مقاله پژوهشی

فصلنامه علمی – پژوهشی طبّ مکمّل، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴

اثر مکمّل‌سازی کوتاه‌مدت شکلات تلخ قبل از یک جلسه فعّالیت فزاینده‌ی ورزشی بر لیپید پراکسیداسیون عروقی در دختران جوان فعّال

نسیبه دولت‌آبادی فراهانی[۱*]، افسانه شمشکی[۲]، بهروز بقایی[۳]، مهدیه ملانوری شمسی[۴]، مهدی هدایتی[۵]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.
۳. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق و تنفس، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۵. دانشیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۰۸

چکیده

مقدمه: فشار اکسایشی یکی از عوامل آسیب‌رسان بر بافت‌ها محسوب می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر مکمّل‌سازی کوتاه‌مدت شکلات تلخ قبل از یک جلسه فعّالیت فزاینده‌ی ورزشی بر لیپید پراکسیداسیون عروقی در دختران فعّال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر از نوع نیمه‌تجربی است و ۱۶ نفر بعد از تکمیل فرم رضایت‌نامه در دو گروه تجربی (مصرف شکلات تلخ) و گروه کنترل (عدم مصرف شکلات تلخ) در تحقیق شرکت کردند. گروه تجربی ۳ روز شکلات تلخ – هر روز به میزان ۸۰ گرم – را مصرف کردند و بعد از سه روز، هر دو گروه در فعّالیت ورزشی فزاینده شرکت کردند. در سه مرحله‌ی قبل از فعّالیت فزاینده‌ی ورزشی، بلافاصله بعد از فعّالیت و یک ساعت بعد از فعّالیت، نمونه خون وریدی جهت اندازه‌گیری پراکسید هیدورژن (H_2O_2) و مالون دی آلدئید گرفته شد.

یافته‌ها: سطح H_2O_2 و مالون دی آلدئید در گروه تجربی و کنترل در مقایسه‌ای که بین مراحل بعد از فعّالیت و زمان ریکاوری با مرحله‌ی پایه انجام شد (مقایسه‌ی درون‌گروهی) تغییر معنی‌داری نیافت (p= ۰/۰۵). با این حال گروه شکلات تلخ در مقایسه با گروه کنترل از مقدار H_2O_2 کمتری در هر سه مرحله‌ی قبل از ورزش (تجربی: ۱/۲۵±۰/۴۵، کنترل:۲/۰۸±۰/۴۲) (p=۰/۰۰۴)، بلافاصله بعد از ورزش (تجربی: ۱/۶۸±۰/۳، کنترل:۲/۱۶±۰/۵۲) (p=۰/۰۵) و یک ساعت بعد از آن (۱/۵۱±۰/۳، کنترل: ۲/۱۸±۰/۴۴) برخوردار بود (p=۰/۰۰۶).

نتیجه‌گیری: احتمالاً مصرف کوتاه‌مدت شکلات تلخ در کنترل روند افزایشی شاخص‌های لیپید پراکسیداسیون عروقی در جریان فعّالیت‌های فزاینده‌ی ورزشی در دختران فعّال مؤثر است.

کلیدواژه‌ها: ورزش، شکلات تلخ، دختران.

*نویسنده مسئول: E.mail: Nasibeh_6@yahoo.com

مقدمه

فعّالیت بدنی شدید با تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنشی همراه است و تولید هوازی انرژی در میتوکندری‌ها (زنجیره‌ی انتقال الکترونی) می‌تواند بیشترین نقش را در این فرایند ایفا نماید (۱). هر چند که سلول‌های مختلفی در حین فعّالیت بدنی قادر به تولید ROS[1] ها هستند، بااین‌حال به نظر می‌رسد عضله‌ی اسکلتی بیشترین نقش را بازی می‌کند (۲). سایر سلول‌ها ازجمله سلول‌های خونی همانند لکوسیت‌ها، اریتوسیت‌ها و همچنین عضلات صاف اطراف عروق خونی و سلول‌های اندوتلیال نیز سهم غیر قابل انکاری در تولید رادیکال‌های آزاد می‌توانند داشته باشند (۳, ۴). گونه‌های اکسیژن واکنشی تولیدشده در سلول‌های مختلف، قابلیت اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های مختلف و ایجاد فشار اکسایشی، تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی و خستگی را دارند (۵).

