

تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱، نیتریک اکساید و کیفیت زندگی زنان سالمند

معصومه محمدخانی^۱، فرشاد غزالیان^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش (تغذیه ورزشی)، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲- دکتری فیزیولوژی ورزشی، استادیار، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۲ / بهار ۱۴۰۰ / مسلسل ۸۷

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۱۱/۱ پذیرش مقاله: ۹۹/۱۲/۲۳

مقدمه: سلول های اندوتلیال عروق بوسیله تولید مواد فعال عروق از قبیل اندوتلین-۱ و نیتریک اکساید نقش مهمی در تنظیم فعالیت عروق ایفا می نمایند. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱، نیتریک اکساید و کیفیت زندگی زنان سالمند بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش نیمه تجربی، ۳۷ زن سالمند به صورت هدفمند در چهار گروه مکمل، مکمل و تمرین، تمرین و کنترل قرار گرفتند. پروتکل تمرینی به مدت هشت هفته تمرین مقاومتی در آب اجرا شد. مصرف مکمل به صورت روزانه ۳۰ گرم شکلات تلخ ۸۳ درصد به مدت ۸ هفته صورت گرفت. کیفیت زندگی از طریق پرسشنامه SF-36 و سطوح اندوتلین-۱ پلازما، به روش الایزا و سطوح پلاسمایی نیتریک اکساید به عنوان یک متابولیت اصلی نیتریک اکساید اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته ها: نتایج تحقیق نشان داد میانگین شاخص کیفیت زندگی در گروه تمرین مقاومتی در آب نسبت به گروه کنترل در زنان سالمند به طور معناداری بالاتر بود ($P=0/036$). همچنین میانگین سطوح نیتریک اکساید در گروه ترکیبی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود ($P=0/001$). اما میانگین سطوح اندوتلین-۱ در گروه ترکیبی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین تر بود ($P=0/012$). بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاضر می توان نتیجه گیری کرد که احتمالاً تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ از طریق کاهش غلظت سطوح اندوتلین-۱ و افزایش سطوح NO منجر به بهبود عملکرد اندوتلیالی و افزایش کیفیت زندگی در زنان سالمند می شود. واژه های کلیدی: شکلات تلخ، تمرین مقاومتی در آب، اندوتلیال، کیفیت زندگی، سالمندان.

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

پست الکترونیک: phdghazalian@gmail.com

مقدمه

به طور کلی جمعیت سالمندان در جهان و به ویژه در کشورهای در حال توسعه به سرعت در حال افزایش است و هزینه‌های بالای مراقبت از سلامتی به همراه بالارفتن سن، با نگرانی‌های کلی برای سالخوردگان همراه است (۱-۳). یائسگی و به دنبال آن کاهش هورمون‌های استروئیدی جنسی و افزایش چربی بدن، به ویژه چربی شکمی، امکان ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و متابولیکی را در زنان، افزایش داده است (۴). به طور کلی، عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی-عروقی با افزایش سن و چاقی تشدید می‌شود (۵). سالمندی باعث اختلال در عملکرد اندوتلیال و کاهش مقاومت عروق می‌شود (۶).

تغییر در عملکرد اندوتلیال به دنبال پیری، ممکن است حاوی مفاهیم مهم بالینی باشد و بیماری‌های قلبی-عروقی را ایجاد نماید (۷). اختلالات عملکرد اندوتلیال شامل اختلال در ساختار اندوتلیوم مانند اختلال در تنظیم اتساع و انقباض عروق و افزایش فعالیت‌های التهابی مرتبط با بیماری‌های قلبی عروقی است. از طرفی سلول‌های اندوتلیال عروق بوسیله تولید مواد فعال عروق از قبیل اندوتلین-۱ و نیتریک اکساید (NO) نقش مهمی در تنظیم فعالیت عروق ایفا می‌نمایند (۸).

