخله، وزن، BMI و قدرت حداکثر در حرکات پرس سینه و پرس پا در گروه های اول (تمرین+پلاسیبو) و سوم (تمرین + مکمل) در مقایسه با گروه چهارم (کنترل) افزایش معناداری داشت ($P<۰/۰۵$). باوجوداین، هیچ تغییر معناداری در وزن، BMI و قدرت حداکثر گروه دوم (مکمل) در مقایسه با گروه چهارم (کنترل) مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

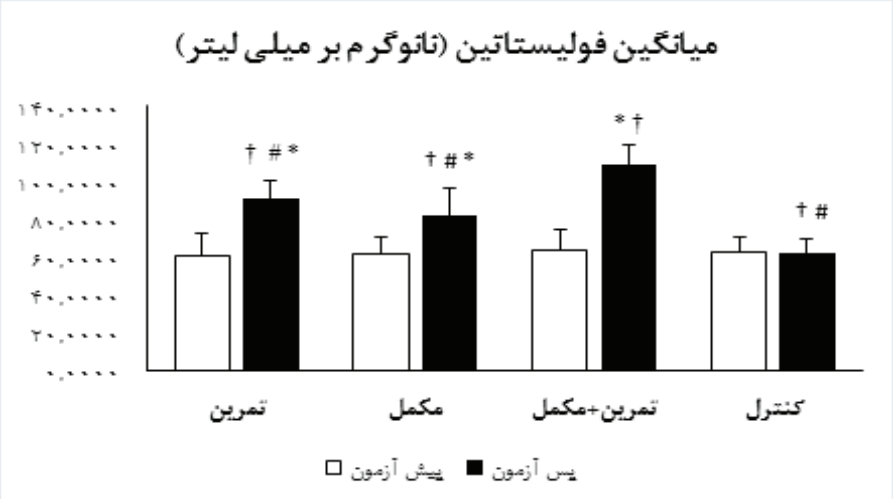
جدول ۱: ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها. پیش‌آزمون و تغییرات پس از مداخلات (میانگین ± انحراف معیار)

	گروه ها							
	کنترل		تمرین		مکمل		تمرین+ مکمل	
	پیش‌آزمون	تغییرات	پیش‌آزمون	تغییرات	پیش‌آزمون	تغییرات	پیش‌آزمون	تغییرات
تعداد (زن/مرد)	۵/۴		۴/۴		۵/۵		۴/۵	
سن (سال)	۶۶/۵۶±۲/۰۹		۶۷/۱۰±۶/۱۷		۶۸/۸۲±۶۴/۰۵		۶۷/۳۹±۷/۱۵	
قد (cm)	۱۶۸/۱۸±۱۴/۰۵		۱۱۶۷/۲۹±۱۰/۲۱		۱۶۹/۷۱±۹/۸۸		۱۷۰/۱۸±۸/۵۴	
وزن (kg)	۶۵/۶۶±۷/۷۰	-۰/۲۵±۰/۸۴	۶۵/۸۷±۹/۸۷	۰/۶۱±۰/۵۴*	۶۷/۴۰±۱۱/۵۶	۰/۲۳±۰/۴۴	۶۸/۴۸±۱۰/۵۷	۰/۶۳±۰/۵۰*
BMI (kg.m-2)	۲۴/۵۲±۱/۹۳	۰/۰۷±۰/۲۷	۲۴/۲۰±۱/۹۴	-۰/۲۲±۰/۲۶*	۲۴/۹۵±۲/۲۸	-۰/۰۷±۰/۱۵	۲۵/۰۵±۲/۵۵	-۰/۲۲±۰/۱۶*
پرس سینه (kg)	۳۰/۱۱±۱۳/۷۹	۰/۱۱±۰/۷۸	۳۱/۲۵±۱۴/۳۷	۳/۵۰±۱/۱۴*	۳۱/۲۰±۱۰/۲۸	۰/۳۰±۰/۸۲#†	۳۳/۶۶±۱۰/۳۴	۴/۵۵±۱/۰۱*
پرس پا (kg)	۷۵/۶۶±۱۸/۰۷	۰/۲۲±۱/۲۰	۷۷/۲۵±۲۲/۱۴	۱۳/۷۵±۷/۹۲*	۷۴/۶۰±۲۲/۱۵	۰/۷۰±۱/۰۵#†	۸۰±۲۶/۴۰	۱۶/۳۳±۷/۷۱*

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد آورده شده‌اند.

