Journal of Sport and Exercise Physiology
2024, 17(4): 15-33

Orginal Article

The effect of quercetin supplementation on the responses of sirtuin-1, brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 to high intensity interval exercise and continuous exercise in female athletes

Elham Ghasemi [1*], Shila Nayebifar[2]

1. Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Humanities, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Abstract

Background and Purpose: Nowadays, physical exercise and using the food supplements containing flavonoids are considered as the main drivers of positive regulation of nerve growth factors and improvement of neuromuscular function. Quercetin is one of the plant flavonoids that crosses the blood-brain barrier and plays an effective role in improving brain health. The aim of this research was to investigate the effect of quercetin supplementation on the responses of sirtuin-1 (SIRT-1), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) to high intensity interval exercise and continuous exercise in female athletes.

Materials and Methods: This is a semi-experimental, double-blind, applied research with a pre-and post-test design. Forty female athletes from Zabol University with sports experience between one and three years (Mean±SD; age, 21.3±61.0 years; body mass index, 21.79±3.12 kg/m^2) were selected and randomly divided into equal groups (n=10) including: 1) high intensity interval exercise + quercetin, 2) continuous exercise + quercetin, 3) high intensity interval exercise + placebo and 4) continuous exercise + placebo. At the beginning and at the end of 14 days, the participants performed a session of continuous exercise (at 60% of VO_2max) and an interval exercise (4 intervals of 4 minutes activity at 90% of VO_2max followed by 3 minutes recovery) and during these 14 days, the supplement and placebo groups consumed two 500 mg capsules of either quercetin or dextrose daily. Fasting blood sampls were collected at four stages, before and immediately after the first and second acute exercise (prior to and at the end of 14 days of supplementation, respectively) and analysed for measuring SIRT-1, BDNF and IGF-1 by using ELISAtechnique. Statistical analyses of the data were performed using the analysis of variance with repeated measures and Bonferroni post-hoc test.

Results: After high intensity interval and continuous exercises SIRT-1, BDNF, and IGF-1 increased significantly (P<0.001). After 14 days of quercetin consumption, the responses of SIRT-1, BDNF, and IGF-

* Corresponding Author's E-mail: elhamghasemi@uoz.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.236069.1269
Received: 19/06/2024 Revised: 20/08/2024 Accepted: 05/09/2024

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1 to acute high intensity interval and continuous exercises increased significantly (P<0.01). However, no significant differences were observed between the responses of SIRT-1 (P=0.14), BDNF (P=0.32) and IGF-1 (P=0.16) to high intensity interval and continuous exercises.

Conclusion: It seems that short-term quercetin supplementation increases the baseline levels and responses of SIRT-1, BDNF and IGF-1 indices to high intensity interval and continuous exercises in female athletes, and probably stimulate nerve growth and improve neuromuscular function, though, two types of high-intensity interval and continuous exercises did not make a difference in the response of these variables, which requires further study in this field.

Keywords: Interval exercise, Continuous exercise, Quercetin, Neurotrophic factors, Cell apoptosis

How to cite this article: Ghasemi E, Nayebifar Sh. The effect of quercetin supplementation on the responses of sirtuin-1, brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 to high intensity interval exercise and continuous exercises in female athletes. J Sport Exerc Physiol. 2024;17(4):15-33.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۳، دوره ۱۷، شماره ۴، صفحه‌های ۱۵-۳۳

مقاله پژوهشی

تأثیر مکمل‌دهی کوئرستین بر پاسخ سیرتوئین-۱، عامل نوتروفیک مشتق از مغز و عامل رشد شبه‌انسولینی-۱ به فعالیت تناوبی با شدت بالا و فعالیت تداومی در دختران ورزشکار

الهام قاسمی[1*]، شیلا نایبی فر[2]

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکدۀ ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، دانشکدۀ علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: امروزه فعالیت ورزشی و استفاده از مکمل‌های غذایی حاوی فلاونوئید به‌عنوان محرک‌های اصلی تنظیم مثبت عوامل رشد عصبی و بهبود عملکرد عصبی- عضلانی مورد توجه قرار گرفته است. کوئرستین یکی از فلاونوئیدهای گیاهی است که از سد خونی مغزی عبور می‌کند و نقش مؤثری در بهبود سلامت مغز دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر مکمل‌دهی کوئرستین بر پاسخ سیرتوئین-۱ (SIRT-1)، عامل نوتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و عامل رشد شبه‌انسولینی-۱ (IGF-1) به فعالیت حاد تناوبی با شدت بالا و تداومی در دختران ورزشکار بود.

مواد و روش‌ها: این تحقیق نیمه‌تجربی دوسوکور و از نوع کاربردی با طرح پیش‌آزمون ــ پس‌آزمون است. ۴۰ دختر جوان ورزشکار از دانشگاه زابل با داشتن سابقۀ ورزشی بین یک تا سه سال (میانگین سن ۶۱/۰۳±۲۱/۳ سال، شاخص تودۀ بدن ۳/۱۲±۲۱/۷۹ کیلوگرم در متر مربع) به روش نمونه‌گیری هدفمند انتخاب شدند و به‌طور تصادفی در گروه‌های مساوی شامل فعالیت تناوبی+کوئرستین، فعالیت تداومی+ کوئرستین، تناوبی+دارونما و تداومی+دارونما قرار گرفتند. آزمودنی‌ها در ابتدا و انتهای ۱۴ روز یک وهله فعالیت تداومی (با ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه (VO2max)) و تناوبی با شدت بالا (اجرای چهار تناوب چهاردقیقه‌ای با ۹۰ درصد VO2max) را اجرا کردند و در طول این ۱۴ روز نیز گروه‌های مکمل و دارونما، روزانه (دو نوبت) دو کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی کوئرستین و دکستروز مصرف کردند. خون‌گیری به‌صورت ناشتا در چهار مرحله ابتدا (پیش و بلافاصله پس از فعالیت حاد اول) و انتهای ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین (پیش و بلافاصله پس از فعالیت حاد دوم) برای سنجش SIRT-1، BDNF و IGF-1 به روش الایزا انجام گرفت. تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس دوراهه با اندازه‌گیری مکرر و تعقیبی بنفرونی انجام گرفت.

نتایج: پس از فعالیت تداومی و تناوبی پاسخ SIRT-1، BDNF وIGF-1 افزایش معنادار (P≤۰/۰۰۱) یافت. همچنین پس از ۱۴ روز مصرف کوئرستین، میزان پاسخ فزایندۀ SIRT-1، BDNF وIGF-1 به فعالیت حاد تناوبی با شدت بالا و تداومی بیشتر و معنادار (P≤۰/۰۱) بود. اما تفاوت بین پاسخ SIRT-1 (P=۰/۱۴)، BDNF (P=۰/۳۲) وIGF-1 (P=۰/۱۶) به دو فعالیت حاد تداومی و تناوبی معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد مکمل‌دهی کوتاه‌مدت کوئرستین سبب افزایش سطوح پایه و پاسخ شاخص‌های SIRT-1، BDNF و IGF-1به دو نوع فعالیت حاد تداومی و تناوبی با شدت بالا در دختران ورزشکار می‌شود و ازاین‌رو شاید در تحریک رشد عصبی و بهبود عملکرد عصبی- عضلانی تأثیر بگذارد. اما دو نوع فعالیت تداومی و تناوبی با شدت بالا تفاوتی در پاسخ این شاخص‌ها ایجاد

* رایانامه نویسنده مسئول: elhamghasemi@uoz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۵

نکرد که نیازمند مطالعهٔ بیشتر در این زمینه است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت تناوبی، فعالیت تداومی، کوئرستین، عوامل نروتروفیک، آپوپتوز سلولی

نحوه استناد به این مقاله: قاسمی ا، نایبی فر ش. تأثیر مکمل‌دهی کوئرستین بر پاسخ سیرتوئین-۱ (SIRT-1)، عامل نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و عامل رشد شبه‌انسولینی-۱ (IGF-1) به فعالیت حاد تناوبی با شدت بالا و تداومی در دختران ورزشکار. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۳؛۱۷(۴):۱۵-۳۳.