نتایج جدیدترین تحقیقات بین‌المللی حاکی از آن است که ورزش و فعالیت بدنی به عنوان راهکار اصلی پیشگیری از بروز بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت، بیماری‌های قلب و عروق و پرفشاری خون به حساب می‌آید (۹). نیتریک اکساید (NO)، از جمله مواد مترشحه از اندوتلیوم عروق است که در حفظ سلامت دیواره عروق و تنظیم عملکرد تنگ‌کنندگی و گشادکنندگی عروق تأثیر زیادی دارد (۱۰). اگرچه مکانیسم دقیقی برای تغییر ترکیب و یا فعالیت NO در حین ورزش به طور کامل بیان نشده است، تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که استرس تنشی وارد شده به ترکیب اندوتلیوم، منجر به آزادسازی

NO از سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۱۱). از طرف دیگر اندوتلین-۱ یک پپتید منقبض‌کننده قوی عروق است که بوسیله سلول‌های اندوتلیال تولید می‌شود و تأثیر انقباضی قوی در سلول‌های اندوتلیال عروق انسان دارد. بنابراین افزایش سطح اندوتلین-۱ پلازما ممکن است یک شاخص مهم پاتوفیزیولوژی در برخی از بیماری‌ها باشد. به علاوه گزارش شده است که میزان غلظت اندوتلین-۱ در افراد سالمند نسبت به افراد جوانتر به میزان معناداری بالاتر است (۱۱).

مطالعات متعددی نشان می‌دهد فعالیت‌های ورزشی، گشاد شدن عروقی وابسته به اندوتلین در افراد را موجب می‌شود (۱۲). ورزش مقاومتی با شدت‌های کنترل شده، بیشتر باعث کاهش تولید و عملکرد سیستم فعال‌کننده اندوتلین-۱ می‌شود که این موضوع ممکن است برای درک آثار ورزش بر جلوگیری و درمان خطر آترواسکلروز در افراد سالمند سودمند باشد (۱۲). تمرینات آبی بطور گسترده‌ای مورد توجه هستند و به عنوان یکی از روش‌های مطمئن از انواع تمرینات برای سالمندان نشان داده شده است (۱۳). این تقاضا، عمدتاً ناشی از ویژگی‌های خاص این محیط مانند کاهش فشار روی مفاصل و کاهش پاسخ ضربان قلب و فشار خون است (۱۴). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که عملکرد اندوتلیال پس از مصرف منظم کاکائو حاوی فلاوانول، حتی در بیماران سالمند مبتلا به دیابت نوع ۲ بهبود معناداری پیدا کرده است که می‌تواند حمایت‌کننده مصرف این ترکیبات نه تنها در افراد سالم بلکه در افراد بیمار نیز باشد (۱۵).

پلی فنول‌ها به خصوص فلاوانول‌ها با افزایش تولید NO از اندوتلیال باعث گشادی عروق و کاهش فشار خون می‌شوند. چندین متآنالیز هم نشان داده‌اند که غذاهای پرکاکائو، فشار خون را کاهش می‌دهند (۱۶). از طرف دیگر مقوله کیفیت زندگی در قشرهای مختلف

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها

این مقاله با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1398.099 و کد ثبت کارآزمایی بالینی IRCT20200609047708N1 به تصویب رسیده است. در این مطالعه نیمه تجربی پس از اعلام فراخوان در اداره سلامت شهرداری منطقه ۸ تهران و به روش نمونه‌گیری هدفمند و در دسترس، تعداد ۴۰ نفر سالمند زن از اعضا کانون جهانگردان سرراهی محلات منطقه ۸ انتخاب شدند. نمونه‌های این تحقیق در محدوده سنی ۶۰ تا ۷۳ سال قرار داشتند. در ادامه، ۳ نفر به دلیل عدم همکاری، مسائل شخصی و بیماری از مطالعه حذف شدند. بنابراین در نهایت بررسی روی ۳۷ نفر انجام شد که به صورت تصادفی به چهار گروه: تمرین در آب (۸ نفر)، شکلات تلخ ۸۳ درصد (۱۰ نفر)، تمرین - شکلات تلخ ۸۳ درصد (۹ نفر) و گروه کنترل (۱۰ نفر) تقسیم شدند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل: سالمندان سالم با سن بین ۶۰ تا ۷۳ سال، کم تحرک (شرکت نکردن در فعالیت‌های منظم ورزشی در ۱۲ ماه گذشته) و سلامت جسمی و روانی بود. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل: سابقه بیماری‌های خاص (مانند بیماری مزمن ریوی، بیماری ایسکمیک قلبی، بیماری دریچه‌ای قلب و بیماری نارسایی قلبی هیپرتروفیک)، عدم تمایل به ادامه کار، مصرف سیگار، بیماری‌های روحی و روانی (مانند بیماری زوال عقل)، آسیب‌های عضلانی و مفصلی بود.

