

## تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی دایره‌ای به همراه عصاره یونجه بر استئوپروتگرین و فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران لاغر

نویسندگان:

پروین فرزانی\*، خاطره ابراهیمی نیاک<sup>۱</sup>، معصومه حبیبیان<sup>۲</sup>

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۲- گروه تربیت‌بدنی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

۳Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.3, Fall 2016

### چکیده:

**مقدمه:** پوکی استخوان رایج‌ترین بیماری متابولیکی استخوان است که عوامل مختلفی مانند شاخص پایین توده بدن و عدم فعالیت جسمانی در بروز آن دخالت دارند. تعدیل شیوه زندگی می‌تواند یک راهبرد مفید برای پیش‌گیری از این بیماری باشد. هدف مطالعه حاضر تعیین اثر تمرین مقاومتی دایره‌ای و مصرف عصاره یونجه بر غلظت استئوپروتگرین و فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران جوان لاغر بود.

**روش کار:** در این مطالعه نیمه تجربی ۲۸ نفر از دختران دانش‌آموز ۱۶ تا ۱۹ سال به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی شامل گروه‌های مکمل، تمرین، تمرین-مکمل و کنترل تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی شامل ده حرکت با شدت ۶۰ تا ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه بود که در ۸ الی ۱۲ تکرار، طی چهار هفته، سه جلسه در هفته و ۶۰ دقیقه مدت‌زمان هر جلسه انجام شد. مکمل یونجه به میزان یک سی‌سی به‌زای کیلوگرم وزن بدن، هر سه بار در روز و به مدت چهار هفته مصرف شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تی زوجی و تحلیل واریانس یک‌راهه انجام شد.

**یافته‌ها:** چهار هفته تمرین مقاومتی دایره‌ای، مکمل سازی و مداخله ترکیبی با افزایش معنادار غلظت استئوپروتگرین و کاهش معنادار میزان فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران لاغر همراه بود ( $p < 0/05$ ). به‌علاوه، مداخله ترکیبی به نسبت بیشتری میزان این شاخص‌ها را در مقایسه با گروه تمرین و مکمل تغییر داد ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** انجام تمرینات مقاومتی دایره‌ای و مصرف عصاره یونجه به‌عنوان یک روش درمانی غیردارویی می‌تواند سبب افزایش شاخص‌های تشکیل استخوان و نیز کاهش فعالیت مسیر تحلیل آن در دختران جوان لاغر شود، البته اثربخشی ترکیب تمرین و مکمل بیشتر از اثرات جداگانه هر یک از مداخله‌ها است.

**واژگان کلیدی:** تمرین مقاومتی، یونجه، استئوپروتگرین، فاکتور هسته‌ای کاپا بی، لاغری

Pars J Med Sci 2016;14 (3):27-34

### مقدمه:

استئوپروز یا پوکی استخوان که به‌عنوان یک بیماری خاموش و بدون علامت شناخته می‌شود، شایع‌ترین بیماری متابولیکی استخوان است. امروزه پوکی استخوان یکی از مشکلات بهداشتی جدی در اغلب کشورها است. بر اساس مطالعات موجود حدود ۲/۵ میلیون نفر از زنان در معرض پوکی استخوان شدید و شکستگی‌های ناشی از آن قرار دارند [۱]. علاوه بر این کمبود وزن و لاغری هم مشابه با چاقی، یکی از پرخطرترین عوامل تهدیدکننده سلامت است [۲]، به‌طوری‌که خطر ابتلا به پوکی استخوان در افرادی با شاخص توده بدنی پایین، بیشتر است [۳]. بر اساس آمارهای جهانی، نوجوانان بیست درصد از کل جمعیت دنیا را تشکیل می‌دهند [۴]. با توجه به این‌که نزدیک به ۹۰ درصد توده استخوانی افراد بزرگسال تا قبل از ۲۰ سالگی تشکیل می‌شود، شناسایی متغیرهای اثرگذار روی سلامت استخوان‌ها در دوره نوجوانی حائز اهمیت به‌سزایی است [۵، ۶]. بیماری پوکی استخوان از اوایل دوران جوانی شروع می‌شود و در طول دوران کودکی تا بیست‌سالگی تشکیل استخوان‌ها از تخریب آن‌ها بیشتر

استئوپروز یا پوکی استخوان که به‌عنوان یک بیماری خاموش و بدون علامت شناخته می‌شود، شایع‌ترین بیماری متابولیکی استخوان است. امروزه پوکی استخوان یکی از مشکلات بهداشتی جدی در اغلب کشورها است. بر اساس مطالعات موجود حدود ۲/۵ میلیون نفر از زنان در معرض پوکی استخوان شدید و شکستگی‌های ناشی از آن قرار دارند [۱]. علاوه بر این کمبود وزن و لاغری هم مشابه با چاقی، یکی از پرخطرترین عوامل تهدیدکننده سلامت است [۲]، به‌طوری‌که خطر ابتلا به پوکی استخوان در افرادی با شاخص توده بدنی پایین، بیشتر است [۳]. بر اساس آمارهای جهانی، نوجوانان بیست درصد از کل جمعیت دنیا را تشکیل می‌دهند [۴]. با توجه به این‌که نزدیک به ۹۰ درصد توده استخوانی افراد بزرگسال تا قبل از ۲۰ سالگی تشکیل می‌شود، شناسایی متغیرهای اثرگذار روی سلامت استخوان‌ها در دوره نوجوانی حائز اهمیت به‌سزایی است [۵، ۶]. بیماری پوکی استخوان از اوایل دوران جوانی شروع می‌شود و در طول دوران کودکی تا بیست‌سالگی تشکیل استخوان‌ها از تخریب آن‌ها بیشتر