مقدمه

فعالیت ورزشی محرک اصلی ایجاد سازگاری‌های عملکردی و متابولیک در دستگاه عصبی- عضلانی و مؤثرترین راهبرد غیردارویی برای بهبود سلامت مغز به‌شمار می رود. این تأثیرات مثبت فعالیت بدنی را می‌توان به افزایش در نوروژنز و فرایندهای نوروپلاستیک نسبت داد که به بهبود یادگیری و عملکرد حرکتی منجر می‌شود (۱). با این همه، برخی یافته‌های پیشین گزارش کرده‌اند انجام فعالیت‌های ورزشی شدید و حاد در بلندمدت به تولید بنیان‌های آزاد و متعاقب آن، آسیب‌های ناشی از فشار اکسایشی مانند آپوپتوز سلولی منجر می‌شود (۲، ۳). بر اساس یافته‌های جدید، آپوپتوز سلول‌های مغزی را می‌توان به‌واسطهٔ افزایش بیان سیرتوئین-۱ [۱](SIRT-1) تنظیم و مهار کرد (۴). SIRT-1 یک داستیلاز اصلی وابسته به نیکوتین آمید [۲](NAD^+) است که نقش‌های وسیع شناخته‌شده‌ای در محافظت عصبی، شکل‌پذیری سیناپسی و عملکرد شناختی دارد و بیشتر با شرایط پاتولوژیکی عصبی که یادگیری و حافظه را تخریب می‌کند، مقابله می‌کند (۵). در پژوهشی گزارش شد موش‌هایی که SIRT-1 آن‌ها تخریب شده بود، به‌طور عمده در شکل‌پذیری سیناپسی نقص داشتند؛ آزمایش‌های رفتاری نشان داد که حافظهٔ کوتاه‌مدت و بلندمدت و همچنین یادگیری فضایی این موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل معیوب می‌شود (۶). SIRT-1می‌تواند شکل‌پذیری سیناپسی را از طریق تنظیم عامل نوروتروفیک مشتق از مغز [۳](BDNF) افزایش دهد (۵، ۷). BDNF واسطهٔ نوروبیولوژی، نوروپلاستیسیته و سوخت‌وساز انرژی در دستگاه‌های مرکزی و محیطی است (۷، ۸). بیشتر شواهد موجود نشان داده‌اند BDNF می‌تواند توانایی شناختی هر دو مدل حیوانی و انسانی را بهبود بخشد (۸، ۹). پژوهش‌های بی‌شماری به همبستگی بین SIRT-1 و BDNF اشاره کرده‌اند (۵، ۷، ۱۰). SIRT-1 می‌تواند از چندین مسیر پیام‌رسانی مانند تنظیم گیرندهٔ فعال‌کنندهٔ تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم فعال‌ساز ۱ آلفا [۴](PGC-1α) و فیبرونکتین نوع- ۳ حاوی پروتئین- ۵ [۵](FNDC5) و همچنین به‌واسطهٔ فعال کردن عامل رونویسی پروتئین متصل به عنصر پاسخ cAMP [۶](CREB) و راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی-SIRT 1/CREB/BDNFبر سطح BDNF تأثیرگذار باشد (۵، ۱۰). افزون بر این، گزارش شده است SIRT-1 می‌تواند شکل‌پذیری سیناپسی، چگالی سیناپسی و در نهایت نوروژنز را به‌واسطهٔ افزایش عامل رشد شبه‌انسولینی- ۱ [۷](IGF-1) بهبود بخشد (۱۱). IGF-1 یک پپتید میانجی‌گر اصلی عمل هورمون رشد است و می‌تواند به تحریک تکثیر سلولی، مهار آپوپتوز و القای تومورزایی منجر شود (۱۱، ۱۲). جالب آنکه ثابت شده است که افزایش بیان IGF-1 می‌تواند سطح BDNF را در هیپوکامپ افزایش دهد (۱۲، ۱۳).

یافته‌های پژوهش‌های پیشین گزارش کرده‌اند تمرینات منظم ورزشی و فعالیت‌های حاد، به‌ترتیب سبب ایجاد سازگاری‌ها و پاسخ‌های متفاوتی در دستگاه عصبی و عضلانی می‌شود (۸، ۱۴). فعالیت‌های ورزشی منظم از طریق تنظیم SIRT-1 و شاید پس از آن تنظیم BDNF وIGF-1 سبب شکل‌پذیری و نروژنز در سلول‌های عصبی می‌شود (۸، ۱۵)، اما هنوز پاسخ و میزان فعال‌سازی یا تحریک این شاخص‌ها پس از فعالیت‌های حاد و شدید به‌طور روشن مشخص نیست. برخی یافته‌های گزارش کرده‌اند در شرایط دمایی طبیعی، مدت و حجم فعالیت ورزشی سبب ایجاد فشار اکسایشی و آپوپتوز سلول می‌شود، درحالی‌که برخی یافته‌ها از بیشتر بودن آسیب اکسایشی و آپوپتوز سلول‌های عصبی پس از فعالیت تناوبی شدید به‌دلیل شدت بالا و تشدید محدودیت خون‌رسانی حکایت دارند (۱۶، ۱۷).

با اینکه بررسی تأثیرات تمرینات مزمن بر سطوح این شاخص‌ها، یافته‌های اندک با نتایج متناقضی، دربارۀ تأثیر فعالیت‌های حاد و شدید به‌ویژه فعالیت‌های تداومی و تناوبی انجام شده است. در همین زمینه چو و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند پس از یک وهله فعالیت متوسط (۶۵ درصد VO_2max) و یک وهله فعالیت شدید (۸۵ درصد VO_2max) سطح SIRT-1 در مردان جوان افزایش یافت (۱۸). درحالی‌که قاسمی و همکاران (۲۰۲۰) عدم افزایش معنادار این شاخص را پس از فعالیت حاد تناوبی شدید (آزمون وینگیت) در زنان دارای اضافه‌وزن گزارش کردند (۱۹). افزون بر این، حبیبیان و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی تأثیر فعالیت تداومی با دو شدت متوسط و شدید در مردان دونده بیان کردند پاسخ پلاسمایی BDNF در ورزشکاران تحت تأثیر شدت فعالیت قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که فعالیت با شدت بالا سبب افزایش بیشتر پاسخ این شاخص نسبت به فعالیت با شدت متوسط شد، اما پاسخ IGF-1 به دو شیوه فعالیت حاد با شدت بالا و متوسط تفاوت معناداری نشان نداد (۲۰). بنابراین با توجه به تناقض یافته‌هایی که به بررسی پاسخ شاخص‌های SIRT-1، BDNF وIGF-1 به فعالیت‌های حاد پرداخته‌اند و همچنین نبود دانش کافی دربارۀ مقایسۀ پاسخ این شاخص‌ها به یک وهله فعالیت تداومی و تناوبی شدید، اجرای پژوهش‌های بیشتر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد.

از سوی دیگر، امروزه دیده می‌شود که یکی از بهترین و مؤثرترین راهکارها برای بهبود عملکرد عصبی -عضلانی به‌ویژه در ورزشکاران حرفه‌ای، استفاده از مکمل‌ها به‌ویژه مکمل‌های ضداکسایشی است. کوئرستین یکی از فلاونوئیدهای گیاهی است که خاصیت ضداکسایشی، ضدسرطانی، ضدویروسی و ضدالتهابی دارد و می‌تواند از سد خونی مغزی عبور کند. این ماده استفادۀ دارویی نیز دارد و می‌توان از آن برای پیشگیری و درمان بیماری‌های انحطاط نورونی، اختلالات شناختی و بهبود حافظه و یادگیری نیز استفاده کرد (۲۱، ۲۲). در همین زمینه ژنگ و همکاران (۲۰۲۰) افزایش بیان SIRT-1 پس از مصرف دو هفته مکمل کوئرستین (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز) را در موش‌های چاق مبتلا به دیابت گزارش کردند (۲۳). همچنین اسگرو و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند مصرف ۱۴ روز کوئرستین (یک گرم در روز) در مردان جوان سالم سبب افزایش IGF-1 پس از یک وهله فعالیت حاد برون‌گرا می‌شود (۲۲). درحالی‌که در پژوهش کربلایی صادقی روی موش‌های مبتلا به سرطان کولون گزارش شد مصرف کوئرستین (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز) تغییر معناداری در سطح BDNF هیپوکمپ موش‌ها ایجاد نکرد (۲۴). بیشتر یافته‌ها در زمینۀ اثربخشی کوئرستین بر عوامل مؤثر در عملکرد مغز روی حیوان یا آزمودنی‌های بیمار صورت گرفته و تأثیر آن در افراد فعال بررسی نشده است. بنابراین اجرای پژوهش‌های انسانی بیشتر دربارۀ بررسی تأثیرات این مکمل در کوتاه‌مدت با هدف شناسایی دوزهای اثرگذار بر شاخص‌های مؤثر بر سلامت مغز و عملکرد عصبی-عضلانی ضروری به‌نظر می‌رسد.

با توجه به گرایش و تمایل ورزشکاران حرفه‌ای دربارۀ یافتن شیوه‌ها و پروتکل‌های تمرینی و غذایی برای رسیدن به اهداف تمرین در کمترین زمان، بررسی چگونگی تأثیر مکمل‌های اثرگذار و در دسترس مانند کوئرستین بر پاسخ شاخص‌های عصبی به فعالیت‌های حاد با شدت‌ها و شیوه‌های متفاوت (تداومی و تناوبی) می‌تواند به‌عنوان راهکار بهبود عملکرد ورزشی برای ورزشکاران مورد توجه قرار بگیرد. بنابراین در پژوهش پیش‌رو محقق قصد دارد تا به بررسی اثر مکمل‌دهی کوتاه‌مدت کوئرستین بر پاسخ SIRT-1، BDNF و IGF-1به یک وهله فعالیت حاد تناوبی با شدت بالا و تداومی در دختران ورزشکار بپردازد.