* نشانه‌ی معناداری آماری $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل، # نشانه‌ی معناداری آماری $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تمرین+مکمل، † نشانه‌ی معناداری آماری $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تمرین (نتایج آزمون آنوا یک‌طرفه)

میزان تغییرات سطوح پلاسمایی فولیستاتین به صورت مقایسهٔ میانگین پیش آزمون و پس آزمون چهار گروه در (نمودار۱) نشان داده شده است. پس از هشت هفته مداخله، مقادیر فولیستاتین در گروه های اول (تمرین+پلاسیبو)، سوم (تمرین+مکمل) و دوم (مکمل) در مقایسه با گروه چهارم (کنترل) افزایش معناداری داشت (P<۰/۰۵). همچنین، مقادیر فولیستاتین گروه سوم (تمرین+مکمل) در مقایسه با گروه دوم (مکمل) به صورت معناداری افزایش داشت (P<۰/۰۵).



نمودار۱: تغییرات مقادیر فولیستاتین پلاسما (نانوگرم بر میلی‌لیتر) قبل و بعد از هشت هفته مداخلهٔ تمرین و مکمل. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد آورده شده‌اند. * نشانهٔ معناداری آماری P≤۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل، # نشانهٔ معناداری آماری P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تمرین+مکمل، † نشانهٔ معناداری آماری P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تمرین (نتایج آنوا یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD)

همچنین با توجه به (نمودار۲)، درصد تغییرات مقادیر پلاسمایی فولیستاتین در گروه سوم (تمرین+مکمل) در مقایسه با سایر گروه ها به صورت معناداری بیشتر بود.

نمودار۲: مقایسهٔ درصد تغییرات مقادیر فولیستاتین پلاسما (نانوگرم بر میلی‌لیتر) بین چهار گروه

بحث

یافتهٔ اصلی این مطالعه این است که پس از تمرین ورزشی مقاومتی و مصرف مکمل عصارهٔ شکلات تلخ حاوی اپی کاتچین، سطوح پلاسمایی فولیستاتین بهبود یافته است. سطوح پلاسمایی فولیستاتین بعد از تمرین ورزشی مقاومتی در مردان و زنان سالمند افزایش معناداری داشت. با این‌حال، سطوح فولیستاتین در گروه سوم (تمرین+مکمل) افزایش بیشتری نسبت به گروه های اول (تمرین+پلاسیبو) و دوم (مکمل) داشته است. هم زمان با افزایش

فولیستاتین، قدرت بیشینه در پرس سینه و پرس پا در گروه های اول (تمرین+پلاسیبو) و سوم (تمرین+مکمل) افزایش یافته است؛ بنابراین، به نظر می رسد با افزایش سطوح پلاسمایی فولیستاتین، قدرت عضلانی نیز افزایش یافته است.

مطالعات نشان داده اند، فعالیت ورزشی مقاومتی با افزایش سطوح فولیستاتین ممکن است در کنترل و درمان سارکوپنیا نقش مهمی ایفا کند. تمرین مقاومتی با افزایش سطوح فولیستاتین ممکن است به فعال‌سازی بیشتر مسیر Akt/mTOR، فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای، بهبود روند مایوژنز و رشد عضلهٔ اسکلتی کمک قابل توجّهی کند (۱۹-۲۱).

در مطالعات قبلی نشان دادند که تمرین مقاومتی از طریق افزایش SMAD-7 و GASP-1 باعث افزایش معنادار فولیستاتین و متعاقباً کاهش معنادار مایوستاتین می شود GASP-1 از طریق مهار پروتئیازها، نقش مایوستاتین در آتروفی عضلانی که به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بروز سارکوپنیا معرفی شده است را مهار می کند. SMAD-7 نیز یک مهارکنندهٔ داخل سلولی سیگنالینگ مایوستاتین است که در پاسخ به محرکهای مکانیکی مانند تمرین مقاومتی فعال می شود (۸). تمرین مقاومتی از طریق اعمال بار مکانیکی باعث افزایش بیان عواملی چون IGF-I و MGF می شود. این دو عامل، باعث فسفوریلاسیون و فعال‌سازی Akt می‌شوند. فعّال شدن Akt باعث سرکوب و مهار عوامل رونویسی FoxO می‌شود. در نتیجه FoxO نمی‌تواند بر هسته سلولی تأثیر گذارد و باعث بیان مایوستاتین شود؛ بنابراین، تمرین مقاومتی با مهار FoxO بیان مایوستاتین را کاهش می دهد (۲۲،۲۳).