\* نویسنده مسئول، نشانی: ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، دانشکده علوم انسانی

پست الکترونیک: farzanegi@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۱۲۲۳۰۲۳۳

پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲۳

اصلاح: ۱۳۹۵/۸/۱۹

دریافت: ۱۳۹۵/۴/۲۲

کمک کند [۱۹]. مطالعات نشان می‌دهند ورزش، فوائد طولانی‌مدتی بر شاخص‌های استخوانی به‌خصوص شاخص‌های ساخت استخوان دارد، به‌طوری‌که میزان بالاتر توده استخوانی در زنان جوان ورزشکاری که دارای فعالیت ورزشی در دوران کودکی و جوانی بودند در مقایسه با زنان کم‌تحرک تأیید شده است [۲۰]. البته نوع فعالیت ورزشی نیز بر میزان تراکم توده و ساختار استخوان تأثیرگذار است. ورزش‌های با برخورد و فشار زیاد تأثیر بیشتری در ایجاد پاسخ استئوژنیک در مقایسه با ورزش‌های هوازی دارند [۲۱]. همچنین با توجه به تأثیر بیشتر شدت ورزش بر شاخص‌های ساخت استخوانی، در مقایسه با مدت آن، انجام فعالیت ورزشی مضمن تحمل وزن و اعمال قدرت در مقایسه با ورزش‌هایی با مدت‌زمان طولانی ارجحیت دارند [۲۲].

علاوه بر این، نتایج یک مطالعه مروری نشان داد ترکیب فعالیت ورزشی با مکمل‌های دارویی مانند ویتامین D و یا کلسیم سبب افزایش بیشتر تراکم توده استخوانی می‌شود [۲۳]. بنابراین، موزی با فعالیت ورزشی استفاده از برخی گیاهان دارویی ممکن است در جذب کلسیم کافی، رفع سوءتغذیه و نیز جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های استخوانی در دختران لاغر مؤثر باشد [۲۴]. یونجه با نام علمی *Medicago sativa* یکی از مشهورترین گیاهان سستی دارویی است که سرشار از ویتامین‌های A، C، E و K و اسیدهای آمینه است [۲۵]. این گیاه ممکن است اثرات مثبتی بر توانایی سیستم اسکلتی جهت مقاومت در برابر شکستگی و افزایش شاخص‌های استخوانی استئوبلاستی اعمال کند. محققین نشان داده‌اند که گنجانیدن پودر یونجه با غلظت ۱۰ تا ۵۰ درصد به رژیم غذایی می‌تواند منجر به افزایش جذب کلسیم و اثر مثبت بر استخوان‌ها شود [۲۶]. با این وجود در خصوص تأثیر مصرف عصاره این گیاه بر شاخص‌های مداخله‌گر در متابولیسم استخوانی مطالعه‌ای مشاهده نشد.

در اکثر مطالعات، پیش‌گیری و درمان پوکی استخوان فقط در زنان میان‌سال و یائسه بررسی شده، ولی امروزه مشخص شده است که پوکی استخوان تنها مشکل زنان یائسه نیست و به دلایل متفاوت، بسیاری از زنان جوان، به ویژه زنان لاغر هم در معرض ابتلا به این بیماری قرار دارند. بنابراین به نظر می‌رسد کنترل این بیماری در سراسر زندگی با هدف داشتن تراکم استخوان مطلوب در سنین جوانی و کاهش خطر پوکی استخوان در سنین بالا ضروری است. از این رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی دایره‌ای و مصرف عصاره یونجه بر غلظت استئوپروتئین و فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران جوان لاغر انجام شد.

است. این وضعیت بعد از سن ۳۰ سالگی، به دلایل ناشناخته، معکوس شده و میزان تخریب استخوان از تشکیل آن بیشتر می‌شود [۷]. باوجود مشاهده بیشتر این بیماری در زنان یائسه، امروزه به علت عدم فعالیت بدنی کافی، تغذیه نامناسب و عدم آگاهی از شیوه زندگی صحیح، بسیاری از زنان و دختران جوان نیز در معرض تهدید آن قرار دارند. بر اساس تحقیقات قبلی، هر دو عامل چاقی و لاغری بیش از حد در دختران جوان از عوامل مهم خطرزای پوکی استخوان هستند [۸]. اگرچه سازوکار دقیق تخریب استخوان به‌خوبی مشخص نیست [۹]، اما یک سیستم مولکولی جدید متعلق به خانواده فاکتور نکروز دهنده تومور، در تنظیم تخریب استخوان شناسایی شده است که شامل سه پروتئین کلیدی لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی و فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی و استئوپروتئین است [۱۰-۱۳]. استئوپروتئین گلیکوپروتئینی از خانواده بزرگ گیرنده فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا است. این گلیکوپروتئین به همراه لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی و فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی، تریاد مولکولی را تشکیل می‌دهند که از طریق کنترل استئوکلاست‌ها، متابولیسم استخوان را تنظیم می‌کنند. از طرف دیگر لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی با اتصال به گیرنده فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی، استئوکلاستوزن‌ها و جذب استخوان‌ها را تقویت می‌کند. استئوپروتئین با اتصال به لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی، عمل آن را خنثی کرده و از این طریق مانع جذب استخوان می‌شود [۱۴] و به‌عنوان یک مهارکننده از اثر متقابل لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی جلوگیری کرده و در نتیجه منجر به کاهش استئوکلاستوزن می‌شود [۱۵]. فاکتور هسته‌ای کاپا بی یک مسیر سیگنال دهی شده کلیدی دخیل در مراحل اولیه تمایز استئوکلاست ناشی از لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی است [۱۶] و به‌عنوان یک خانواده تکاملی که از فاکتورهای رونویسی درگیر در پاسخ به تغییرات محیطی محافظت می‌کند شناخته شده است [۱۷].