روش پژوهش

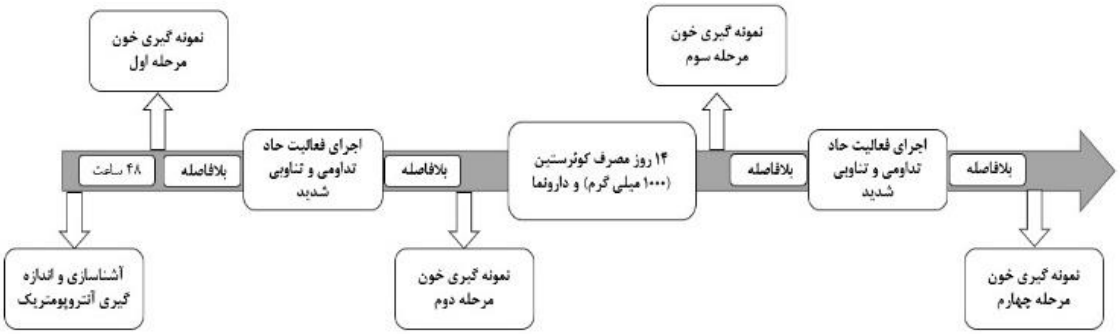
نمونه‌های پژوهش: پژوهش حاضر، نیمه‌تجربی دوسوکور و از نوع کاربردی با طرح پیش‌آزمون ـ پس‌آزمون است. پس از اعلام فراخوان در سطح دانشگاه زابل، ۴۰ دانشجوی دختر ورزشکار واجد شرایط به‌صورت هدفمند انتخاب شدند و به‌طور تصادفی در چهار گروه مساوی ۱۰ نفره شامل گروه‌های تناوبی + کوئرستین، تداومی + کوئرستین، تناوبی + دارونما، و تداومی + دارونما قرار گرفتند. حجم نمونه با نرم‌افزار جی پاور نسخهٔ ۳.۱.۹.۴ و بر اساس آزمون مورد استفاده در پژوهش (آزمون تحلیل واریانس دوراهه با اندازه‌گیری تکراری) با توان آماری ۸۰ درصد، سطح خطا ۰/۰۵ درصد و اندازهٔ اثر ۰/۳۸ درصد، ۴۰ نفر تعیین شد. استفاده از اندازهٔ اثر ۰/۳۸ (اندازهٔ اثر متوسط) بر اساس اندازهٔ اثر گزارش‌شده در نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات پیشین است (۲۵). معیارهای ورود به پژوهش، شامل سن در محدودهٔ ۲۰ تا ۳۰ سال، دارا بودن شاخص تودهٔ بدنی کمتر از ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع، داشتن سابقهٔ ورزشی بین یک تا سه سال با دست‌کم سه وهله در هفته، قاعدگی منظم، نبود آسیب بدنی در زمان آغاز پژوهش، عدم مصرف هرگونه مکمل مجاز و غیرمجاز، نداشتن بیماری مزمن و ساکن خوابگاه بودن (به‌سبب مشابهت تقریبی تغذیه) بود. همچنین عدم تمایل به همکاری، مصرف نامنظم مکمل یا مبتلا شدن به بیماری خاص یا هرگونه مداخلهٔ درمانی به‌عنوان معیارهای خروج لحاظ شد که در طول اجرای روش پژوهش، هیچ‌کدام از آزمودنی‌ها حذف نشدند. این تحقیق با شناسهٔ IR.SSRC.REC.1402.068 به تصویب کمیتهٔ اخلاق در پژوهش زیست‌پزشکی پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی (تهران، ایران) رسیده است.

روش اجرای پژوهش: اطلاعات و آگاهی لازم دربارهٔ اهداف تحقیق، چگونگی انجام پژوهش و مراحل آن به افراد ارائه و برگهٔ رضایت‌نامهٔ کتبی شرکت در پژوهش دریافت شد. سپس پرسشنامهٔ فعالیت بدنی (PAR-Q)[۸] به‌منظور اطلاع از عدم محدودیت پزشکی برای شرکت در فعالیت ورزشی و پرسشنامهٔ یادآمد غذایی ۲۴ ساعته جهت کنترل تغذیهٔ آزمودنی‌ها تکمیل شد. برای کنترل تغذیهٔ آزمودنی‌ها شرکت‌کنندگان پرسشنامهٔ غذایی را در دو روز ابتدا و انتهای پژوهش تکمیل کردند. همچنین برای تعیین نوع و حجم غذای مصرفی آلبوم مواد غذایی در اختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. مقادیر یادشده مواد غذایی مصرفی با استفاده از راهنمای مقیاس‌های خانگی به گرم تبدیل شده و سپس هر غذا مطابق دستورالعمل برنامهٔ نرم‌افزار پردازش غذا[۹] کدگذاری و میزان انرژی و مواد مغذی آن تحلیل شد. بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس تفاوت معناداری بین گروه‌ها در میزان درشت‌مغذی‌ها و کالری دریافتی دیده نشد ($P>0/05$). همچنین قد و وزن به‌ترتیب به‌وسیلهٔ قدسنج دیواری (شرکت سکا[۱۰] آلمان، حساسیت پنج میلی‌متر) و ترازوی دیجیتال (شرکت سکا آلمان، حساسیت ۰/۰۱ کیلوگرم) اندازه‌گیری شد. درصد چربی آزمودنی‌ها نیز توسط کالیپر و به‌صورت اندازه‌گیری سه‌نقطه‌ای انجام گرفت. نقاط موردنظر برای اندازه‌گیری شامل سه‌سربازو، ران و فوق‌خاصره بود و در نهایت درصد چربی با استفاده از فرمول جکسون و پولاک (۱۹۸۵) برآورد شد (۲۶). به‌منظور افزایش دقت، تمامی اندازه‌گیری‌ها از سمت راست بدن صورت گرفت. اکسیژن مصرفی بیشینه (VO_2max)[۱۱] نیز با آزمون بیشینه بروس روی نوار گردان و با استفاده از فرمول زیر برآورد شد (۲۷):

۳/۹- (زمان کل به دقیقه و کسری از ثانیه ×۴/۳۸)=حداکثر اکسیژن مصرفی زنان

در پژوهش حاضر، فعالیت حاد شامل یک وهله فعالیت ورزشی حاد تداومی و تناوبی بود که آزمودنی‌ها در ابتدا و انتهای یک دورهٔ ۱۴ روزه مکمل یا دارونما دریافت کردند (شکل ۱). فعالیت تداومی شامل ۴۰ دقیقه دویدن روی نوار گردان با شدت ۶۰ درصد

VO_2max و فعالیت تناوبی شدید نیز شامل پنج دقیقه دویدن روی نوار گردان با شدت ۶۰ درصد VO_2max و سپس اجرای چهار تناوب چهاردقیقه‌ای با شدت ۹۰ درصد VO_2max و استراحت بین هر تناوب به‌صورت فعال و به مدت سه دقیقه با شدت ۶۰ درصد VO_2max بود. گرم و سرد کردن در ابتدا و انتهای هر دو فعالیت به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت (۲۸). برای کنترل شدت فعالیت، از مقیاس درک فشار بورگ (RPE)[۱۲] (شدت ۹۰ درصد VO_2max در محدودهٔ RPE ۱۸-۱۷ و شدت ۶۰ درصد در محدودهٔ RPE۱۳-۱۲) و محاسبهٔ ضربان قلب بیشینه با استفاده از ضربان‌سنج پولار ساخت فنلاند و بر اساس فرمول (سن - ۲۲۰ = ضربان قلب بیشینه) (شدت ۹۰ درصد VO_2max معادل با ۹۵ درصد ضربان قلب بیشینه و شدت ۶۰ درصد VO_2max معادل با ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه) استفاده شد (۲۹).



شکل ۱. طرحوارهٔ پژوهش

با توجه به دوسوکور بودن پژوهش، بسته‌های دارای مکمل و دارونما، توسط فردی غیر از پژوهشگر علامت‌گذاری شدند تا عدم اطلاع پژوهشگر و آزمودنی‌ها از نوع کپسول‌های دریافتی مراعات شود. مصرف مکمل و دارونما نیز زیر نظر همان فرد انجام گرفت. در گروه‌های مصرف‌کنندهٔ کوئرستین پس از آغاز پژوهش، در هر روز دو کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی کوئرستین (روزانه ۱۰۰۰ میلی‌گرم) (۳۰، ۳۱)، و در گروه‌های دارونما دو کپسول دکستروز به‌صورت روزانه در وعده‌های صبح و شام به مدت ۱۴ روز تجویز شد. کپسول‌های کوئرستین از شرکت پارس حیان ساخت ایران و دارونما از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی تهیه شد. از آزمودنی‌ها خواسته شد در دورهٔ اجرای پژوهش از ایجاد هرگونه تغییر در فعالیت بدنی و رژیم غذایی بپرهیزند.