پژوهش حاضر نشان داد، مقادیر پلاسمایی فولیستاتین در گروه دوم (مکمل) افزایش معناداری داشت. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف مکمل حاوی اپی‌کاتچین تأثیرات مثبتی بر کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت نوع ۲، ظرفیت‌های تمرینی و آنژیوژنز دارد (۲۴). اخیراً نشان داده اند، این فلاونول بر روند رشد عضلهٔ اسکلتی نیز تأثیرگذار است (۲۵،۲۶). سالمین و همکارانش (۲۰۱۴) گزارش کرده‌اند، پیری آثار سوء بر تنظیم‌کننده‌های رشد عضلانی دارد و مصرف مقادیر مناسب مکمل حاوی فلاونول اپی کاتچین تا حدی می‌تواند این تغییرات را معکوس کند. همچنین، در این پژوهش نشان داده شده است، اپی کاتچین اولین ترکیبی است که تنظیم‌کنندهٔ مثبت رشد عضلانی یعنی فولیستاتین را به‌طور مطلوبی کنترل می‌کند و به‌منظور افزایش قدرت نیز در سالمندان پیشنهاد می شود (۱۴).

اخیراً در پژوهشی دیگر نشان دادند که پس از هشت هفته مصرف مکمل حاوی اپی کاتچین در بیماران مبتلا به دیستروفی عضلانی بِکِر سطوح فولیستاتین افزایش یافته است. پاسخ عضلات به تمرین نیز در آن‌ها بهبود یافته است. بااین‌حال توضیح دقیقی در مورد سازوکار احتمالی اپی کاتچین بر افزایش مقادیر فولیستاتین ارائه نشده است. همچنین در این پژوهش گزارش شده است، اپی-کاتچین تنها مکمل خوراکی است که باعث بهبود متغیرهای مرتبط با بازسازی عضلهٔ اسکلتی می شود و می تواند به‌عنوان یک بیومارکر فارماکودینامیک برای مطالعات آینده باشد (۲۷). نظریهٔ محتمل موجود در مورد سازوکار فیزیولوژیک اپی‌کاتچین‌ها، تقلید شیمیایی از آثار هورمون جنسی است. این گمان وجود دارد که اپی کاتچین ها که گاهی از آن‌ها به‌عنوان پروهورمون نیز یاد می‌شود، گیرنده‌های هورمون های جنسی را تحریک می‌کنند و با همان سازوکار احتمالی که هورمون های جنسی همانند فولیستاتین قادر هستند مانع از بیان مایوستاتین شود، اپی کاتچین‌ها نیز مانع از بیان مایوستاتین می‌شوند و درنتیجه این روند به رشد عضلهٔ اسکلتی منجر می شود (۲۸،۲۹).

پژوهش حاضر نشان داد، سطوح پلاسمایی فولیستاتین در گروه سوم (تمرین+مکمل) در مقایسه با گروه اول (تمرین+پلاسیبو) و دوم (مکمل) باعث افزایش بیشتری در فولیستاتین می شود که به نظر می رسد آثار تمرین ورزشی مقاومتی و اپی کاتچین به‌صورت هم زمان تأثیر بهتری دارد. به‌علاوه نشان داده شده است که سطوح فولیستاتین در گروه اول (تمرین+پلاسیبو) در مقایسه با گروه دوم (مکمل) افزایش بیشتری در فولیستاتین به همراه داشته است. به نظر می رسد تمرین مقاومتی از راه تحریک مکانیکی و افزایش عوامل رشدی همچون IGF-1 و MGF آثار بهتری نسبت به اپی کاتچین داشته باشد. به علاوه نتایج پژوهش حاضر نشان داد، زمانی که تمرین مقاومتی با مصرف اپی کاتچین به‌صورت هم‌زمان باشد، آثار تمرین مقاومتی تقویت می شود و باعث افزایش بیشتر در فولیستاتین می شود. اشاره شده است تمرین درمانی ممکن است مزایای رویکرد استفاده از دارو به تنهایی به جهت داشتن تأثیرات فیزیولوژیک بیشتر و بدون عوارض جانبی داشته باشد. در حال حاضر، استراتژی استفاده از مکمل تغذیه ای مناسب و ترکیب آن با تمرین مقاومتی به نظر می رسد که بهترین رویکرد در پیشگیری یا حتی تا حدودی درمان سارکوپنیا باشد (۱).