بااین‌حال سلول‌های عضلانی و سایر سلول‌ها از مکانیسم‌های دفاعی در برابر گونه‌های اکسیژن واکنشی برخوردار هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق جلوگیری از شکل‌گیری اولیه‌ی ROS ها و یا کاهش واکنش‌های بعدی آن‌ها، قادر به کاهش فشار اکسایشی هستند (۶). لیکن بر کسی پوشیده است که توان آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر جنسیت، سن، شدت فعّالیت بدنی، مدت و سایر عوامل مختلف قرار دارد و در همه حال قادر به مقابله‌ی مفید در برابر رادیکال‌های آزاد و ROS ها نیست (۷). بررسی‌های صورت‌گرفته در این زمینه نشان داده است که فعّالیت‌های شدید ورزشی به دلیل تولید حجم انبوهی از رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش توان آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شوند؛ به‌طوری‌که افزایش رادیکال‌های آزاد حتی در ساعت بعد از فعّالیت بدنی نیز در پلاسمای خون تجمع پیدا کرده و احتمال آسیب‌های مختلف دور از انتظار نیست (۱). از این رو محققان مختلف بهره‌گیری از مکمّل‌های مختلف را در جریان فعّالیت بدنی مفید دانسته‌اند و مکمّل‌های مختلفی ازجمله ویتامین‌های E، C، گلوتامین و سایر مکمّل‌ها، در پژوهش‌های مختلف مورد استفاده بوده است (۸). به‌تازگی استفاده از مکمّل‌های محتوی فلانوئیدها شامل چای سبز و قهوه نیز مورد توجه قرار گرفته است(۹). لیکن با توجه به اثرات و ترکیبات شکلات تلخ و نیز افزایش سریع توان آنتی‌اکسیدانی آن، احتمالاً تأثیرات افزایشی آن در تون آنتی‌اکسیدان‌ها حائز اهمیت خواهد بود.

شکلات تلخ ترکیبی است که در آن مقدار فراوانی از آنتی‌اکسیدان‌های فنول همانند کاتچنین و ای‌کاتچین و پروآنتوسیانیدین وجود دارد. شکلات تلخ و یا به‌طور کلی فلاونوئیدها قادر به کاهش اکسیداسیون چربی‌های خونی ازجمله لیپوپروتئین‌های LDL هستند (۱۰). از طرفی مشخص شده است که مصرف طولانی‌مدت شکلات تلخ منجر به افزایش HDL می‌گردد (۱۱). همچنین شواهدی در دست است که نشان می‌دهد هر اندازه شکلات مورد استفاده از طعم تلخ‌تری برخوردار باشد مقدار ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آن نیز به‌مراتب بیشتر خواهد بود (۱۲)؛ هر چند در شکلات تلخ سایر ترکیبات نظیر تئوبرومین و کافئین نیز وجود دارد که به اثرات آن‌ها اشاره خواهد شد (۱۲).

بررسی‌های صورت گرفته در ارتباط با تأثیر کوتاه‌مدت شکلات تلخ بر شاخص‌های لیپید پراکسیداسیون محدود است. آلگرو و همکاران در بررسی‌های خود مبنی «بر تأثیر مصرف منظم شکلات تلخ ۲ هفته قبل از یک تست ورزشی بر روی دوچرخه» گزارش کردند که مصرف شکلات تلخ تأثیر معنی‌داری بر سایتوکاین‌های التهابی همچون IL-6 و IL-10 نداشت، بااین‌حال منجر به کاهش مقدار F2-isoprostanes در گروه شکلات تلخ و تمرین در مقایسه با گروه کنترل شد (۱۳). داویسون و همکاران نیز گزارش کردند که مصرف شکلات تلخ به همراه فعّالیت بدنی منجر به کاهش مقاومت به انسولین و نیز فشار اکسایشی در مردان می‌گردد (۱۴). بااین‌حال، به‌یقین مشخص است که توان ایمنی و آنتی‌اکسیدانی زنان چه تفاوت‌هایی با مردان دارد. چنانچه ترتیبیان و همکاران گزارش کردند که زنان از سیستم ایمنی کارآمد و نیز بیان ژنی آنزیم MnSOD[2] بیشتر برخوردار هستند (۱۵). همچنین بقایی و همکاران نیز گزارش کردند که افراد ورزشکار به افزایش رادیکال‌های آزاد در حین فعّالیت ورزشی سازگاری دارند (۱۶)؛ بنابراین با توجه تفاوت‌های هورمونی موجود در زنان و اثراتی که این هورمون‌ها بر توان آنتی‌اکسیدانی دارند و با در نظر داشتن سازگاری‌های افراد ورزشکار، مشخص نیست که مصرف شکلات تلخ تا چه اندازه در کاهش لیپید پراکسیداسیون عروقی و