روش‌های آزمایشگاهی: نمونه‌گیری خون در چهار مرحله، ابتدا (پیش (مرحلهٔ ۱) و بلافاصله پس از فعالیت اول (مرحلهٔ ۲)) و انتهای ۱۴ روز مکمل‌دهی (پیش (مرحلهٔ ۳) و بلافاصله پس از فعالیت دوم (مرحلهٔ ۴)) متعاقب ناشتایی ۱۲ ساعته و پس از خواب شبانهٔ کافی (دست‌کم ۸ ساعت)، در ساعت ۸-۹ صبح در سالن ورزشی دانشگاه زابل توسط کارشناس آزمایشگاه پاتوبیولوژی انجام گرفت. با توجه به احتمال اثرگذاری چرخهٔ قاعدگی بر شاخص‌های پژوهش، آزمودنی‌هایی با چرخهٔ قاعدگی منظم (دورهٔ ۲۷ تا ۳۲ روز) انتخاب و به‌گونه‌ای برنامه‌ریزی شد که انجام فعالیت ورزشی (۱۴ روز مکمل‌دهی و خون‌گیری) در بازهٔ زمانی دورهٔ لوتئال افراد باشد. در هر مرحلهٔ نمونه‌گیری، مقدار پنج میلی‌لیتر خون در حالت نشسته از ورید ناحیهٔ ساعد از آزمودنی‌ها گرفته شد و به

لوله‌های فاقد مادۀ ضدانعقادی منتقل شد. نمونه‌های خونی پس از لخته شدن در دمای اتاق، به‌منظور جداسازی پلاسما با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شدند و نمونه‌های دریافتی در دمای منفی ۸۰ درجۀ سانتی‌گراد نگهداری شد. مقادیر پلاسمایی BDNF و SIRT-1 با استفاده از کیت زل بایو[13] ساخت آلمان با حساسیت به‌ترتیب کمتر از ۶/۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. همچنین از کیت ایست بیوفارم[14] ساخت چین با حساسیت ۰/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای اندازه‌گیری مقادیر پلاسمایی IGF-1 استفاده شد. همۀ اندازه‌گیری‌ها به روش الایزا انجام گرفت.

روش‌های آماری: طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس متغیرهای پژوهش از طریق آزمون لون تأیید شد. در ادامه برای توصیف داده‌ها، از روش‌های آمار توصیفی (شامل میانگین و انحراف استاندارد) و به‌منظور بررسی تغییرات درون‌گروهی و بین‌گروهی متغیرهای وابسته، از آزمون تحلیل واریانس دوراهه با اندازه‌گیری تکراری و تعقیبی بنفرونی استفاده شد. تمام محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار SPSS نسخۀ ۲۰ و در سطح معناداری P<۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج

ویژگی‌های فردی و جمعیت‌شناختی آزمودنی‌ها در گروه‌های پژوهش در جدول ۱ نمایش داده شده است. مطابق با یافته‌های آزمون تحلیل واریانس یکراهه، بین ویژگی‌های فردی آزمودنی‌های پژوهش در ابتدای پژوهش اختلاف معناداری از دید آماری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

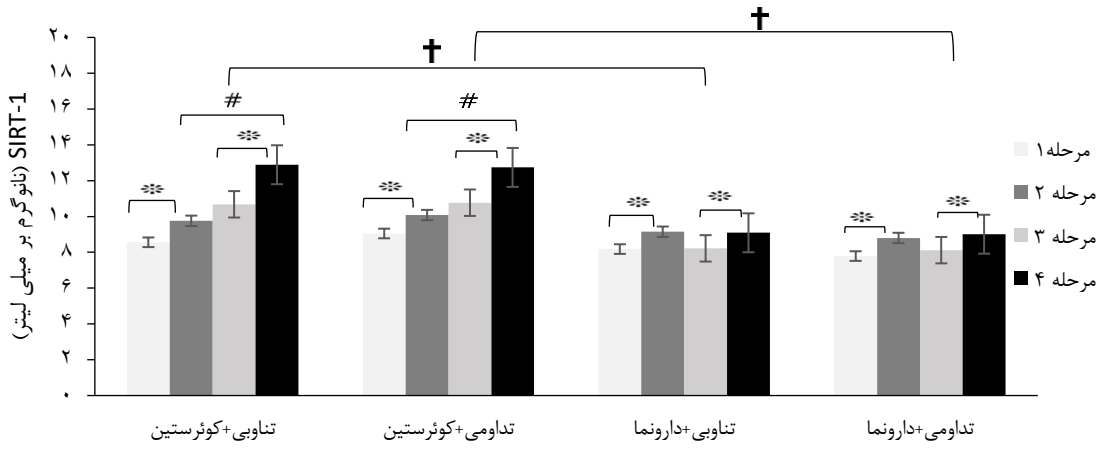
جدول ۱. ویژگی‌های جمعیت‌شناختی آزمودنی‌های پژوهش در ابتدای مطالعه

متغیر	مکمل + فعالیت تناوبی (n=۱۰)	مکمل+ فعالیت تداومی (n=۱۰)	دارونما+ فعالیت تناوبی (n=۱۰)	دارونما+ فعالیت تداومی (n=۱۰)	سطح معناداری آزمون تحلیل واریانس یکراهه
	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	
سن (سال)	۲۰/۵۱±۳/۱۲	۲۱/۳۷±۳/۲۷	۲۲/۷۳±۳/۱۸	۲۱/۴۷±۲/۵۶	۰/۷۴
قد (سانتی‌متر)	۱۶۶/۲۵±۱۰/۰۴	۱۶۷/۶۷±۹/۲۴	۱۶۶/۳۵±۱۰/۸۲	۱۶۸/۰۷±۱۱/۲۳	۰/۰۷
وزن (کیلوگرم)	۵۹/۲۳±۶/۳۷	۶۰/۲۲±۷/۹۷	۶۰/۰۳±۹/۳۶	۶۲/۰۰±۸/۳۵	۰/۱۶
درصد چربی (درصد)	۲۰/۱۳±۱/۲۵	۱۹/۸۹±۱/۳۶	۲۱/۰۲±۱/۵۷	۲۰/۴۵±۱/۳۲	۰/۱۸

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوراهه با اندازه‌گیری‌های مکرر نشان داد اثر زمان (P=۰/۰۱، F=۳/۴۳)، اثر گروه (P=۰/۰۰۱، F=۵/۶۹) و تعامل گروه و زمان (P=۰/۰۱، F=۴/۵۸) در مورد شاخص SIRT-1 از دید آماری معنادارند. بر اساس نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی، سطح SIRT-1 پس از فعالیت حاد نسبت به پیش از فعالیت در مراحل دوم (بلافاصله پس از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل) و چهارم (بلافاصله پس از فعالیت حاد و ۱۴ روز مصرف مکمل) به‌ترتیب نسبت به مراحل اول (پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل) و سوم (پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل) در گروه‌های تناوبی + کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۲ و P=۰/۰۱ و درصد تغییرات ۱۴ و ۲۱

درصد)، گروه تداومی + کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۰۱ و درصد تغییرات ۱۱ و ۱۸ درصد)، گروه تناوبی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۳ و P=۰/۰۱ و درصد تغییرات ۱۲ و ۱۱ درصد)، و تداومی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۳ و P=۰/۰۳ و درصد تغییرات ۱۳ و ۱۱ درصد) افزایش معناداری یافت. همچنین سطح این شاخص پس از ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین (مرحلهٔ سوم) نسبت به مقادیر پایه و پیش از فعالیت حاد (مرحلهٔ اول) در گروه‌های تناوبی+ کوئرستین (P=۰/۰۱) و تداومی+ کوئرستین (P=۰/۰۱) افزایش معنادار یافت.

برای بررسی تفاوت تأثیرات احتمالی دو نوع فعالیت، آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای مقایسهٔ گروه‌های پژوهش در هریک از نقاط زمانی اندازه‌گیری، اجرا شد. بر اساس نتایج، میانگین تغییرات SIRT-1 در مراحل سوم (P=۰/۰۰۱، F=۴/۵۶) و چهارم (P=۰/۰۱، F=۵/۰۸) بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنادار نشان داد. بر اساس نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی بین گروه تداومی+کوئرستین با گروه تداومی+ دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۲) و بین گروه فعالیت تناوبی+کوئرستین با گروه تناوبی+ دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۱) در مراحل سوم و چهارم تفاوت معنادار دیده شد. به‌عبارت دیگر، پس از ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین سطح پایه و پاسخ این شاخص به دو نوع فعالیت حاد نسبت به گروه‌های دارونما افزایش یافت.