امروزه انجام فعالیت‌های بدنی به‌منظور جلوگیری از پوکی استخوان و مشکلات سوخت و ساز آن توصیه می‌شود. متابولیسم استخوان، به‌ویژه شاخص‌های تشکیل استخوان با فعالیت‌های ورزشی افزایش می‌یابند. در واقع فعالیت بدنی برای حفظ هومئوستاز، چگالی استخوان و نیز برای جلوگیری از تقلیل مواد معدنی استخوان پیشنهاد می‌شود [۱۸]. در دوران رشد، سازگاری استخوانی با فعالیت ورزشی رخ می‌دهد و تحمل وزن ناشی از فعالیت ورزشی مقاومتی ممکن است به استحکام دستگاه اسکلتی، کسب اوج توده استخوانی و در نتیجه افزایش چگالی استخوان

## روش کار:

در این مطالعه نیمه تجربی، جامعه آماری تحقیق شامل دانش‌آموزان دختر ۱۶ تا ۱۹ ساله غیر ورزشکار لاغر با شاخص توده بدنی پایین (حدود ۱۸ کیلوگرم/مترمربع) از دبیرستان‌های دخترانه در محدوده شهری بابل بود. از بین داوطلبین ۲۸ دانش‌آموز به روش تصادفی خوشه‌ای انتخاب و پس از تأیید سلامت جسمانی از طریق معاینات پزشکی و تکمیل فرم رضایت‌نامه شخصی و والدین وارد مطالعه شدند. آزمودنی‌ها اجازه داشتند در هر مرحله‌ای از پژوهش که به ادامه همکاری تمایل نداشتند، مطالعه را ترک کنند. آزمودنی‌ها به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، تمرین مقاومتی، مصرف مکمل یونجه و تمرین-مکمل (ترکیبی) تقسیم شدند (هفت نفر در هر گروه). اندازه‌گیری‌های مربوط به قد و وزن پیش از شروع مطالعه انجام گرفت.

## برنامه تمرین مقاومتی:

یک هفته قبل از شروع تمرین، شرکت‌کننده‌ها با محیط آشنا شده و میزان مقاومت یک تکرار بیشینه (حداکثر مقاومتی که یک عضله یا گروهی از عضلات بتوانند فقط برای یک‌بار آن را بلند کنند) برای حرکات تمرینی (به جزء دراز و نشست) به روش آزمون و خطا تعیین شد. پروتکل تمرینی شامل چهار هفته تمرین مقاومتی دایره‌ای، سه جلسه در هفته و ۶۰ دقیقه در هر جلسه بود که با شدت ۶۰ درصد یک تکرار بیشینه در هفته اول شروع و به تدریج با پیشرفت آزمودنی‌ها، تا رسیدن به شدت ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه در هفته چهارم ادامه یافت. حرکات چند مفصله در ایستگاه‌های مختلف شامل پرس سینه، دراز و نشست با زانوی خمیده، پرس پا، باز کردن پشت ران، خم کردن زانو، کشش جانبی، پرس بالای سر، حرکت پشت بازو با دمبل و نیم اسکوات بود که با ۸ تا ۱۲ تکرار در هر ایستگاه و در سه دایره با فاصله استراحتی ۶۰ ثانیه بین ایستگاه‌ها و دو تا سه دقیقه بین دایره‌ها اجرا شد [۲۵].

## مکمل یونجه:

پس از جمع‌آوری و خشک کردن بخش‌های هوایی گیاه یونجه، عصاره گیری از آن با استفاده از روش‌های مرسوم عصاره گیری از گیاهان دارویی انجام شد. پس از صاف کردن عصاره برای بهبود مزه آن از عسل به نسبت ۱ به ۳ استفاده شد. دوز مصرفی مکمل تهیه شده، یک سی‌سی به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن و سه بار در روز (ده دقیقه پس از صرف غذا) در نظر گرفته شد [۲۵]. در طی مطالعه از شرکت‌کننده‌ها خواسته شد تا هر ماده غذایی که در طول روز مصرف می‌کنند را برای مدت سه روز در پرسشنامه

یادآمد غذایی یادداشت کنند. بر این اساس میزان کالری دریافتی روزانه افراد محاسبه می‌شد. همچنین به افراد توصیه شد رژیم غذایی معمولی خود را در طی دوره تحقیق (به ویژه در مراحل قبل از خون‌گیری) رعایت کنند.