[1] Reactive oxygen species

[2] manganese containing SOD

رادیکال‌های آزاد زنان ورزشکار مؤثر باشد. به همین دلیل محققان در این پژوهش بر آن هستند که تأثیر مصرف ۳ روز شکلات تلخ بر پراکسید هیدورژن[1] و مالون دی آلدئید[2] را در دختران فعّال متعاقب شرکت در یک جلسه فعّالیت فزاینده مورد بررسی قرار دهند.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع نیمه‌تجربی با اندازه‌گیری مکرر است که در آن تعداد ۳۰ زن فعّال در دامنه‌ی سنّی ۳۰-۲۰ سال در شهر تهران داوطلب شرکت در آن شدند. در ابتدای تحقیق تمامی آزمودنی‌ها با شرایط و نحوه‌ی کار آشنا شدند و رژیم غذایی مصرفی آن‌ها از طریق پرسش‌نامه‌ی غذایی مورد بررسی قرار گرفت و پرسش‌نامه‌ی تندرستی و کوفتگی عضلاتی را تکمیل کردند. همچنین متغیرهای زمینه‌ای قد (متر)، وزن (کیلوگرم)، سن (سال) نیز اندازه‌گیری شدند. افراد مبتلا به بیماری‌های مزمن و افرادی که در مرحله‌ی قاعدگی ماهانه قرار داشتند و یا فاقد شرایط لازم بودند از شرکت در تحقیق منع شدند و در نهایت، ۱۶ نفر بعد از تکمیل فرم رضایت‌نامه در دو گروه تجربی (گروه ۱: شکلات تلخ) و گروه کنترل (گروه ۲: عدم مصرف شکلات تلخ) قرار گرفتند. رژیم غذایی مصرفی در طول تحقیق در اختیار آن‌ها (افراد هر دو گروه) قرار گرفت؛ به گروه تجربی (گروه شکلات تلخ)، سه روز قبل از اجرای آزمون ورزشی سه بسته شکلات تلخ ٪۷۰ واول –ساخت کشور لهستان – داده شد و از آن‌ها خواسته شد هر روز به میزان ۸۰ گرم از آن را مصرف کنند. تخمین زده شد که در ۱۰۰ گرم شکلات تلخ ۲۴۶/۸ میلی‌گرم پنی فنول وجود دارد و لذا آزمودنی‌ها روزانه به میزان ۱۹۷/۴ میلی‌گرم پنی فنول مصرف کردند تا تأثیرات کوتاه‌مدت شکلات تلخ حاوی آنتی‌اکسیدان بر رادیکال‌های آزاد مورد بررسی قرار گیرد (۱۴, ۱۷).

بعد از سه روز در شرایط ناشتا و قبل از شروع فعّالیت ورزشی فزاینده، ضربان قلب و فشار خون سیستولی و دیاستولی مرحله‌ی استراحت آن‌ها اندازه‌گیری شد و نمونه خون وریدی جهت اندازه‌گیری H_2O_2 و MDA از هر دو گروه اخذ گردید. سپس آزمودنی‌های هر دو گروه بعد از صرف صبحانه (کیک – آب‌میوه‌ی آناناس) در برنامه‌ی تمرین ورزشی شدید که شامل تست ورزشی GXT بود به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه شرکت کردند. بعد از تست ورزشی دوباره ضربان قلب و فشار خون سیستولی و دیاستولی آن‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین بلافاصله پس از اتمام تمرین و نیز ۱ ساعت بعد از آن دوباره نمونه خون از ورید بازویی گرفته شد.

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید

اندازه‌گیری MDA سرمی بر پایه‌ی واکنش با تیوباربیتوریک اسید[3]، استخراج با بوتانل (Iran pars azmoon) نرمال، اندازه‌گیری جذب با استفاده از Eutoanalyzer، و COBAS-MIRA Roche plus (Germany) و مقایسه‌ی جذب با منحنی استاندارد انجام شد.

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری H_2O_2 به روش FOX-1 معرف FOX-1 زایلینول ارینج ۱۰۰ میکرومولار، آمونیوم فروس سولفات 250 میکرومولار، سوربیتول ۱۰۰ میکرومولار و اسیدسولفوریک ۲۵ میلی‌مولار تهیه گردید. ۵۰ میکرولیتر از نمونه در یک میکروتیوب اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتر به ۹۵۰ میکرولیتر از معرف FOX-1 افزوده و ورتکس شد و برای ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (CO_2) انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در ۶۵۰ نانومتر به‌وسیله‌ی اسپکتروفتومتر خوانده شد (۱۸).

روش آماری

در تحقیق حاضر از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف جهت تعیین توزیع طبیعی داده‌ها و همچنین از روش اندازه‌گیری مکرر شامل آزمون بونفرونی برای مقایسه‌ی مراحل مختلف اندازه‌گیری شاخص‌های خونی با مراحل پایه‌ی هر گروه استفاده شد. برای مقایسه‌ی بین گروهی شاخص‌های H_2O_2 و MDA نیز در مراحل مختلف، از آزمون T-Test استفاده گردید. علاوه بر این از آزمون آماری Mixed Model جهت بررسی ارتباط بین تغییرات پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید استفاده شد. تمامی داده‌ها در سطح معنی‌داری $P \leq ۰/۰۵$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ و اکسل۲۰۱۰ مورد بررسی قرار گرفتند.