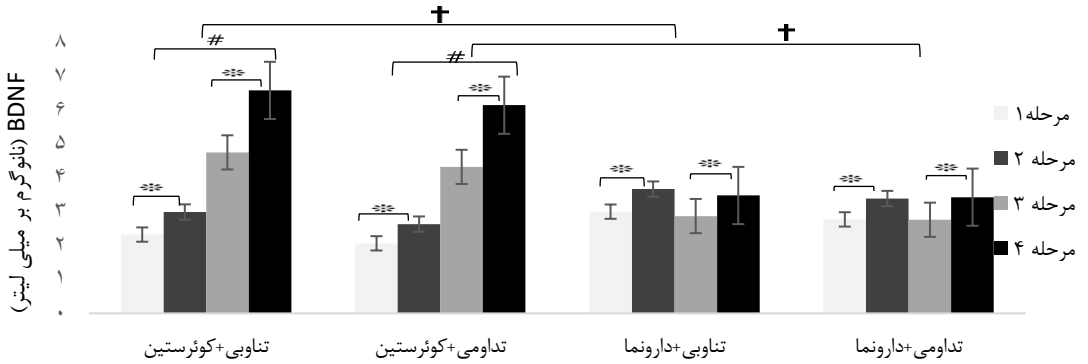
شکل ۱. مقایسهٔ میانگین تغییرات SIRT-1 در گروه‌های مورد بررسی در چهار مرحله. *تفاوت معنادار با مرحلهٔ پیش از فعالیت حاد در سطح P<۰/۰۰۱؛ # تفاوت معنادار مرحلهٔ سوم (پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل) با مرحلهٔ اول (پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل) در سطح P<۰/۰۰۱. † تفاوت معنادار بین گروه‌های مصرف‌کنندهٔ کوئرستین با دارونما پس از مصرف مکمل در سطح P<۰/۰۱. مرحلهٔ ۱: پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۲: بلافاصله پس از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۳: پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ۴: بلافاصله پس از فعالیت حاد و ۱۴ روز مصرف مکمل.

بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر، اثر زمان، اثر گروه و تعامل زمان در گروه در مورد شاخص‌های BDNF (به‌ترتیب با P=۰/۰۰۱، F=۴/۸۴، P=۰/۰۰۱، F=۶/۳۵ و P=۰/۰۱، F=۷/۰۲) و IGF-1 (به‌ترتیب با P=۰/۰۰۱، F=۸/۲۷، P=۰/۰۰۱، F=۱۲/۲۳ و P=۰/۰۰۱، F=۱۰/۲۹) از دید آماری معنادار بود. یافته‌های آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد سطح BDNF پس از فعالیت حاد نسبت به پیش از فعالیت در مراحل دوم نسبت به اول، و چهارم نسبت به سوم به‌ترتیب در گروه‌های تناوبی +

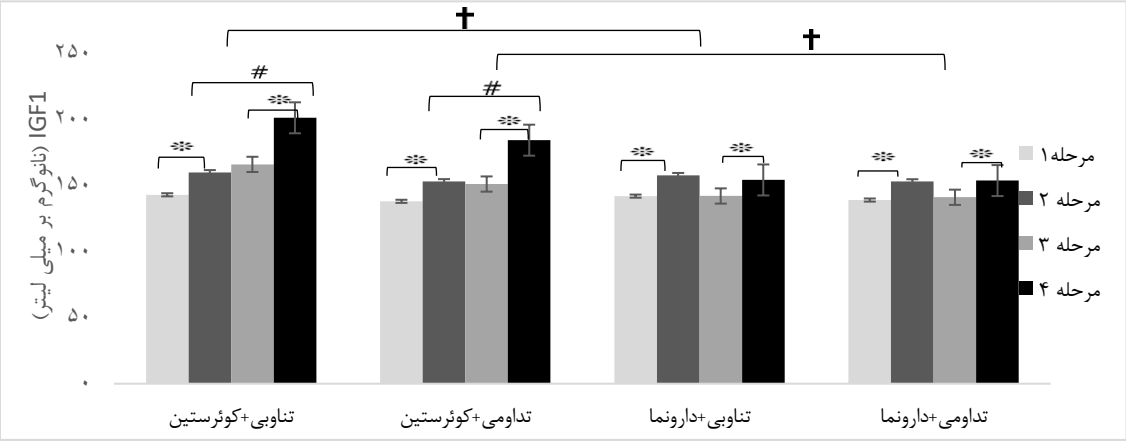
کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۱ و درصد تغییرات ۲۹ و ۳۸ درصد)، تداومی + کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۲ و P=۰/۰۱ و درصد تغییرات ۲۷ و ۴۲ درصد)، گروه تناوبی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۲ و P=۰/۰۲ و درصد تغییرات ۲۲ و ۲۱ درصد)، و تداومی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۲ و درصد تغییرات ۲۲ و ۲۴ درصد) افزایش معناداری یافت.

مشابه نتایج یادشده، در شاخص IGF-1 نیز پس از فعالیت حاد (مراحل دوم و چهارم) نسبت به پیش فعالیت (به‌ترتیب مراحل اول و سوم) در گروه‌های تناوبی + کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۰۱ ، و درصد تغییرات ۱۲ و ۲۱ درصد)، گروه تداومی + کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۲ و P=۰/۰۰۱، و درصد تغییرات ۱۱ و ۲۲ درصد)، گروه تناوبی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۲ و P=۰/۰۱، و درصد تغییرات ۱۱ و ۹ درصد)، و تداومی + دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۳ و P=۰/۰۲، و درصد تغییرات ۱۰ و ۹درصد) افزایش معنادار دیده شد؛ افزون بر این، سطوح پایه BDNF و IGF-1 پس از ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین (مرحلهٔ سوم) نسبت به سطوح اولیه (مرحلهٔ اول) در گروه‌های تناوبی+ کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۰۱) و تداومی+کوئرستین (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۲) افزایش معنادار یافت.

یافته‌های آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای مقایسهٔ گروه‌های مطالعه در هر مرحلهٔ اندازه‌گیری نیز نشان داد میانگین تغییرات BDNF و IGF-1 در گروه‌های شرکت‌کننده، در مراحل سوم (به‌ترتیب با P=۰/۰۱، F=۶/۵۹ و P=۰/۰۱، F=۶/۸۴) و چهارم (به‌ترتیب با P=۰/۰۰۱، F=۹/۲۳ و P=۰/۰۱، F=۷/۲۷) با یکدیگر تفاوت معنادار داشت. یافته‌های آزمون تعقیبی بنفرونی از تفاوت معنادار بین گروه فعالیت تداومی+ کوئرستین با گروه تداومی+ دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۲) و بین گروه تناوبی + کوئرستین با گروه تناوبی+ دارونما (به‌ترتیب با P=۰/۰۱ و P=۰/۰۱) در مراحل سوم و چهارم حکایت داشت. به‌عبارت دیگر، پس از ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین در گروه‌های مصرف‌کنندهٔ کوئرستین، سطوح پایه و پاسخ این شاخص‌ها به دو نوع فعالیت حاد تداومی و تناوبی شدید نسبت به گروه‌های دارونما افزایش یافته است.



شکل ۲. مقایسهٔ میانگین تغییرات BDNF در گروه‌های مورد بررسی در چهار مرحله. *تفاوت معنادار با مرحلهٔ پیش از فعالیت حاد در سطح P<۰/۰۰۱؛ # تفاوت معنادار مرحلهٔ سوم (پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل) با مرحلهٔ اول (پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل) در سطح P<۰/۰۰۱. † تفاوت معنادار بین گروه‌های مصرف‌کنندهٔ کوئرستین با دارونما پس از مصرف مکمل در سطح P<۰/۰۱. مرحلهٔ ۱: پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۲: بلافاصله پس از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۳: پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۴: بلافاصله پس از فعالیت حاد و ۱۴ روز مصرف مکمل.



شکل ۳. مقایسهٔ میانگین تغییرات IGF-1 در گروه‌های مورد بررسی در چهار مرحله. *تفاوت معنادار با مرحلهٔ پیش از فعالیت حاد در سطح P<۰/۰۰۱؛ # تفاوت معنادار مرحلهٔ سوم (پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل) با مرحلهٔ اول (پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل) در سطح P<۰/۰۰۱. † تفاوت معنادار بین گروه‌های مصرف‌کنندهٔ کوئرستین با دارونما پس از مصرف مکمل در سطح P<۰/۰۱. مرحلهٔ ۱: پیش از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ ۲: بلافاصله پس از فعالیت حاد و پیش از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ۳: پیش از فعالیت حاد و پس از ۱۴ روز مصرف مکمل؛ مرحلهٔ۴: بلافاصله پس از فعالیت حاد و ۱۴ روز مصرف مکمل.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، پس از دو فعالیت حاد تناوبی با شدت بالا و تداومی، پاسخ BDNF،SIRT-1 و-IGF 1افزایش معنادار نشان داد و ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین سبب افزایش معنادار پاسخ این شاخص‌ها نسبت به گروه‌های دارونما شد.

SIRT-1 یک لیزین داستیلاز وابسته به NAD^+ است که در بیشتر نواحی مغزی بیان می‌شود و در فرایندهای فیزیولوژیکی بی‌شماری از جمله محافظت عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی نقش مؤثر دارد. این پروتئین با داستیلاسیون پروتئین‌های هیستونی و غیرهیستونی قادر به کنترل و تنظیم چرخهٔ سلولی، فشار اکسایشی، آپوپتوز و ترمیم DNA است (۴-۶). گزارش شده است سطوح SIRT-1 مغزی در نورون‌های پیر کاهش می‌یابد و به‌وسیلهٔ رژیم غذایی با چربی بالا و بیماری‌های عصبی به‌صورت منفی تنظیم می‌شود و از سوی دیگر، فعالیت‌های ورزشی می‌تواند سبب افزایش سطح و عملکرد این شاخص و در نهایت ایجاد تغییرات مثبت در یادگیری، حافظه و عملکردهای شناختی شود (۳۲).