## نمونه‌گیری خونی و تحلیل بیوشیمیایی:

نمونه‌گیری خونی در دو مرحله قبل و پس از مداخله به دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه (مصرف رژیم غذایی سبک در شب قبل از نمونه‌گیری)، ۴۸ ساعت قطع مصرف مکمل و تمرینات مقاومتی در ساعات ۸ الی ۱۰ صبح و پس از نیم ساعت استراحت در آزمایشگاه انجام شد. بدین منظور میزان ۷ میلی‌لیتر خون از ورید بازویی چپ شرکت‌کننده‌ها که در مرحله لوتال تخمک‌گذاری بودند گرفته شد. پلاسمای خون پس از جداسازی در دمای ۸۰- درجه به منظور اندازه‌گیری و تحلیل غلظت استئوپروتئین و فاکتور هسته‌ای کاپا بی منجمد شد. میزان استئوپروتئین با استفاده از تکنیک الایزا و با کیت اختصاصی Cusabio محصول کشور چین و میزان فاکتور هسته‌ای کاپا بی نیز با استفاده از کیت تجاری Cayman ساخت آمریکا اندازه‌گیری شد.

## تجزیه و تحلیل‌های آماری:

از آزمون‌های کولموگروف اسمیرنوف و لوین به ترتیب برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها و بررسی تجانس واریانس‌ها و همچنین آزمون آماری تی زوجی برای بررسی تغییرات درون گروهی و آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه اختلاف میانگین متغیرهای گروه‌های تحقیق در مراحل قبل و پس از مداخله استفاده شد. به‌علاوه برای تعیین محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری آزمون‌ها  $0.05 < p$  در نظر گرفته شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. در این پژوهش کلیه موارد اخلاق در پژوهش رعایت گردیده است.

## یافته‌ها:

در جدول ۱، ویژگی‌های آنروپومتری آزمودنی‌های گروه‌های تحقیق قبل از مداخله نشان داده شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، بیانگر عدم تفاوت معنی دار در مشخصات آنروپومتری آزمودنی‌های تحقیق (جدول ۱) بود. به علاوه، غلظت پلاسمایی استئوپروتئین پس از ۴ هفته مصرف مکمل (۲۲/۵ درصد)، تمرین مقاومتی (۲۲/۲ درصد) و ترکیب این دو مداخله (۴۱/۲ درصد) به‌طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.001$ ). در حالی که غلظت پلاسمایی استئوپروتئین در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنادار بالاتر بود (جدول ۲). با استفاده از آزمون

فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران لاغر شد (به ترتیب ۱۶/۷ درصد، ۱۷/۲۸ درصد و ۳۳/۹ درصد؛  $p < 0.001$ )، که این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل نیز معنادار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲). همچنین تفاوت معناداری بین میزان فاکتور هسته‌ای کاپا بی گروه‌های مکمل و ترکیبی مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

توکی مشخص گردید که تأثیر مداخله ترکیبی بر افزایش استئوپروتگترین در مقایسه با دو مداخله دیگر به‌طور معناداری بیشتر است ( $P < 0.05$ ).

همچنین چهار هفته مداخله‌های تمرین مقاومتی، مصرف مکمل و ترکیب این دو شیوه منجر به کاهش معنادار غلظت پلاسمایی

جدول ۱: شاخص‌های ترکیب بدن آزمودنی‌های گروه‌های تحقیق

متغیر	مکمل	تمرین	تمرین - مکمل	کنترل	P
سن (سال)	۱۶,۷±۷,۷	۱۶,۹±۱,۳	۱۶,۱±۱,۰	۱۶,۱±۹,۴	۰/۸۹۸
وزن (کیلوگرم)	۴۹,۳±۴,۶	۴۳,۶±۵,۶	۴۴,۳±۸,۵	۴۳,۵±۶,۶	۰/۴۵۸
قد (سانتی متر)	۱۶۴/۴±۴,۴	۱۶۱,۲±۶,۶	۱۶۱,۶±۶,۴	۱۶۱,۶±۲,۶	۰/۶۵۹

داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد می‌باشند.

جدول ۲: میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای گروه‌های تحقیق در قبل و ۴ هفته پس از مداخله‌های پژوهش

متغیر	گروه‌ها	قبل از مداخله	بعد از مداخله	ارزش P*	ارزش P**	ارزش P***
استئوپروتگترین نانوگرم/میلی لیتر	گروه کنترل	۳,۰±۹,۳۱	۳,۰±۹,۳۸	۰,۸۲۹		
	گروه تمرین	۳,۰±۰,۳۶	۳,۸۶±۰,۳۴	<۰,۰۰۱*	<۰,۰۰۱**	۰,۸۴۳
	گروه مکمل	۳,۰±۰,۳۲	۳,۹۹±۰,۴۲	<۰,۰۰۱*		
	گروه تمرین + مکمل	۲,۸۷±۰,۳۸	۴,۰۳±۰,۴۰	<۰,۰۰۱*		
فاکتور هسته‌ای کاپا بی نانوگرم/ میلی لیتر	گروه کنترل	۸,۰±۰,۳۰	۸,۱۱±۰,۳۴	۰,۱۵۶		
	گروه تمرین	۸,۰۳±۰,۳۷	۶,۶۹±۰,۵۸	<۰,۰۰۱*	<۰,۰۰۱**	۰,۶۲۴
	گروه مکمل	۸,۱۰±۰,۳۳	۶,۷۰±۰,۴۷	<۰,۰۰۱*		
	گروه تمرین + مکمل	۸,۲۳±۰,۳۹	۵,۴۴±۰,۷۳	<۰,۰۰۱*		