[1] Hydrogen Peroxide
[2] Malondialdehyde
[3] Thiobarbituric Acid (TBA)

یافته‌ها

ویژگی‌های فیزیولوژیکی زنان فعّال در جدول شماره‌ی ۱ مشخص شده است. بررسی‌های آماری نشان داد که سطح H_2O_2 بلافاصله بعد از فعّالیت فرایندهی ورزشی (در مقایسه با مرحله‌ی پایه) در گروه تجربی (شکلات تلخ و فعّالیت ورزشی) (p=۰/۱۳) و گروه کنترل (صرفاً فعّالیت ورزشی) (p=۰/۹۹) افزایش غیر معنی‌داری داشته است. یک ساعت بعد از تمرین نیز در مقایسه با مرحله‌ی پایه مقدار H_2O_2 در گروه شکلات کاهش (p=۰/۲۹) یافت و در گروه صرفاً فعّالیت ورزشی افزایش غیر معنی‌داری (p=۰/۹۹) داشت. همچنین بررسی‌های مربوط به MDA نیز نشان داد که سطح آن بلافاصله بعد از فعّالیت فزاینده (در مقایسه با مرحله‌ی پایه) در هر دو گروه افزایش غیر معنی‌داری داشته است (p=۰/۹۹). یک ساعت بعد نیز در مقایسه با مرحله‌ی پایه، مقدار MDA در گروه تجربی تقریباً ثابت ماند (p=۰/۹۹)؛ بااین‌حال در گروه کنترل کاهش اندکی داشت (p= ۰/۹۹) هر چند هیچ‌یک از این تغییرات در هر دو گروه، معنی‌دار گزارش نشد (نمودار شماره‌ی ۱ و ۲).

لیکن آزمون آماری T-Test نشان داد که بین دو گروه تجربی (شکلات و فعّالیت فزاینده) و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری از نظر H_2O_2 وجود دارد؛ به‌طوری‌که قبل از شروع فعّالیت فزاینده سطح H_2O_2 در گروه تجربی کمتر از گروه کنترل گزارش شد (p=۰/۰۰۴). در مراحل بعدی تحقیق یعنی بلافاصله بعد از فعّالیت (p=۰/۰۵) و یک ساعت بعد از آن (p=۰/۰۰۶) نیز گروه تجربی از مقدار H_2O_2 کمتری برخوردار بود و تمامی این اختلافات معنی‌دار گزارش گردید. در مورد MDA نیز علی‌رغم اینکه گروه تجربی (شکلات و فعّالیت ورزشی) از مقدار کمتری از آن در مقایسه با گروه کنترل (فعّالیت ورزشی) برخوردار بود لیکن اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار نبود (پایه: p=۰/۱۱۳، بعد از فعّالیت: p=۰/۲۰۶، p=۰/۴۷۰) (نمودار شماره‌ی ۱ و ۲).

علاوه بر این بررسی‌های آماری مربوط به Linear Mixed Model نشان داد که بین H_2O_2 و MDA در گروه شکلات و فعّالیت فزاینده (p=۰/۶۰)؛ و گروه فعّالیت فزاینده (p=۰/۱۱) رابطه‌ی معنی‌داری وجود ندارد. هر چند که مشخص شد به ازای هر یک واحد افزایش در H_2O_2، مقدار MDA در گروه تجربی به میزان ۰/۱۰۷ افزایش یافت. در گروه کنترل نیز به ازای هر یک واحد افزایش در H_2O_2، مقدار MDA ۰/۱۴۱ واحد افزایش داشت (جدول شماره‌ی ۲).

بحث

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر مصرف کوتاه‌مدت مصرف شکلات تلخ بر H_2O_2 و MDA متعاقب یک جلسه فعّالیت شدید فزاینده در دختران فعّال انجام شد. بررسی‌های آماری پژوهش حاضر نشان داد که فعّالیت ورزشی منجر به گسترش H_2O_2 در هر دو گروه تجربی و کنترل می‌گردد. این یافته‌ها با بررسی‌های بقایی و همکاران هم‌خوانی داشت (۱۶). آن‌ها در بررسی‌های خود مبنی بر «تأثیر یک جلسه فعّالیت شدید ورزشی بر شاخص‌های فشار اکسایشی»، افزایش آن را در هر دو گروه مرد و زن گزارش کردند. آلگروه و همکاران نیز یافته‌های مشابهی را گزارش کردند (۱۳). آن‌ها بیان کردند تمرین شدید ورزشی منجر به افزایش F2-isoprostanes و پراکسید هیدروژن در مردان ورزشکار می‌شود. پراکسید هیدروژن ترکیبی است پایدار و نفوذپذیر از غشا که نیمه‌ی عمر نسبتاً بالایی دارد. این ترکیب از طریق دیسموته شدن سوپراکساید به‌وسیله‌ی آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز تشکیل می‌شود و به‌راحتی می‌تواند از غشای دولایه‌ی میتوکندری و غشای پلاسمایی سلولی عبور کرده و وارد فضای خارج سلولی شود. پراکسید هیدروژن قادر به اکسید کردن مستقیم DNA و لیپیدها نیست و از این نظر رادیکال آزاد محسوب نمی‌شود؛ بااین‌حال به‌عنوان یک ROS می‌تواند در نظر گرفته شود، به‌طوری که از طریق واکنش فنتون و تشکیل رادیکال هیدروکسیل (OH^-)، موجب آسیب سلولی می‌شود(۱۹).