همراستا با پژوهش حاضر، وارگاس اورتیز و همکاران (۲۰۱۹) در یک مقالهٔ مروری اشاره کردند فعالیت ورزشی حاد، سطح و عملکرد SIRT-1 را افزایش می‌دهد (۳۳). چو و همکاران (۲۰۲۲) نیز افزایش سطح SIRT-1 را پس از یک وهله فعالیت با شدت متوسط (۶۵ درصد VO_2max) و یک وهله فعالیت شدید (۸۵ درصد VO_2max) در مردان جوان گزارش کردند (۱۸). متناقض با یافته‌های فوق، قاسمی و همکاران (۲۰۲۰) عدم افزایش معنادار این شاخص را پس از فعالیت حاد تناوبی شدید (آزمون وینگیت روی چرخ کارسنج) در زنان غیرفعال دارای اضافه وزن گزارش کردند (۱۹). همچنین نتایج تحقیق گراناتا[15] و همکاران (۲۰۲۰) از عدم تغییر بیان ژن SIRT-1 بلافاصله پس از فعالیت حاد تناوبی شدید (رکاب زدن روی چرخ کارسنج با شدت ۱۷۰ درصد توان هوازی اوج) در مردان سالم غیرفعال حکایت داشت (۳۴). گمان می‌رود دلیل ناهمسویی یافته‌های پژوهش حاضر با پژوهش‌های مذکور، تفاوت در سطح آمادگی بدنی آزمودنی‌ها، نوع و روش فعالیت ورزشی باشد؛ به‌گونه‌ای که در

پژوهش‌های مذکور، افراد غیرفعال فعالیت حاد روی چرخ کارسنج را اجرا کردند، درحالی‌که در این پژوهش، افراد فعال فعالیت حاد را روی نوار گردان اجرا کردند. باور بر این است که هنگام فعالیت روی نوار گردان نسبت به چرخ کارسنج، تودۀ عضلانی بیشتری به‌کار می رود (۳۵). روی‌هم‌رفته گمان می‌رود هنگام انقباضات عضلانی (ورزش) پروتئین کیناز وابسته به آدنوزین مونوفسفات [۱۶](AMPK) و نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز [۱۷](NAMPT) موجب افزایش سطح NAD^+ درون‌سلولی می‌شوند و افزایش NAD^+ با تحریک و افزایش SIRT-1 همراه است، این در حالی است که کاهش سطح یا بیان این شاخص با افزایش استیله شدن P53 سبب افزایش فرایند پیری و آپوپتوز سلول می‌شود (۱۸، ۳۳، ۳۵). SIRT-1 با داستیلاسیون پروتئین‌های آتاکسی تلانژکتازی[۱۸] جهش یافته و مهار فعالیت آن‌ها موجب افزایش نجات سلول و ترمیم DNA و محافظت عصبی می‌شود (۳۶).

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش حاضر، افزایش BDNF و IGF-1 در پاسخ به دو فعالیت حاد تداومی و تناوبی شدید بود. همراستا با پژوهش حاضر، فاضل‌زاده و همکاران (۱۳۹۶) افزایش BDNF را پس از دو فعالیت حاد هوازی و بی‌هوازی باشدت بالا گزارش کردند (۳۷). بر اساس یافته‌های پیشین، IGF-1 در پردازش و تبدیل proBDNF به BDNF بالغ تأثیرگذار است (۱۲، ۱۳). همچنین IGF-1 موجب افزایش بیان و فعال‌سازی گیرندۀ استروژن و در یک مسیر تعاملی سبب افزایش بیان BDNF می‌شود، استروژن و گیرنده‌های آن از طریق فعال‌سازی و فسفوریله شدن مسیرهای CREB _ پروتئین کیناز B [۱۹](CREB/Akt) و CREB _ پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن [۲۰](CREB/MAPK) سبب افزایش سطح BDNF می‌شود (۱۲، ۱۳، ۳۲). افزون بر این، یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش BDNF و IGF-1 پس از فعالیت حاد در پژوهش حاضر، افزایش SIRT-1 است. بیان شده است SIRT-1 شکل‌پذیری و چگالی سیناپسی و در نهایت نوروژنز را از طریق تنظیم مثبت BDNF و IGF-1 انجام می‌دهد (۱۳-۱۱). همراستا با پژوهش حاضر، در پژوهشی، دلیر و همکاران (۱۴۰۰) افزایش بیان ژن SIRT-1 وBDNF را پس از چهار هفته تمرین تناوبی در هیپوکمپ موش‌های آلزایمری گزارش کردند (۳۲). گمان می‌رود SIRT-1 از طریق مهار بیان میکرو RNA ۱۳۴– [۲۱](miR-134)، بیان BDNF را به‌واسطۀ محور BDNF/ CREBافزایش می‌دهد (۱۰، ۳۲). همچنین داستیلاسیون متیل متصل‌شونده به پروتئین G [۲۲](MeCP2) به‌وسیلۀ SIRT-1 می‌تواند رونویسی BDNF را توسعه بخشد (۵، ۷). از سوی دیگر، افزایش بیان SIRT-1 می‌تواند با راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی [۲۳]SIRT-1/ IGF-1/GAP43 و از طریق تعامل با BDNF سبب بقا، رشد و تمایز سلول‌های عصبی شود (۵، ۷، ۱۰).

در پژوهش حاضر، تفاوت معناداری بین پاسخ شاخص‌های SIRT-1،BDNF وIGF-1 به دو فعالیت تداومی و تناوبی دیده نشد. دربارۀ مقایسۀ بین پاسخ این شاخص‌ها به دو نوع فعالیت حاد تداومی و تناوبی باشدت بالا یافته‌های اندکی اجرا شده است. حبیبیان و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی تأثیر فعالیت تداومی با دو شدت متوسط و شدید در مردان دونده بیان کردند پاسخ پلاسمایی BDNF در ورزشکاران تحت تأثیر شدت فعالیت قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که فعالیت با شدت بالا سبب افزایش بیشتر پاسخ این شاخص نسبت به فعالیت با شدت متوسط شد، اما پاسخ IGF-1 به دو شیوه فعالیت حاد با شدت بالا و متوسط تفاوت معناداری نشان نداد (۲۰). درحالی‌که آزادی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند یک وهله فعالیت تناوبی شدید نسبت به فعالیت تداومی با شدت متوسط، به افزایش بیشتری در مقادیر IGF-1 آزاد در مردان جوان

فعال منجر می‌شود، هرچند این تغییرات معنادار نبود (۳۸). برخی پژوهشگران معتقدند در فعالیت‌های تناوبی هزینهٔ انرژی نسبت به فعالیت‌های تداومی بیشتر است و شاید همین افزایش هزینهٔ انرژی سبب افزایش سطح NAD^+ و متعاقباً افزایش شاخص‌های BDNF وIGF-1 می‌شود (۳۸، ۳۹). بر اساس پژوهش‌های پیشین، محرک‌های مختلف تمرینی شامل شدت، حجم و نوع فعالیت، سطوح این سه شاخص را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در فعالیت‌های حاد، عامل شدت می‌تواند در بزرگی پاسخ‌های پلاسمایی SIRT-1 وBDNF مؤثرتر باشد، به‌طوری‌که شدت بالاتر فعالیت به‌ویژه در افراد فعال منجر به افزایش بیشتر سطوح این دو شاخص خواهد شد (۲۰، ۳۵). اما در پژوهش حاضر گمان می‌رود با وجود حجم برابر دو فعالیت حاد، شدت بالاتر فعالیت تناوبی نتوانسته است تغییر معناداری در پاسخ این شاخص‌ها نسبت به فعالیت تداومی ایجاد کند. گویا دوره‌های بازیافت و استراحت بین نوبت‌ها در فعالیت تناوبی با کاهش در سطح NAD^+ درون‌سلولی و تغییراتی در هزینهٔ انرژی و یا افزایش فعالیت شاخص‌های آپوپتوزی مانند P53 موجب عدم تغییرات چشمگیر در پاسخ این شاخص‌ها در مقایسه با فعالیت تداومی باشد. با این همه، به‌دلیل عدم سنجش هزینهٔ انرژی مصرفی دو فعالیت و سایر شاخص‌های اثرگذار بر رهایش و جذب BDNF وIGF-1 مانند سطح هورمون رشد و تعداد پلاکت‌ها و همچنین تعداد پایین آزمودنی‌های هر گروه در پژوهش حاضر، در مورد این‌که با وجود اعمال حجم برابر در دو فعالیت حاد تداومی و تناوبی، شدت بالای فعالیت تناوبی نمی‌تواند سبب ایجاد پاسخ بزرگ‌تر در شاخص‌های پژوهش گردد، با قطعیت نمی‌توان نظر داد. بنابراین، لزوم اجرای یافته‌های آتی و سنجش شاخص‌های بیشتر پس از فعالیت حاد با گروه‌های با حجم نمونهٔ بالاتر برای روشن شدن این مهم ضروری به‌نظر می‌رسد.