طرح مطالعه

پیش از شروع مطالعه، در جلسه‌ای با حضور تمام افراد شرکت کننده و پزشک، اهداف و روش اجرای پژوهش تشریح و به همه افراد دعوت نامه‌ای در بردارنده اطلاعاتی در زمینه هدف و چگونگی اجرای پژوهش، فرم رضایت نامه و شرکت داوطلبانه و پرسشنامه سلامت و ریسک بیماری داده شد. پیش از شروع مداخله ۸ هفته‌ای، اطلاعات مربوط به سن، قد، وزن و شاخص توده

اهمیت زیادی دارد، مخصوصاً برای سالمندان که شرایط جسمی، روحی و روانی ویژه‌ای دارند و با تنیدگی ناشی از آن شرایط خاص مواجه هستند (۱۷). بنابراین فراهم سازی بستری با بکارگیری اقدامات مناسب جهت تضمین سلامت سالمندان موضوعی بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۱۸). در تحقیقی که روی افراد ساکن در سرای سالمندان انجام شد، تاثیر ورزش و فعالیت‌های بدنی بر کیفیت زندگی سالمندان بررسی شد. نتایج نشان داد فعالیت بدنی منظم و گروهی می‌تواند موجب بهبود کیفیت زندگی افراد سالمند شود (۱۹).

هدف از به کارگیری این روش در سالمندان، مقابله با ضعف، آسیب پذیری ناشی از نداشتن فعالیت ورزشی، تغییرات بیولوژیک ناشی از پیری، بیماری‌های مزمن، سلامت روانی و ناتوانی به دلیل بیماری‌های حاد و مزمن است (۲۰). به طور کلی مطالعات اخیر به دنبال راهکارهای جدید غیردارویی هستند که بتوانند از طریق آن‌ها اختلالات عملکرد اندوتلیال را در سالمندان کاهش دهند و به دنبال آن کیفیت زندگی را در این افراد بالا ببرند. از طرفی فعالیت ورزشی آثار مفیدی بر بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی دارد که یکی از شاخص‌های عملکرد اندوتلیال همان پاسخ اتساع عروقی حاصل از جریان خون می‌باشد که این موضوع ممکن است برای درک آثار ورزش بر جلوگیری و درمان خطرات مرتبط با سالمندی مفید باشد (۲۱).

بنابراین با توجه به نیاز به توسعه استراتژی‌های غیردارویی نظیر تمرین ورزشی و مکمل‌های مفید برای بالا بردن کیفیت زندگی و جلوگیری یا درمان عوارض مرتبط با سالمندی لزوم انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود. از این رو، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱، نیتریک‌اکساید و کیفیت زندگی زنان سالمند می‌باشد.

در تحقیق خود روایی و پایایی این پرسشنامه را تایید کرده اند (۲۴-۲۲).

مکمل دهی

گروه تمرین مقاومتی در آب به مدت هشت هفته تمرین مقاومتی در آب انجام دادند و هیچ مکملی مصرف نکردند. گروه شکلات تلخ، به مدت هشت هفته شکلات تلخ مذکور را به مقدار ۳۰ گرم (روزانه ۶ عدد ۵ گرمی) دریافت کردند و در هیچ تمرینی مشارکت نکردند (۲۵). گروه تمرین مقاومتی در آب همراه با شکلات تلخ (۸۳ درصد)، در هشت هفته تمرین مقاومتی در آب همزمان با مصرف شکلات تلخ با همان مقدار در طول هشت هفته شرکت کردند و برای گروه کنترل، تمرین و شکلات تلخ هیچکدام تجویز نشد. برای کنترل تاثیر روانی مکمل، گروه های تمرین در سانس متفاوت از گروه تمرین + مکمل، تمرینات را انجام دادند.