\*معناداری تغییرات درون گروهی بین قبل و بعد از مداخله (با استفاده از آزمون تی زوجی)

\*\*معناداری تغییرات بین گروهی در بعد از مداخله (با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه)

\*\*\*معناداری تغییرات بین گروهی در قبل از مداخله (با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه)

## بحث:

دختران ورزشکار با و بدون قاعدگی منظم پایین‌تر است [۱۳]. شاخص‌های تشکیل استخوان مانند استئوپروتگترین حساس‌تر از شاخص‌های تحلیل استخوان هستند. تحریک فعالیت استئوبلاست و یا استئوکلاست‌ها وابسته به ورزش است و فعالیت بدنی یک منبع خوب برای گردش استخوانی و جلوگیری از پوکی استخوان و مشکلات سوخت و ساز استخوان محسوب می‌شود، به‌طوری‌که تغییرات شاخص‌های استخوانی پس از چند ساعت یا چند روز از ورزش بیش‌تر مشهود شده است [۳۰]. با این وجود، مارکوس و همکاران پس از هشت ماه تمرین مقاومتی و یا هوازی تغییری در غلظت استئوپروتگترین و لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی در زنان مسن مشاهده نکردند [۳۱]، که علت این مغایرت ممکن است به بالاتر بودن سن و اضافه وزن آزمودنی‌ها مربوط باشد. اگرچه ساز و کارهای دقیق افزایش غلظت استئوپروتگترین متعاقب تمرینات ورزشی به‌خوبی مشخص

اگرچه پژوهش‌های بسیاری روی چاقی متمرکز شده‌اند، ولی عدم درمان به موقع کاهش وزن و لاغری بستر مناسبی برای بروز برخی از بیماری‌های مزمن، از جمله پوکی استخوان را فراهم می‌کند [۲۷، ۲۸، ۲۹]. در مطالعه حاضر اثر تعاملی تمرین مقاومتی و مصرف عصاره یونجه بر غلظت پلاسمایی استئوپروتگترین و فاکتور هسته‌ای کاپا بی در دختران جوان لاغر مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس اولین یافته تحقیق حاضر، ۴ هفته تمرین مقاومتی دایره‌ای، مصرف مکمل یونجه و ترکیبی از دو شیوه فوق با افزایش معنادار غلظت استئوپروتگترین در دختران لاغر همراه بود. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، برگستروم و همکاران افزایش معنادار غلظت استئوپروتگترین را پس از یک دوره تمرین هوازی شامل دو بار در هفته، هر جلسه سی دقیقه پیاده‌روی سریع، در زنان یائسه گزارش کردند [۲۹]. وست و همکاران نیز نشان دادند که میزان استئوپروتگترین در دختران کم‌تحرک در مقایسه با

افزایش فعالیت استئوکلاستی موجب ایجاد استئوپروز می‌شود. از گزارش‌های موجود چنین استنباط می‌شود که بر حسب نوع و شدت فعالیت بدنی، میزان آمادگی و وضعیت اولیه مقدار پلاسمایی فاکتور هسته‌ای کاپا بی شرکت‌کننده‌ها و سازگاری آنان به تمرینات ورزشی، می‌توان افزایش، کاهش و یا عدم‌تغییر مقدار فاکتور هسته‌ای کاپا بی را پس از تمرین انتظار داشت [۱۶].

از طرف دیگر، هرچند مطالعات درباره اثرات یونجه روی نمونه‌های انسانی در مورد متغیرهای مورد آزمایش بسیار محدودند، اما مطالعات حیوانی به‌خوبی اثرات دارویی یونجه را نشان داده‌اند [۳۹]. طی مطالعه‌ای والکر و همکاران نشان دادند که مصرف پودر یونجه به میزان ۲/۲۷ کیلوگرم از غذای روزانه و دو بار در روز باعث افزایش غلظت کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز در خوک‌ها می‌شود [۴۰]. هم‌چنین نتایج یک مطالعه نشان داد پودر یونجه از میزان فعالیت استئوکلاستوتزیس در مغز استخوان خوک‌های باردار می‌کاهد و به‌عنوان یک ماده مغذی سرشار از کلسیم برای آن‌ها قابل‌استفاده است [۲۷]. یونجه ماده‌ای است که ممکن است اثرات مثبتی بر توانایی سیستم اسکلتی برای مقاومت در برابر شکستگی و افزایش شاخص‌های استخوانی استئوبلاستی داشته باشد. یونجه جذب استخوانی توسط استئوکلاست‌ها را متوقف می‌کند، بنابراین می‌تواند جذب استخوان را از طریق جلوگیری از تکثیر، تفکیک و فعالیت استئوکلاست‌ها و افزایش مرگ این سلول‌ها کم کند [۲۵]. در همین راستا، شی و همکاران نشان دادند غلظت سرمی تری‌گلیسیرید، LDL-C و کلسترول تام در موش‌هایی که تحت رژیم یونجه قرار داشتند به‌طور معناداری کاهش می‌یابد، درحالی که میزان HDL-C افزایش معنادار دارد [۴۰]. طی مطالعه انجام‌گرفته توسط آل-دوساری در سال ۲۰۱۲ مشخص شد سه هفته تجویز عصاره یونجه می‌تواند غلظت سرمی مارکرهای کبدی و استرس اکسیداتیو در موش‌هایی که تحت تأثیر تتراکلرید کربن بودند را به‌طور معناداری کاهش دهد. هم‌چنین بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی بافت کبد این موش‌ها نشان داد که عصاره یونجه می‌تواند منجر به بهبود آسیب‌های کبدی ناشی از در معرض قرار گرفتن مواد اکسیدان شود [۴۱].