در توضیح دلایل افزایش H_2O_2 در فعّالیت‌های شدید ورزشی نیز عوامل مختلفی را می‌توان مؤثر دانست. افزایش اکسیژن مصرفی در جریان فعّالیت‌های ورزشی و تولید انرژی هوازی در زنجیره‌ی انتقال الکترونی و همچنین فعّالیت آنزیم گزانتین اکسیداز در صورت ایجاد ایسکمی پرفیوژن از دلایل احتمالی گسترش پراکسید هیدروژن در پلاسمای خون است (۲۰). از سوی دیگر کاهش توان آنتی‌اکسیدانی به دلیل حجم گسترده‌ی تولید رادیکال‌های آزاد و ROS ها از دلایل احتمالی افزایش H_2O_2 محسوب می‌شود (۲۰)؛ لیکن در تحقیق حاضر افزایش H_2O_2 در اثر فعّالیت شدید بدنی معنی‌دار نشد و

نشان‌دهنده‌ی توان آنتی‌اکسیدانی مناسب افراد ورزشکار جهت مقابله با ROS ها می‌باشد. چنانچه بقایی و همکاران نیز گزارش کردند که افراد ورزشکار به گسترش رادیکال آزاد سازگاری دارند (۱۶)؛ ولی به نظر می‌رسد که استفاده از شکلات تلخ در این زمینه می‌تواند مؤثر باشد.

علی‌رغم این، یافته‌های مربوط به تفاوت‌های بین گروهی از نظر سطح H_2O_2 نشان داد که در تمامی مراحل تحقیق و حتی قبل از شروع فعّالیت بدنی شدید، گروه شکلات تلخ از مقدار پراکسید هیدروژن کمتری برخوردار بودند. یافته‌های مختلف در این زمینه نشان داده است که شکلات تلخ به دلیل برخورداری از محتوای فنولی بالا و ترکیبات مختلف از چند طریق در کاهش H_2O_2 و یا مهار اثرات آن مؤثر می‌باشد. شکلات تلخ حاوی مقادیر بالایی از ویتامین‌ها ازجمله ویتامین‌های گروه B، ویتامین K و حاوی یون مختلفی همچون روی و منگنز است (۲۱)؛ بنابراین احتمالاً شکلات تلخ از طریق افزایش توان دیسموته کنندگی آنزیم‌های SOD-1 و SOD-2 در کاهش شکل‌گیری H_2O_2 مؤثر است (۲۲). همچنین یافته‌هایی در دست است که کاتچین قادر به مهار کردن فعّالیت NADPH Oxidase می‌باشد (۲۳). NADPH Oxidase ازجمله آنزیم‌هایی است که در افزایش H_2O_2 نقش مؤثری دارد (۲۴). از سوی دیگر به نظر می‌رسد فلاونوئیدهای موجود در شکلات تلخ مانع از تجمع پلاکت‌ها در عروق خونی می‌شوند. پلاکت‌های خونی بعد از تحریک توسط کلاژن‌ها اقدام به تولید H_2O_2 در عروق خونی می‌کنند که این عوامل نیز به نوبه‌ی خود منجر به فعّال شدن فسفولیپاز C و متابولیسم اسید آراشیدونیک و تجمع پلاکتی می‌شوند. لیکن فلانوئیدها مانع از تولید H_2O_2 از سوی پلاکت‌ها در عروق خونی می‌شوند(۲۵). همچنین یافته‌های دیگری نیز نشان می‌دهد که H_2O_2 منجر به تولید caspase-3 و به دنبال آن مرگ سلولی در فیبروبلاست‌ها و همچنین منجر به فعّال شدن مسیر JNK و p38 می‌گردد. بااین‌حال شواهدی وجود دارد که اپی کاتچین مانع از فرایندهای فوق می‌شود (۲۶).