دیگر یافتهٔ جالب پژوهش حاضر، بر اساس نتایج آزمون‌های آماری مورد استفاده و بررسی درصد تغییرات شاخص‌ها پیش و پس از مکمل‌دهی، افزایش سطح پایه و پاسخ BDNF،SIRT-1 وIGF-1 پس از ۱۴ روز مکمل‌دهی کوئرستین بود. همراستا با پژوهش حاضر، ما و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند سه هفته استفاده از مکمل کوئرستین (در دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم) در موش‌هایی که در شرایط افسردگی قرار داشتند، موجب افزایش سطوح BDNF و CREB می‌شود (۴۰). یافته‌های پژوهش ژنگ و همکاران (۲۰۲۰) نیز از افزایش بیان SIRT-1 پس از مصرف دو هفته دریافت مکمل کوئرستین (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز) در موش‌های چاق مبتلا به دیابت حکایت داشت (۲۳).

یافته‌های اندکی تأثیر مصرف مکمل کوئرستین را بر پاسخ‌های BDNF،SIRT-1 وIGF-1 متعاقب فعالیت ورزشی حاد بررسی کرده‌اند. اسگرو و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند مصرف ۱۴ روز کوئرستین (یک گرم در روز) در مردان جوان سالم سبب افزایش سطح IGF-1 پس از یک وهله فعالیت حاد برون‌گرا می‌شود (۲۲). صدیق‌پرور و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند مصرف مکمل کوئرستین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز) و اجرای همزمان تمرینات ورزشی در موش‌ها، سبب سرکوب فرایندهای التهابی و افزایش BDNF در قشر پیشانی جلوی مغز می‌شود (۴۱). با این همه، متضاد با یافته‌های یادشده، در پژوهش کربلایی صادقی بر موش‌های مبتلا به سرطان کولون، گزارش شد اجرای فعالیت تناوبی شدید سبب افزایش سطح BDNF هیپوکمپ موش‌ها شد، درحالی‌که مصرف مکمل کوئرستین (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز) تغییر معناداری در سطح این شاخص ایجاد نکرد (۲۴). تفاوت در روش اندازه‌گیری (سنجش در سطح

هیپوکمپ در مقابل سنجش پلاسمایی) و نوع آزمودنی‌ها (موش‌های مبتلا به سرطان در مقابل افراد سالم ورزشکار) می‌تواند از دلایل احتمالی تناقض مطالعه کربلایی صادقی با پژوهش حاضر باشد.

روی‌هم‌رفته گزارش شده است مواد غذایی و مکمل‌های حاوی فلاونوئید توانایی شایان توجهی در جلوگیری از بروز اختلالات شناختی و افت حافظه دارند (۲۱، ۲۲). کوئرستین که بیشترین سهم میزان مصرف فلاونوئیدها در غذای روزانه را داراست، با دارا بودن ترکیباتی مانند پنتاهیدروکسی فلاوون نقش مؤثری در بهبود سلامت مغز دارد (۲۲-۲۴). در همین زمینه گزارش شده است مکمل‌دهی کوئرستین به مدت دو هفته در موش‌های دیابتی (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز)، سبب فعال‌سازی و رهایش AMPK و SIRT-1، مهار عامل هسته‌ای تقویت‌کنندهٔ زنجیره سبک کاپا از لنفوسیت‌هایِ بیِ فعال‌شده (NF- Kb)[۲۴] و کاهش سطح عوامل التهابی و آپوپتوز سلولی می‌شود (۲۳). همچنین مصرف کوئرستین با افزایش توان دستگاه ضداکسایشی و افزایش سطح و عملکرد آنزیم‌های ضداکسایشی مانند سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)[۲۵] و کاتالاز (CAT)[۲۶] سبب کاهش تولید بنیان‌های آزاد و تسریع ترمیم آسیب‌های عصبی ناشی از فشار اکسایشی در سلول‌های عصبی می‌شود (۲۲-۲۴).

افزون بر این، گمان می‌رود فلاونوئید ایزوکوئرستین، تطویل زوائد نورونی را از طریق کاهش فعالیت پروتئین مبدل RhoA[۲۷]، افزایش می‌دهد و جلوگیری از کاهش دوپامین موجب بهبود بقای سلول‌های عصبی می‌شود (۴۲). از دیگر تأثیرات این مکمل، می‌توان به نقش آن در بیوژنز میتوکندریایی اشاره کرد. با توجه به نقش محوری میتوکندری در تأمین ATP سلولی و تنظیم کلسیم درون‌سلولی، مشخص شده است که اختلال عملکرد میتوکندریایی موجب اختلال در تولید ATP و در نهایت افزایش پیام‌های آپوپتوزی و مرگ سلولی می‌شود (۴۳). براساس یافته‌های پیشین، ترکیبات فلاونوئیدی موجود در کوئرستین سبب فعال‌سازی و رهایش AMPK و SIRT-1 و متعاقباً فعال‌سازی کواکتیویتور PGC-1a و عامل تنفسی هسته‌ای ۱ (NFR1)[۲۸] و سبب افزایش بیوژنز میتوکندریایی و کاهش دمیلیناسیون نورون‌ها و آسیب عصبی از طریق مسیرهای پیام‌رسانی متعدد از جمله راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی SIRT-1/CREB/BDNF و SIRT-1/ IGF-1/GAP43 و افزایش سطح و عملکرد BDNF و IGF-1 و حفاظت سلول‌های عصبی می‌شود (۲۲، ۲۳). با این همه به‌دلیل اینکه تاکنون پژوهشی به بررسی تأثیر کوئرستین بر شاخص‌های پژوهش نپرداخته است، نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص باید بااحتیاط انجام گیرد و نیازمند اجرای یافته‌های بیشتر در این زمینه است. از محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم سنجش شاخص‌های پیام‌رسانی بالا و پایین‌دست و نیز کم بودن تعداد آزمودنی‌های هر گروه بود که ضرورت احتیاط در تعمیم نتایج را بیشتر می‌کند.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مکمل‌دهی ۱۴ روزهٔ کوئرستین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در روز) سبب افزایش سطوح پایه و پاسخ شاخص‌های SIRT-1، BDNF و IGF-1به دو نوع فعالیت حاد تداومی و تناوبی با شدت بالا در دختران ورزشکار شد، اما بین پاسخ این شاخص‌ها به دو فعالیت حاد تداومی و تناوبی تفاوت معناداری دیده نشد. به‌نظر می‌رسد استفاده از مکمل کوئرستین می‌تواند روش پیشنهادی مفیدی برای بهبودی سطح و عملکرد عوامل نروتروفیک و افزایش بقا و نورژنز سلول‌های عصبی در کنار فعالیت‌های ورزشی حاد و شدید باشد.

تشکر و قدردانی

از آزمودنی‌هایی که در اجرای این پژوهش همکاری

کردند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

حمایت مالی

پژوهش حاضر حامی مالی ندارد.

مشارکت نویسندگان

همهٔ نویسندگان در طراحی، اجرا، تحلیل یافته‌ها و نگارش مقاله مشارکت داشتند.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

پی‌نوشت‌ها

[1] Sirtuin 1
[2] Nicotinamide adenine dinucleotide
[3] Brain-derived neurotrophic factor
[4] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
[5] Fibronectin type III domain-containing protein 5
[6] cAMP response element-binding protein
[7] Insulin-like Growth Factor-1
[8] Physical activity readiness questionnaire
[9] Food processor 2
[10] Seca
[11] Maximum rate of oxygen consumption
[12] Rate of perceived exertion
[13] ZellBio
[14] Eastbiopharm
[15] Granata
[16] AMP-activated protein kinase
[17] Nicotinamide phosphoribosyltransferase
[18] Ataxia-telangiectasia
[19] Protein kinase B
[20] Mitogen-activated protein kinases
[21] MicroRNA-*134*
[22] Methyl CpG binding protein 2
[23] *Growth-associated protein 43*
[24] Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
[25] *Superoxide dismutase*
[26] Catalase
[27] Ras homolog family member A
[28] Nuclear respiratory factor 1

منابع

1. Cefis M, Chaney R, Wirtz J, Méloux A, Quirié A, Leger C, et al. Molecular mechanisms underlying physical exercise-induced brain BDNF overproduction. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2023;16.

2. Palmowski J, Reichel T, Boßlau TK, Krüger K. The effect of acute running and cycling exercise on T cell apoptosis in humans: A systematic review. Scandinavian journal of immunology. 2020;91(2):e12834.

3. Kim S-Y, Surh Y-J, Lee Y-S. Effects of Exhaustive Exercise on Inflammatory, Apoptotic, and Antioxidative Signaling Pathways in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. Journal of Cancer Prevention. 2023;28(1):3.

4. Ke F, Wang H, Geng J, Jing X, Fang F, Fang C, Zhang B-h. MiR-155 promotes inflammation and apoptosis via targeting SIRT1 in hypoxic-ischemic brain damage. Experimental Neurology. 2023;362:114317.

5. Wang F, Li Y, Tang D, Yang B, Tian T, Tian M, et al. Exploration of the SIRT1-mediated BDNF–TrkB signaling pathway in the mechanism of brain damage and learning and memory effects of fluorosis. Frontiers in Public Health. 2023;11:1247294.