در تحقیق حاضر مصرف همزمان مکمل یونجه با تشدید بیشتر خواص ضد استئوکلاستوتزس تمرین مقاومتی همراه بود. اگرچه سازو کارهایی که به واسطه آن مکمل یونجه بتواند بر سطوح مارکرهای پیش و ضد استئوپروز موثر باشد به خوبی مشخص نیست [۲۶]، اما به نظر می‌رسد که مکمل یونجه به دلیل دارا بودن ویتامین‌های موجود در آن [۲۵]، اثرات استئوبلاستی تمرین مقاومتی را در دختران لاغر تقویت نماید. نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق

نیست، ولی مطالعات نشان می‌دهند که تحریکات مکانیکی همچون فشار برشی ناشی از جریان دینامیکی خون منجر به مهار القاء استئوکلاستوتزس از طریق تنظیم مثبت استئوپروتگترین و تنظیم منفی لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی می‌شود [۳۲]. علاوه بر این تحریک مکانیکی از طریق تغییر شکل سوبسترا، میزان استئوپروتگترین محلول را توسط سلول‌های استخوان‌ساز به‌طور قابل توجهی افزایش می‌بخشد [۳۳]. اگرچه در تحقیق حاضر غلظت لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی اندازه‌گیری نشد که می‌تواند از محدودیت‌های این پژوهش نیز محسوب شود، ولی به‌خوبی مشخص شده است که لیگاند فعال‌کننده گیرنده فاکتور هسته‌ای کاپا بی و گیرنده ویژه‌اش که در سلول‌های دندرتیک و استئوکلاست‌ها قرار دارد را تحریک می‌کند و از جمله مسیرهای سیگنالی آن مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا بی است [۳۴].

از جمله یافته‌های دیگر تحقیق حاضر کاهش میزان فاکتور هسته‌ای کاپا بی، متعاقب مداخله‌های پژوهش است که می‌تواند بیانگر فعالیت سلول‌های استئوکلاستی و در نتیجه بازتابی از سازگاری فیزیولوژیکی حاصل از تمرینات مقاومتی در دختران نوجوان لاغر باشد. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که پس از تمرینات طولانی مدت و رقابت‌های ورزشی، شاخص‌های تشکیل استخوان از جمله آلکالین فسفاتاز در افراد بی‌تحرك شرکت‌کننده در یک برنامه فعالیت بدنی تغییر داشته است. ورزشکاران حرفه‌ای نیز تغییراتی در شاخص‌های تشکیل استخوان نشان می‌دهند که به شدت برنامه بستگی دارد، در حالی که شاخص‌های تحلیل استخوان ثابت باقی می‌ماند [۳۵]. هم‌چنین بررسی‌های اخیر بیان می‌کنند که تمرینات ورزشی می‌تواند با کاهش فاکتور هسته‌ای کاپا بی از روند پوکی استخوان جلوگیری کنند. در همین راستا اسپنک و همکاران طی مطالعه‌ای نشان دادند یک دوره فعالیت ورزشی موجب جلوگیری از فعالیت مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا بی در انسان می‌شود [۳۶]. این نتایج تا حدود زیادی با نتایج مطالعه ولا و همکاران مغایرت دارد. این محققین بیان کردند که با انجام تمرینات مقاومتی شدید در ۲ ساعت بعد از ورزش پروتئین فسفریله فاکتور هسته‌ای کاپا بی افزایش پیدا کرده و چهار ساعت بعد از ورزش به میزانی نزدیک پایه برمی‌گردد [۳۷]. از طرف دیگر ریواس و همکاران نشان دادند که انجام تمرینات ورزشی شدید در افراد مسن با یک افزایش ۶۰ درصدی در فسفوریلاسیون فاکتور رونویسی پیش‌التهابی فاکتور هسته‌ای کاپا بی همراه است، در حالی که میزان این افزایش در افراد جوان کمتر است [۳۸]. از طرف دیگر، برخی مطالعات نشان می‌دهند تمرینات ورزشی به‌ویژه زمانی که با شدت بالا انجام شوند، به افزایش فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپا بی منجر شده و با

به‌عنوان یک روش درمانی غیر دارویی باعث افزایش شاخص‌های تشکیل استخوان و نیز کاهش فعالیت مسیر تحلیل آن در دختران جوان لاغر شد، اما اثربخشی ترکیب تمرین و مکمل به‌مراتب بیشتر از اثرات جداگانه هر یک از این دو روش درمانی بود.

### تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق نویسندگان را یاری کرده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع:

مطالعه حاضر هیچ‌گونه تعارض منافی ندارد.

تنظیم منفی بیان فاکتور رونویسی فاکتور هسته ای کاپایی و تنظیم مثبت استئوپروتگرین منجر به تعدیل اثر استئوکلاستوزنر شوند که نقش مهمی در تنظیم هموستاز متابولیسم استخوان دارد [۳۹]. اگرچه در تحقیق حاضر تغییرات شاخص‌های مرتبط با هموستاز استخوان همانند عوامل التهابی و اکسایشی در گروه‌های تحقیق مورد مطالعه قرار نگرفت، ولی می‌توان پیشنهاد نمود که کاهش استرس اکسیداتیو یکی از مسیرهای احتمالی اصلی افزایش سطوح استئوپروتگرین و کاهش فاکتور هسته ای کاپایی ناشی از مداخله تمرین مقاومتی همراه با مکمل یونجه در تحقیق حاضر است.

### نتیجه‌گیری:

به‌طور کلی نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد اگر چه انجام تمرینات مقاومتی منظم و مصرف عصاره یونجه به‌طور مجزا

## References:

- Rafieian M, Shahrani M, Pilehvarian A, et al. Preventive and therapeutic effects of tomato juice on the growth of fibrosarcoma tumor cells in Balb/c mice. J Shahrekord Univ Med Sci 2009;10(4):70-6. (Persian)
- Habibzade SN, Rahmanini F, Daneshmandi H. Effect of walking program on bone mass density, body composition and some of blood factors in obese and thin girls. Kowsar Med J 2010;15(1):55-9. (Persian).
- Greco EA, Lenzi A, Migliaccio S. The obesity of bone. Ther Adv Endocrinol Metab. 2015; 6 (6):273-86.
- Montazery Fard F, Karaji Bani M, Dashipour A. The prevalence of obesity and wasting and their correlation with food intake in female junior school students in Zahedan, 2004. Iran South Med J 2006;9(1):66-76. (Persian).
- Cashman K. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. British J Nutr 2002;87(2):169-78.
- Bearman SK, Presnell K, Martinez E, et al. The skinny on body dissatisfaction: A longitudinal study of adolescent girls and boys. J Youth Adolesc 2006;35(2):217-29.
- Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. Lancet 2002; 359 (9319): 1761-7.
- Misra M, Soyka LA, Miller KK, et al. Serum osteoprotegerin in adolescent girls with anorexia nervosa. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(8):3816-22.
- Magni P, Dozio E, Galliera E, et al. Molecular aspects of adipokine-bone interactions. Curr Mol Med 2010;10(6):522-32.
- Khosla S. Minireview: The opg/rankl/rank system. Endocrinology 2001;142(12):5050-5.
- Lerner HU. New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. Crit Rev Oral Biol Med 2004;15(2):64-81
- Stejskala D, Bartekb J, Pastorková R, et al. Osteoprotegerin, RANK, RANKL. Biomed 2001; 145(2): 61-64.
- Kong Y-Y, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. Nature 1999;402(6759):43-7.
- Simonet W, Lacey D, Dunstan C, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997;89(2):309-19.
- Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin :a Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption. Curr Pharm Des 2001;7(8):613-35.
- Léotoing L, Wauquier F, Guicheux J, et al. The polyphenol fisetin protects bone by repressing NF-κB and MKP-1-dependent signaling pathways in osteoclasts. PloS one 2013;8(7):e68388.
- Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-κB. Genes Develop 2004;18(18):2195-224.
- Bañfi G, Lombardi G, Colombini A, Lippi G. Bone metabolism markers in sports medicine. Sport Med 2010;40(8):697-714.
- Ostrowska Z, Ziara K, Oświęcimska J, et al. RANKL/RANK/OPG system and bone status in females with anorexia nervosa. Bone 2012;50(1):156-60.
- Bush RA. Female high-school varsity athletics: An opportunity to improve bone mineral density. J Sci Med Sport 2009;12(3):366-70.
- West SL, Scheid JL, De Souza MJ. The effect of exercise and estrogen on osteoprotegerin in premenopausal women. Bone 2009;44(1):137-44.
- Vicente-Rodriguez G, Dorado C, Perez-Gomez J, et al. Enhanced bone mass and physical fitness in young female handball players. Bone 2004;35(5):1208-15.