پروتکل تمرین مقاومتی در آب

آزمودنی های گروه های تمرین و تمرین + شکلات، سه روز غیر متوالی در هفته حدوداً بین ساعت (۱۱:۳۰ تا ۱۲:۳۰) و (۱۳:۳۰ تا ۱۴:۳۰) به مدت هشت هفته برنامه تمرینی منتخب را در استخر فدک (تحت پوشش سازمان ورزش) با دمای استاندارد اجرا کردند. برنامه هر جلسه تمرین، شامل گرم کردن با انواع حرکات نرمشی و کششی به مدت ۱۰ دقیقه، تمرین های با وزنه های ۰/۵ کیلو، ۱ کیلو، ۱/۵ کیلو و ۲ کیلو برای هر پا و دست، تخته شنا در آب، شامل هشت حرکت بود. این حرکات شامل: فلکشن مفصل ران، اکستنشن مفصل ران و ابداکشن و ابداکشن مفصل ران، تریپل فلکشن ران، زانو و مچ پا، فلکشن و اکستنشن شانه، ابداکشن و ابداکشن شانه، فلکشن و اکستنشن آرنج ها، اسکات همراه با حرکات آرنج با تخته شنا بود. در انتها سرد کردن به مدت ۱۰ دقیقه با انجام حرکات کششی بود. هفته اول بدون وزنه با ۳ ست، ۸ تکرار، ۳۰ ثانیه زمان بین ست ها انجام شد و به تدریج در

بدنی (BMI) ثبت شد. برای سنجش ترکیب بدن از دستگاه BODY COMPOSITION ساخت ژاپن، مدل Omron -BF 511 و برای اندازه گیری قد، از قد سنج Seca با دقت ۰/۱ سانتیمتر استفاده شد.

برای بررسی کیفیت زندگی، از پرسشنامه کیفیت زندگی ۳۶ سوالی (SF-36) استفاده شد. هر فرد با رعایت حریم خصوصی پرسشنامه ای را تکمیل کرد. سالمندانی که توانایی خواندن و نوشتن نداشتند به روش مصاحبه، سوال ها برای آنها خوانده شد و گویه های پرسشنامه بر اساس نظر و انتخاب آنها تکمیل شد. سالمندانی که توانایی خواندن و نوشتن نداشتند پرسشنامه در اختیار آنها قرار داده شد تا گویه های آن را تکمیل کنند، پس از تکمیل، پرسشنامه ها جمع آوری شد، اگر پرسشنامه ای اطلاعات ناقص داشت از شرکت کننده خواسته می شد نسبت به تکمیل اطلاعات اقدام کند.

پرسشنامه ها قبل و بعد از انجام پروتکل تمرین و مصرف شکلات توسط هر چهار گروه تکمیل شدند. این پرسشنامه خود گزارش دهی را برای بررسی کیفیت زندگی و سلامت ساخته اند که ۳۶ عبارت دارد و ۸ قلمرو عملکرد جسمی، عملکرد اجتماعی، ایفای نقش جسمی، ایفای نقش هیجانی، سلامت روانی، سرزندگی، درد بدنی و سلامت عمومی را ارزیابی می کند. پرسشنامه SF-36 استاندارد است و در بسیاری از تحقیقات از آن استفاده شده و روایی و پایایی آن اثبات شده است. این ابزار یکی از ابزارهای معتبر بررسی کیفیت زندگی است که از زمان انتشار آن در سال ۱۹۹۰ تاکنون در بیش از ۵۰ کشور از جمله ایران استاندارد سازی شده است. مدت زمان پاسخ به این پرسشنامه برای افراد عادی ۵ تا ۱۵ دقیقه است (۲۲). در ایران روایی و پایایی این پرسشنامه در مطالعات متعددی ارزیابی شده است. احمدی و همکاران (۲۰۱۷)، ذبیحی و نودهی (۲۰۱۵) و منتظری و همکاران (۲۰۰۵)

هفته‌های بعدی وزنه‌ها، تعداد ست و تعداد تکرار طبق قانون هرمی معکوس (جهت رعایت اصل اضافه بار) اضافه شد (۲۶).

نمونه گیری خونی و آنالیز آن

نمونه خون وریدی از سیاهرگ بازویی قبل و پس از هشت هفته تمرین در لوله‌های حاوی EDTA (3 ml) ریخته شد و بلافاصله بعد از اتمام خون‌گیری برای جدا سازی پلاسما، نمونه‌ها با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ و پلاسماها در ۸۰ - درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری پارامترها ذخیره شدند. سطوح اندولین-۱ پلاسما، به روش الیزا با حساسیت ۰/۰۱ mM از کیت شرکت کازابایو ساخت کشور ژاپن تعیین شد. همچنین برای بررسی سطوح NO از کیت شرکت پرومگا، ژاپن استفاده شد. با استفاده از این کیت سطوح سرمی نیتريت به عنوان یک متابولیت اصلی NO اندازه‌گیری شد.