از محدودیت های این تحقیق می توان به عدم استفاده از روش نمونه برداری از تار عضلهٔ اسکلتی (بایوپسی) جهت سنجش متغیر پژوهش (فولیستاتین) برای اطمینان از تغییر مقادیر آن در بافت عضلهٔ اسکلتی اشاره کرد. پژوهش حاضر بر سطوح پلاسمایی فولیستاتین تمرکز داشت و مسیرهای پائین‌دستی آنها بررسی نشد.

سنجش عوامل بیشتری در ارتباط با رشد عضلهٔ اسکلتی مانند عوامل مایوژنیک مایوژنین، MRF4 , Myf5 و MyoD, MGF؛ FoxO, Smads, GASPs و... برای حصول اطمینان از تأثیر مکمل اپی کاتچین بر این عوامل نیز به‌عنوان چشم‌اندازی برای مطالعات آتی پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری نهایی

در نتیجه، ما نشان دادیم پس از تمرین مقاومتی و مصرف مکمل عصارهٔ شکلات تلخ، سطوح پلاسمایی فولیستاتین افزایش می یابد. به علاوه، مشخص شد تمرین مقاومتی هم زمان با مصرف عصارهٔ شکلات تلخ آثار بهینه تری در افزایش فولیستاتین دارد. این نتایج می تواند چشم انداز جدیدی، برای تنظیم فرایند عضله زایی سالمندان به ارمغان آورد و ممکن است دیدگاه های جدیدی در مورد تنظیم رشد عضلات اسکلتی جهت پیشگیری و حتی درمان مشکلات عضلانی سالمندان از قبیل سارکوپنیا ارائه نماید. بنابراین براساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، پیشنهاد ما استفادهٔ توامان از تمرین مقاومتی و مصرف مکمل شکلات تلخ جهت پیشگیری از آثار سوء سارکوپنیا و حتی تا حدودی درمان این بیماری در سالمندان است.

تشکر و قدردانی

این کار پژوهشی برگرفته از کار پایان‌نامهٔ مقطع کارشناسی ارشد است. از تمامی افرادی که در این پژوهش کمال همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Woo J. Sarcopenia. Clinics in Geriatric Medicine. 2017; 33 (3): 305-14.
2. Kalinkovich A, Livshits G. Sarcopenia–The search for emerging biomarkers. Ageing research reviews. 2015; 22:58-71.
3. Narici MV, Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. British medical bulletin. 2010; 95 (1):139-59.
4. Kumar V, Selby A, Rankin D, Patel R, Atherton P, Hildebrandt W, et al. Age-related differences in the dose–response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. The Journal of physiology. 2009; 587 (1): 211-7.
5. Drescher C, Konishi M, Ebner N, Springer J. Loss of muscle mass: current developments in cachexia and sarcopenia focused on biomarkers and treatment. Journal of cachexia, sarcopenia and muscle. 2015; 6 (4):303-11.
6. Sakuma K, Aoi W, Yamaguchi A. Molecular mechanism of sarcopenia and cachexia: recent research advances. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2017; 469 (5-6): 573-91.
7. Willoughby DS. Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. Medicine and science in sports and exercise. 2004; 36 (4):574-82.
8. Laurentino GC, Ugrinowitsch C, Roschel H, Aoki MS, Soares AG, Neves Jr M, et al. Strength training with blood flow restriction diminishes myostatin gene expression. Med Sci Sports Exerc. 2012; 44 (3): 406-12.
9. Hansen J, Brandt C, Nielsen AR, Hojman P, Whitham M, Febbraio MA, et al. Exercise induces a marked increase in plasma follistatin: evidence that follistatin is a contraction-induced hepatokine. Endocrinology. 2011; 152 (1):164-71.
10. Nam J, Perera P, Gordon R, Jeong Y, Blazek A, Kim D, et al. Follistatin-like 3 is a mediator of exercise-driven bone formation and strengthening. Bone. 2015;78: 62-70.
11. Phillips WT, Batterham AM, Valenzuela JE, Burkett LN. Reliability of maximal strength testing in older adults. Archives of physical medicine and rehabilitation. 2004; 85 (2):329-34.
12. Diel P, Schiffer T, Geisler S, Hertrampf T, Mosler S, Schulz S, et al. Analysis of the effects of androgens and training on myostatin propeptide and follistatin concentrations in blood and skeletal muscle using highly sensitive immuno PCR. Molecular and cellular endocrinology. 2010; 330 (1):1-9.
13. Yu PL, Pu HF, Chen SY, Wang SW, Wang