23. Nikander R, Sievänen H, Heinonen A, et al. Targeted exercise against osteoporosis: A systematic review and meta-analysis for optimising bone strength throughout life. *BMC Med*. 2010 Jul 21; 8:47.
24. Tahuri H. Encyclopedia of Medicinal Plants. Qom: Padide Danesh, Tahsin Publication; 2011. 520 p. (Persian).
25. Habibian M, Farzanegi P, khakpour M. The Effect of Circuit Resistance Training and Medicago sativa Supplement on Interlukin 18 and Interlukin 10 in Young Girls with Low Body Mass Index. *Qom Univ Med Sci J* 2015;9(2): 60-68 .(Persian).
26. Crenshaw T, Peo E, Lewis A, et al. Bone strength as a trait for assessing mineralization in swine: a critical review of techniques involved. *J animal Sci* 1981;53(3):827-35.
27. Gaeini A. Nutritional strategies in exercise and weight control. Tehran: Vaziri; 2006. 399-05 p.(Persian).
28. Korpelainen R, Korpelainen J, Heikkinen J, et al. Lifestyle factors are associated with osteoporosis in lean women but not in normal and overweight women: a population-based cohort study of 1222 women. *Osteoporos Int* 2003;14(1):34-43.
29. Bergström I, Parini P, Gustafsson SA, et al. Physical training increases osteoprotegerin in postmenopausal women. *J bone miner metab* 2012;30(2):202-7.
30. Welsh L, Rutherford O, James I, et al. The acute effects of exercise on bone turnover. *Inter J Sport Med* 1997;18(4):247-51.
31. Marques EA, Wanderley F, Machado L, et al. Effects of resistance and aerobic exercise on physical function, bone mineral density, OPG and RANKL in older women. *Exp Gerontol* 2011;46(7):524-32.
32. Kim CH, You L, Yellowley CE, et al. Oscillatory fluid flow-induced shear stress decreases osteoclastogenesis through RANKL and OPG signaling. *Bone* 2006;39(5):1043-7.
33. Saunders MM, Taylor AF, Du C, et al. Mechanical stimulation effects on functional end effectors in osteoblastic MG-63 cells. *J Biomech* 2006;39(8):1419-27.
34. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med (Berl)* 2001;79(5-6):243-53.
35. Brahm H, Piehl-Aulin K, Ljunghall S. Biochemical markers of bone metabolism during distance running in healthy, regularly exercising men and women. *Scand J Med Sci Sports* 1996;6(1):26-30.
36. Schenk S, Horowitz JF. Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 2007;117(6):1690.
37. Vella L, Caldwell MK, Larsen AE, et al. Resistance exercise increases NF- $\kappa$ B activity in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012;302(6):R667-R73.
38. Rivas DA, Morris EP, Haran PH, et al. Increased ceramide content and NF $\kappa$ B signaling may contribute to the attenuation of anabolic signaling after resistance exercise in aged males. *J Appl Physiol* 2012; 113(11):1727-36.
39. Rupasinghe HV, Jackson C-JC, Poysa V, et al. Soyasapogenol A and B distribution in soybean (*Glycine max* L. Merr.) in relation to seed physiology, genetic variability, and growing location. *J Agric Food Chem* 2003;51(20):5888-94.
40. Walker GL, Danielson DM, Peo ER Jr, et al. Bioavailability of Calcium in Sun-Cured Alfalfa Meal and Effect of Dietary Calcium Concentration on Bone and Plasma Characteristics During Two Phases of Gestation in Gilt. *J Anim Sci* 1993 ;71(1):124-31.
41. Al-Dosari MS. In vitro and in vivo antioxidant activity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) on carbon tetrachloride intoxicated rats. *Am J Chin Med* 2012; 40(4):779-93.

## The Effect of circuit resistance training with *Medicago sativa* extracts on levels of osteoprotegerin and nuclear factor of Kappa-B in thin girls

Parvin Farzanegi<sup>\*1</sup>, Khatereh Ebrahimi Niak<sup>1</sup>, Masoumeh Habibian<sup>2</sup>

Received: 2016/11/06

Revised: 2016/9/11

Accepted: 2016/13/11

1. Dept of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

2. Dept of Physical Education and Sports Sciences, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.3, Fall 2016

Pars J Med Sci 2016; 14(3):27-34

### *Abstract*

#### **Introduction:**

Osteoporosis is the most prevalent metabolic bone disease with multiple factors involved in its pathogenesis, including low body mass index and lack of physical activity. Changes in lifestyle represents a successful strategy to prevent osteoporosis. Therefore, this study aimed to determine the interactive effects of resistance training and *Medicago sativa* extracts on serum level of osteoprotegerin and nuclear factor kappa B in thin girls.

#### **Materials and Methods:**

In this quasi-experimental study, 28 female students (16 to 19 years) were divided randomly into four groups of supplement, training, training-supplement and control. Resistance training program comprised 10 exercise movements at 60%-80% of one repeated maximal in 8-12 repetition (in 3 circuits), 60 min per day and 3 sessions per week for 4 weeks. *Medicago sativa* supplement was taken as 1 ml/kg body weight for 3 times a day. Data were analyzed with paired t and ANOVA tests.

#### **Results:**

Four weeks of resistance training, supplementation and the combined intervention were associated with a significant increase in osteoprotegerin and decrease in nuclear factor kappa B levels ( $P < 0/05$ ) in thin girls. Furthermore, combined intervention was associated with greater changes in these indicators in comparison with training and supplement groups ( $p < 0.05$ ).

#### **Conclusion:**

Regular resistance training with consumption of *Medicago sativa* extracts as a non-medical therapy can increase bone formation markers and also reduce the activity of the absorbency pathway in thin adolescent girls. Of course the combination of exercise and supplement are more effective than the separate affects of eachs them.

**Keywords:** Resistance Training, *Medicago Sativa*, Osteoprotegerin, Nuclear Factor Kappa B, Thinness

\* Corresponding author, Email: farzanegi@gmail.com