از سوی دیگر شکلات تلخ در کاهش شاخص‌های لیپید پراکسیداسیون همچون MDA نیز مؤثر است. مالون دی آلدئید ازجمله شاخص‌های نشان‌دهنده‌ی لیپید پراکسیداسیون می‌باشد که در تحقیقات مختلفی مورد توجه قرار گرفته است و در جریان فعّالیت‌های بدنی شدید نیز افزایش آن گزارش شده است (۱). در تحقیق حاضر نیز مقدار آن هر چند به‌صورت غیر معنی‌دار، اما در هر دو گروه تجربی و کنترل افزایش یافت. لیکن در بررسی‌های بین گروهی، گروه شکلات تلخ از مقدار کمتری از آن برخوردار بودند و چندین مکانیسم در این زمینه مورد توجه است. اولین مکانیسم همچنان که بیان گردید کاهش H_2O_2 است. به دلیل اینکه H_2O_2 یکی از عوامل افزایش‌دهنده‌ی MDA در نظر گرفته شده است، هر چند در تحقیق حاضر ارتباط بین H_2O_2 و MDA معنی‌دار نشد لیکن افزایش H_2O_2 منجر به گسترش MDA شد. لذا کنترل روند تولید H_2O_2 احتمالاً در کاهش MDA مؤثر می‌باشد. همچنین مطالعات مختلفی نشان داده است که اپی کاتچین منجر به کاهش اکسایش LDL سرم می‌گردد (۱۰). نقش آنزیم paranoxase-1 در این فرایند از اهمّیت بسیاری برخوردار است. paranoxase-1 آنزیم آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش تولید MDA و همچنین کاهش پراکسیداز LDL می‌شود (۲۷). احتمالاً اپی کاتچین از طریق افزایش فعّالیت paranoxase-1 منجر به کاهش MDA می‌شود. چنانچه جایسوال و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند که کاتچین منجر به تنظیم فعّالیت paranoxase-1 و کاهش اکسایش LDL می‌گردد (۲۸). از طرف دیگر شکلات تلخ حاوی مقادیری از کافئین نیز می‌باشد (۲۹). کافئین در افزایش مصرف چربی‌های خونی از سوی میتوکندری‌ها و کاهش LDL مؤثر است (۱۲). لذا احتمالاً کاهش LDL نیز در کاستن از مقدار MDA تأثیرگذار بوده است. از سوی دیگر اثر تئوبرومین موجود در شکلات تلخ نیز از اهمیت بسیاری برخوردار است (۱۳). تئوبرومین شاخصی است که در تحریک فعّالیت SIRT1 نقش مؤثری دارد (۳۰). همچنین SIRT1[1] نیز منجر به افزایش حسّاسیت به انسولین و کاستن مقدار چربی‌های خونی و به دنبال آن کاهش لیپید پراکسیداسیون عروقی می‌شود. هر چند به‌یقین نمی‌توان بیان کرد که مصرف کوتاه‌مدت شکلات تلخ منجر به تمامی مکانیسم‌های فوق شده است، بااین‌حال با توجه به کمتر بودن مقدار MDA در گروه شکلات تلخ، مکانیسم‌های فوق دور از انتظار نیست.

[1] silent information regulator 1

نتیجه‌گیری

در نهایت یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که احتمالاً مصرف کوتاه‌مدت شکلات تلخ در کنترل روند افزایشی شاخص‌های لیپید پراکسیداسیون عروقی در جریان فعّالیت‌های فزاینده‌ی ورزشی در زنان ورزشکار مؤثر است. در بررسی‌های ما مقدار فعّالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقدار چربی‌های خونی اندازه‌گیری نشده است که پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی مورد توجه محققان قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خویش را از افراد شرکت‌کننده در پژوهش حاضر اعلام می‌دارند. این پژوهش با تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه الزهرا به شماره‌ی ۹۳/۷/۲۰۵ انجام شد. همچنین این مقاله در سایت کارآزمایی‌های بالینی باکد IRCT۲۰۱۵۰۳۱۵۲۱۴۸۱ N۱ ثبت گردیده است.

جدول شماره‌ی (۱) شاخص‌های فیزیولوژیک در دو گروه شکلات تلخ و ورزش به تنهایی

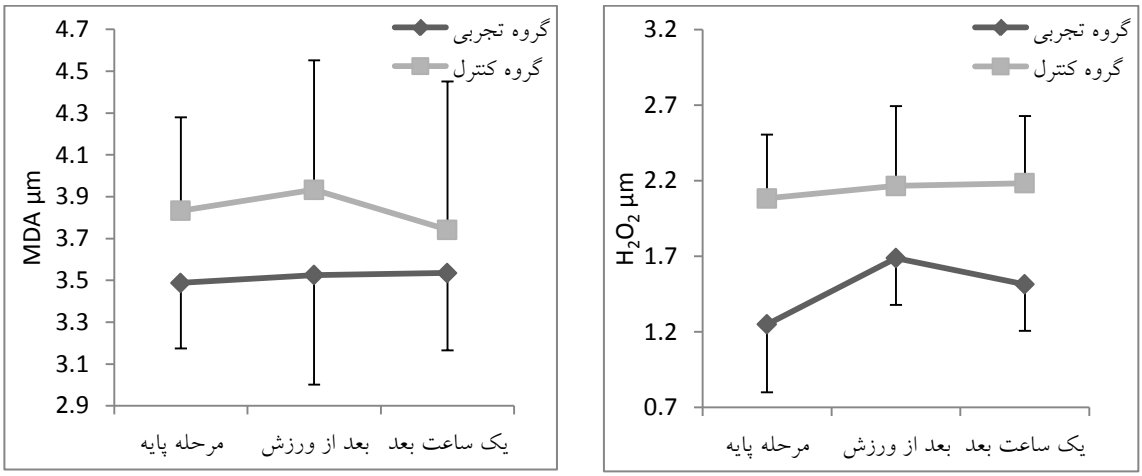
متغیر	انحراف معیار ± میانگین گروه شکلات تلخ و ورزش	انحراف معیار ± میانگین گروه ورزش به تنهایی	*P-Value Sig (p=۰/۰۵)
سن (سال)	۲۶±۴/۱۴	۲۹±۵/۱۶	۰/۸۱۶
قد (سانتی‌متر)	۱۶۶±۳/۰۹	۱۶۴±۵/۰۹	۰/۲۱۳
وزن (کیلوگرم)	۵۵±۶/۰۹	۵۸±۶/۱۴	۰/۱۳۵
شاخص توده‌ی بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۱۹/۷۳±۱/۹۹	۲۲/۰۷±۲/۰۸	۰/۳۵۴
حداکثر اکسیژن مصرفی (میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر دقیقه)	۵۶/۴۱±۲/۱۶	۵۳/۲۸±۴/۸۸	۰/۱۴۴
ضربان قلب هنگام فعّالیت (تعداد)	۱۰۲±۹/۶۳	۱۰۸/۶۶±۱۷/۳۲	۰/۵۰۸