6. Michán S, Li Y, Chou MM-H, Parrella E, Ge H, Long JM, et al. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. Journal of Neuroscience. 2010;30(29):9695-707.

7. Wu W-F, Chen C, Lin J-T, Jiao X-H, Dong W, Wan J, et al. Impaired synaptic plasticity and decreased glutamatergic neuron excitability induced by SIRT1/BDNF downregulation in the hippocampal CA1 region are involved in postoperative cognitive dysfunction. Cellular & Molecular Biology Letters. 2024;29(1):79.

8. Liang Z, Zhang Z, Qi S, Yu J, Wei Z. Effects of a Single Bout of Endurance Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Biology. 2023;12(1):126.

9. Wang YH, Zhou HH, Luo Q, Cui S. The effect of physical exercise on circulating brain-derived neurotrophic factor in healthy subjects: a meta-analysis of randomized controlled trials. Brain and behavior. 2022;12(4):e2544.

10. Fang X, Chen Y, Wang Y, Ren J, Zhang C. Depressive symptoms in schizophrenia patients: a possible relationship between SIRT1 and BDNF. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2019;95:109673.

11. Sergi C, Shen F, Liu S. insulin/IGF-1R, SIRT1, and FOXOs pathways-an intriguing interaction platform for bone and osteosarcoma. Front Endocrinol (Lausanne). 2019; 10: 93. 2019.

12. Rahimi M, Nowroozi M, Asad MR. Effects of 8-week Interval and Continuous Training on Brain-Derived Neurotrophic (BDNF) and Insulin-like Growth-1 (IGF-1) in Wistar Male Rat. Razi Journal of Medical Sciences. 2021;28(10):1-11.

13. Robinson-Agramonte MdlA, Michalski B, Vidal-Martinez B, Hernández LR, Santiesteban MW, Fahnestock M. BDNF, proBDNF and IGF-1 serum levels in naïve and medicated subjects with autism. Scientific Reports. 2022;12(1):13768.

14. Ceylan Hİ, Silva AF, Ramirez-Campillo R, Murawska-Ciałowicz E. Exploring the Effect of Acute and Regular Physical Exercise on Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Individuals with Obesity: A Comprehensive Systematic Review and Meta-Analysis. Biology. 2024;13(5):323.

15. Qiu X, Lu P, Zeng X, Jin S, Chen X. Study on the Mechanism for SIRT1 during the Process of Exercise Improving Depression. Brain sciences. 2023;13(5):719.

16. Xu Z, Qin Y, Lv B, Tian Z, Zhang B. Effects of moderate-intensity continuous training and high-intensity interval training on testicular oxidative stress, apoptosis and m6A Methylation in obese male mice. Antioxidants. 2022;11(10):1874.

17. Salehpoor Z, Jahromi BN, Tanideh N, Nemati J, Akbarzade-Jahromi M, Jahromi MK. High intensity interval training is superior to moderate intensity continuous training in enhancing the anti-inflammatory and apoptotic effect of pentoxifylline in the rat model of endometriosis. Journal of Reproductive Immunology. 2023;156:103832.

18. Cho S-Y, Chung Y-S, Yoon H-K, Roh H-T. Impact of exercise intensity on systemic oxidative stress, inflammatory responses, and Sirtuin levels in healthy male volunteers. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022;19(18):11292.

19. Ghasemi E, Afzalpour ME, Nayebifar S. Combined high-intensity interval training and green tea supplementation enhance metabolic and antioxidant status in response to acute exercise in overweight women. The Journal of Physiological Sciences. 2020;70:1-9.

20. Habibian M, Valinejad A. Comparison of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) Responses to Different Endurance Training Intensities in Runner Men. Internal Medicine Today. 2017;23(4):273-7.

21. Tanbaccochi Moghadami N, Hatami Nemati H, Dehghan G, Banan Khojast SM, Ahmadi H. The effects of Quercetin on memory and oxidative stress impairment due to Malathion poisoning in male Wistar rats. Nova Biologica Reperta. 2020;7(2):161-8.

22. Sgrò P, Ceci R, Lista M, Patrizio F, Sabatini S, Felici F, et al. Quercetin modulates IGF-I and IGF-II levels after eccentric exercise-induced muscle-damage: a placebo-controlled study. Frontiers in Endocrinology. 2021;12:745959.

23. Zhang F, Feng J, Zhang J, Kang X, Qian D. Quercetin modulates AMPK/SIRT1/NF-κB signaling to inhibit inflammatory/oxidative stress responses in diabetic high fat diet-induced atherosclerosis in the rat carotid artery. Experimental and Therapeutic Medicine. 2020;20(6):1-.

24. Sadeghi TK, Taheri M, Irandoost K. The effect of intermittent exercise and quercetin supplementation on cognitive factors affecting BDNF and CREB in the brain hippocampus of rats with colon cancer. J Sport Mot Dev Learn. 2022;14(2):34-53.

25. Jamili N, Hosseini Kakhk SA, Askari R, Sadeghi B. The effect of plyometric training in water with and without blood flow restriction on physical fitness in active young girls. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2023;16(3):44-54.

26. Jackson AS, Pollock ML, Ward A. Generalized equations for predicting body density of women. Medicine and science in sports and exercise. 1980;12(3):175-81.

27. Wilmore JH, Costill DL, Kenney WL. Physiology of sport and exercise: Human kinetics Champaign, IL; 2004.

28. Yuxin Z, Fenghua S, Chiu MM, Siu AY-S. Effects of high-intensity interval exercise and moderate-intensity continuous exercise on executive function of healthy young males. Physiology & Behavior. 2021;239:113505.

29. Medicine ACoS. ACSM's resource manual for guidelines for exercise testing and prescription: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.

30. Bazzucchi I, Patrizio F, Ceci R, Duranti G, Sabatini S, Sgrò P, et al. Quercetin supplementation improves neuromuscular function recovery from muscle damage. Nutrients. 2020;12(9):2850.

31. Tsao J-P, Bernard JR, Hsu H-C, Hsu C-L, Liao S-F, Cheng I-S. Short-term oral quercetin supplementation improves post-exercise insulin sensitivity, antioxidant capacity and enhances subsequent cycling time to exhaustion in healthy adults: a pilot study. Frontiers in nutrition. 2022;9:875319.

32. Dalir T, Gharakhanlou R, Peeri M, MATIN HH. The Effect of Four Weeks of Aerobic Training on the Expression of Sirt1, CREB and BDNF Genes in Hippocampus of Male Wistar Rats with Alzheimer', s Disease. 2020.

33. Vargas-Ortiz K, Pérez-Vázquez V, Macías-Cervantes MH. Exercise and sirtuins: a way to mitochondrial health in skeletal muscle. International journal of molecular sciences. 2019;20(11):2717.

34. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Bishop DJ. Forty high-intensity interval training sessions blunt exercise-induced changes in the nuclear protein content of PGC-1α and p53 in human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2020;318(2):E224-E36.

35. Juan CG, Matchett KB, Davison GW. A systematic review and meta-analysis of the SIRT1 response to exercise. Scientific Reports. 2023;13(1):14752.

36. Rajabi S, Noori S, Zal F, Jahanbazi Jahan-Abad A. Oxidative stress and its different roles in neurodegenerative diseases. Neurosci J Shefaye Khatam. 2017;5(1):73-86.

37. Fazelzadeh M, Mohammadi ZF, Ebrahimian SS. The acute effect of aerobic and anaerobic exercise on serum levels of BDNF and CRP in active men. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2017;39(5):49-56.

38. Azadi B, BolBoli L, Khani M, Siyahkohyan M, Pourrahim A. Comparison of the Effect of Eight Weeks of Continuous and High Intensity Interval Training on GH/IGF-1 Serum Indices and Aerobic performance of Active Young Males. Journal of Sport Biosciences. 2022;14(1):101-18.

39. Niven A, Laird Y, Saunders DH, Phillips SM. A systematic review and meta-analysis of affective responses to acute high intensity interval exercise compared with continuous moderate-and high-Intensity exercise. Health psychology review. 2021;15(4):540-73.

40. Ma Z-X, Zhang R-Y, Rui W-J, Wang Z-Q, Feng X. Quercetin alleviates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors by promoting adult hippocampal neurogenesis via FoxG1/CREB/BDNF signaling pathway. Behavioural brain research. 2021;406:113245.

41. Sadighparvar S, Darband SG, Yousefi B, Kaviani M, Ghaderi-Pakdel F, Mihanfar A, et al. Combination of quercetin and exercise training attenuates depression in rats with 1, 2-dimethylhydrazine-induced colorectal cancer: Possible involvement of inflammation and BDNF signalling. Experimental physiology. 2020;105(9):1598-609.

42. Palazzolo G, Horvath P, Zenobi-Wong M. The flavonoid isoquercitrin promotes neurite elongation by reducing RhoA activity. PloS one. 2012;7(11):e49979.

43. Casuso RA, Martínez-López EJ, Hita-Contreras F, Camiletti-Moiron D, Martínez-Romero R, Cañuelo A, Martínez-Amat A. The combination of oral quercetin supplementation and exercise prevents brain mitochondrial biogenesis. Genes & nutrition. 2014;9:1-8.