PS. Effects of catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate on testosterone production in rat leydig cells. Journal of cellular biochemistry. 2010; 110 (2):333-42.
14. Gutierrez-Salmean G, Ciaraldi TP, Nogueira L, Barboza J, Taub PR, Hogan MC, et al. Effects of (−)-epicatechin on molecular modulators of skeletal muscle growth and differentiation. The Journal of nutritional biochemistry. 2014; 25 (1):91-4.
15. Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. Journal of applied physiology. 1974; 37 (2): 247-8.
16. Maltais ML, Ladouceur JP, Dionne IJ. The effect of resistance training and different sources of postexercise protein supplementation on muscle mass and physical capacity in sarcopenic elderly men. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2016; 30 (6):1680-7.
17. Mayer F, Scharhag-Rosenberger F, Carlsohn A, Cassel M, Müller S, Scharhag J. The intensity and effects of strength training in the elderly. Deutsches Ärzteblatt International. 2011; 108 (21): 359.
18. Unhjem RJ. Impact of strength training on the aging neuromuscular system. 2017.
19. Morley J. Sarcopenia: diagnosis and treatment. The journal of nutrition, health & aging. 2008; 12 (7):452-6.
20. Wakabayashi H, Sakuma K. Rehabilitation nutrition for sarcopenia with disability: a combination of both rehabilitation and nutrition care management. Journal of cachexia, sarcopenia and muscle. 2014;5(4):269-77.
21. Johnston AP, De Lisio M, Parise G. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging. Applied physiology, nutrition, and metabolism. 2007; 33 (1): 191-9.
22. Allen DL, Unterman TG. Regulation of myostatin expression and myoblast differentiation by FoxO and SMAD transcription factors. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2007; 292 (1): C188-C99.
23. Williams NG. Myostatin Regulation of the Insulin-like Growth Factor Axis: Washington State University; 2009.
24. Quine SD, Raghu PS. Effects of (-)-epicatechin, a flavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in streptozotocin-induced diabetic liver, kidney and heart. Pharmacol Rep. 2005; 57(5):610-5.
25. Latif R. Chocolate/cocoa and human health: a review. Neth J Med. 2013; 71(2):63-8.
26. Hooper L, Kay C, Abdelhamid A, Kroon PA, Cohn JS, Rimm EB, et al. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. The American journal of clinical nutrition. 2012; 95 (3):740-51.
27. McDonald C, Henricson E, Oskarsson B, Aguilar C, Nicorici A, Joyce N, et al. Epicatechin enhances mitochondrial biogenesis, increases dystrophin and utrophin, increases follistatin while decreasing myostatin, and improves skeletal muscle exercise response in adults with Becker muscular dystrophy (BMD). Neuromuscular Disorders. 2015;25:S314-S5.
28. Yaşar P, Ayaz G, User SD, Güpür G, Muyan M. Molecular mechanism of estrogen–estrogen receptor signaling. Reproductive medicine and biology. 2017; 16 (1): 4-20.
29. Moreno-Ulloa A, Mendez-Luna D, Beltran-Partida E, Castillo C, Guevara G, Ramirez-Sanchez I, et al. The effects of (−)-epicatechin on endothelial cells involve the G protein-coupled estrogen receptor (GPER). Pharmacological research. 2015;100:309-20.