*آزمون تی زوجی

جدول شماره‌ی (۲) ارتباط بین تغییرات H_2O_2 و MDA

پاسخ	متغیر	گروه شکلات و ورزش		گروه ورزش به تنهایی	
		برآورد	P-Value	برآورد	*P-Value
MDA(میکرومول)	H_2O_2(میکرومول)	۰/۱۰۷	۰/۶۰۲	۰/۱۴۱	۰/۱۱۸

* بر اساس Mixed Model



نمودار شماره‌ی (۱ و ۲) تغییرات MDA و H_2O_2 در مراحل مختلف

References:

1. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dynamic Medicine. 2009;8(1):1.
2. Morton JP, Kayani AC, McArdle A, Drust B. The exercise-induced stress response of skeletal muscle, with specific emphasis on humans . Sports Medicine. 2009;39(8):643-662.
3. Satoh K, Nigro P, Berk BC. Oxidative stress and vascular smooth muscle cell growth: a mechanistic linkage by cyclophilin A. Antioxidants & redox signaling. 2010;12(5):675-682.
4. Vanessa Fiorentino T, Prioletta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. Current pharmaceutical design. 2013; 19(32):5695-5703.
5. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation ,and cancer: how are they linked? Free Radical Biology and Medicine. 2010;49(11):1603-1616.
6. Gomes EC, Silva AN, Oliveira MRd. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. Oxidative medicine and cellular longevity. 2012;2012.
7. Goodenough C, Levers K, Dalton R, Galvan E, O'Connor A, Simbo S, et al. Powdered tart cherry supplementation mitigates the post-exercise immune response with reduction in total antioxidant status and serum triglyceride levels following an acute bout of intense endurance exercise. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2014;11(1): 34.
8. Petry ÉR, Cruzat VF, Heck TG, Leite JSM, de Bittencourt PIH, Tirapegui J. Alanyl-glutamine and glutamine plus alanine supplements improve skeletal redox status in trained rats: involvement of heat shock protein pathways. Life sciences. 2014;94(2):130-136.
9. Radák Z, Silye G, Bartha C, Jakus J, Stefanovits-Bányai É, Atalay M, et al. The effects of cocoa supplementation, caloric restriction, and regular exercise, on oxidative stress markers of brain and memory in the rat model. Food and Chemical Toxicology.2013;61:36-41.
10. Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T, et al. Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. The American journal of clinical nutrition. 2007;85(3):709-717.
11. Galleano M, Oteiza PI, Fraga CG . Cocoa,chocolate and cardiovascular disease. Journal of cardiovascular pharmacology. 2009;54(6):483.
12. Desch S, Kobler D, Schmidt J, Sonnabend M, Adams V, Sareban M, et al. Low vs. higher-dose dark chocolate and blood pressure in cardiovascular high-risk patients. American journal of hypertension. 2010;23(6):694-700.
13. Allgrove JE, Farrell E, Gleeson M, Williamson G, Cooper K. Regular dark chocolate consumption's reduction of oxidative stress and increase of free-fatty-acid mobilization in response to prolonged cycling. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2011;21(2):113-123.

14. Davison G, Callister R, Williamson G, Cooper KA, Gleeson M. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. European journal of nutrition. 2012;51(1):69-79.
15. Tartibian B, Baghaiee B, Baradaran B. Effect of oxidants on the mitochondrial superoxide dismutase enzyme gene expression in active men and women: influenced by intensive aerobic exercise. Razi Journal of Medical Sciences. 2014;20(116):78-87.
16. Baghaiee B, Tartibian B, Baradaran B. The relationship between total antioxidant status with creatine phosphokinase and hydrogen peroxide in the athlete girls; influenced by acute exercise training. Razi Journal of Medical Sciences. 2012;19(95):35-43.
17. Peschek K, Pritchett R, Bergman E, Pritchett K. The effects of acute post exercise consumption of two cocoa-based beverages with varying flavanol content on indices of muscle recovery following downhill treadmill running. Nutrients. 2013;6(1):50-62.
18. Masume Kazemi SMM, Ahmad Movahedian Attar, Mona Haghighatian, Zeinab Rezaee. The effect of acute exercise on total antioxidant capacity and hydrogen peroxide in male Wistar rats. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2014;2(3):29-37.
19. Amantea D, Marrone MC, Nistico R, Federici M, Bagetta G, Bernardi G, et al. Oxidative stress in stroke pathophysiology validation of hydrogen peroxide metabolism as a pharmacological target to afford neuroprotection. International review of neurobiology. 2009; 85:363-374.
20. Thompson-Gorman SL, Zweier JL. Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. Journal of Biological Chemistry. 1990;265 (12):6656-63.
21. Haritha K, Kalyani L, Rao AL. Health Benefits of Dark Chocolate. Journal of Advanced Drug Delivery. 2014;1(4):184-94.
22. Jalil AMM, Ismail A, Pei CP, Hamid M, Kamaruddin SHS. Effects of cocoa extract on glucometabolism, oxidative stress , and antioxidant enzymes in obese-diabetic (Ob-db) rats. Journal of agricultural and food chemistry. 2008;56(17):7877-7884.
23. Pignatelli P, Di Santo S, Buchetti B, Sanguigni V, Brunelli A, Violi F. Polyphenols enhance platelet nitric oxide by inhibiting protein kinase C-dependent NADPH oxidase activation: effect on platelet recruitment. The FASEB journal. 2006;20(8):1082-1089.
24. Stanicka J, Russell EG, Woolley JF, Cotter TG. NADPH Oxidase-generated Hydrogen Peroxide Induces DNA Damage in Mutant FLT3-expressing Leukemia Cells. Journal of Biological Chemistry. 2015;290(15):9348-9361.
25. Santhakumar AB, Bulmer AC, Singh I. A review of the mechanisms and effectiveness of dietary polyphenols in reducing oxidative stress and thrombotic risk. Journal of Human Nutrition and Dietetics. 2014;27(1):1-21.
26. Tanigawa T, Kanazawa S, Ichibori R, Fujiwara T, Magome T, Shingaki K, et al. (+)-Catechin protects dermal fibroblasts against oxidative stress-induced apoptosis.

BMC complementary and alternativ medicine.2014;14(1): 133.

27. Mohamadin AM, Habib FA, Elahi TF. Serum paraoxonase 1 activity and oxidant/antioxidant status in Saudi women with polycystic ovary syndrome. Pathophysiology. 2010;17(3):189-196.
28. Jaiswal N, Rizvi SI. Onion extract (Allium cepa L.), quercetin and catechin up-regulate paraoxonase 1 activity with concomitant protection against low-density lipoprotein oxidation in male Wistar rats subjected to oxidative stress. Journal of the science of food and agriculture. 2014; 94(13) :2752-2757.
29. Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, et al. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. The Journal of nutrition. 2008;138(9):1671-1676.
30. Papadimitriou A, Silva KC, Peixoto EB, Borges CM, de Faria JML, de Faria JBL. Theobromine increases NAD+/Sirt-1 activity and protects the kidney under diabetic conditions. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2015;308(3):209–225.

Original Article

The effect of short term dark chocolate supplementation pre-incremental exercise on vascular lipid peroxidation in active young girls

Dowlat Abadi Farahani N[1*], Shemshaki A[2], Baghaiee B[3], Molanouri Shamsi M[4], Hedayati M[5]

1. MS in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Alzahra University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Alzahra University, Tehran, Iran.
3. PhD student in Exercise Physiology in field of Cardiovascular & Respiration, Department of Physical Education and Sport Science, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.
4. Assistant Professor in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
5. Associate Professor in Biochemistry, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 21 April, 2015؛ Accepted: 30 Auggust, 2015

Abstract

Introduction: Oxidative stress is considered as one of the factors that can damage tissues. The aim of this study was to investigate the effect of short term dark chocolate supplementation pre-incremental exercise on vascular lipid peroxidation in active young girls.

Methods: This is a semi-experimental study. 16 active girls in two groups of experimental (dark chocolate supplementation) and control (avoiding the use of chocolate) participated in this study after completing consent forms. Experimental group consumed dark chocolate (80 grams per day) three days before exercise. After that, the two groups participated in a session of incremental exercise. Venous blood samples were taken in three stages for measurement of H_2O_2 and MDA concentration; prior to exercise test, immediately and 1 hour after exercise.

Results: MDA and H_2O_2 concentration in both groups had no significant changes after incremental exercise and recovery in comparing to basal state (intra group comparison) ($p \geq 0.05$). But experimental group compared to control group had a lower H_2O_2 level in three stages of basal state (experimental: 1.25±0.45, control: 2.08±0.42) (p=0.004), after exercise (experimental: 1.68±0.30, control: 2.16±0.52) (p=0.05) and recovery (experimental: 1.51±0.30, control: 2.18±0.44) (p=0.006).

Conclusion: Short term dark chocolate supplementation maybe effective in controlling the upward trend of the lipid peroxidation during incremental exercise in young active girls.

Key words: Exercise, Dark chocolate, Girls.

*Corresponding author: E.mail: Nasibeh_6@yahoo.com