روش های آماری

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای دموگرافیک آزمودنی‌ها در گروه های مختلف

متغیر ها	گروه ها	گروه کنترل	گروه ترکیبی	گروه شکلات	گروه تمرین
تعداد	۱۰	۱۰	۹	۱۰	۸
سن (سال)	۶۶/۱±۶/۳	۶۶/۱±۶/۳	۶۴/۸±۶/۳	۶۷/۳±۸/۲	۶۴/۲±۷/۲
قد (سانتیمتر)	۱۵۶/۸±۴	۱۵۶/۸±۴	۱۵۷/۳±۸/۴	۱۵۸/۶±۶/۳	۱۵۶/۱±۳/۵
وزن (کیلوگرم)	۷۱/۳±۷/۷	۷۱/۳±۷/۷	۷۱±۵/۷	۷۳/۱±۵/۷	۷۱/۶±۲/۷
(کیلوگرم بر BMI	۲۹±۱/۳	۲۹±۱/۳	۲۸/۳±۳/۲	۲۹±۵/۳	۲۹/۳±۷/۲
مجذور قد به متر)					

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرهای اصلی تحقیق در گروه های مختلف

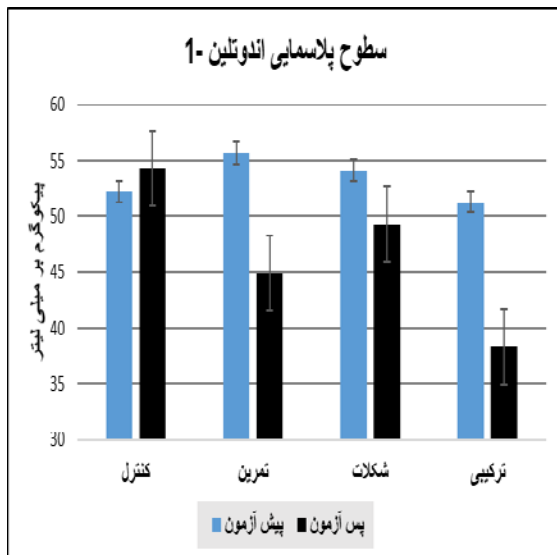
متغیر	گروه	گروه	گروه تمرین	گروه شکلات	گروه ترکیبی	گروه کنترل	مقدار F	سطح معناداری
کیفیت زندگی	پیش آزمون	۹۸/۷ ± ۱۲	۱۷۴/۳ ± ۹	۱۱۰/۲ ± ۱۰	۹۴/۷ ± ۸	۱۰/۸۹۲	۰/۳۵۲	
	پس آزمون	۱۷۷/۸ ± ۹/۸	۱۰۹ ± ۱۴/۶	۱۱۳/۶ ± ۱۲/۷	۱۰۱/۷ ± ۹/۱	۳۹/۳	*۰/۰۲۹	
اندولین-۱	پیش آزمون	۵۵/۷±۱۸/۵	۵۴/۱±۱۹/۲	۵۱/۳±۱۶/۸	۵۲/۲±۱۳/۳	۱/۲۳۱	۰/۲۱۰	
	پس آزمون	۴۴/۹±۱۵/۶	۴۹/۳±۱۷/۵	۳۸/۳±۹/۹	۵۴/۳±۱۸/۱	۸۹/۳۲	*۰/۰۰۱	
NO	پیش آزمون	۱۰/۹±۷/۱	۱۲/۱±۴/۳	۱۱/۲±۲/۳	۹/۸±۱/۲	۰/۸۳۹	۰/۳۲۱	
	پس آزمون	۲۱/۱±۹/۲	۱۶/۲±۷/۱	۲۶/۱±۶/۸	۱۰/۲±۳/۶	۶۱/۶۳	*۰/۰۰۱	

* وجود معنی داری (P < 0.05)

در بخش آمار توصیفی از شاخص پراکنندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) برای تعیین اختلاف در متغیرها بین گروه‌ها به همراه آزمون تعقیبی بنفرونی استفاده شد. تمام تحلیل‌های آماری در سطح معناداری $p \leq 0.05$ انجام شد. ضمناً کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار Excel و SPSS-25 انجام گرفته است.

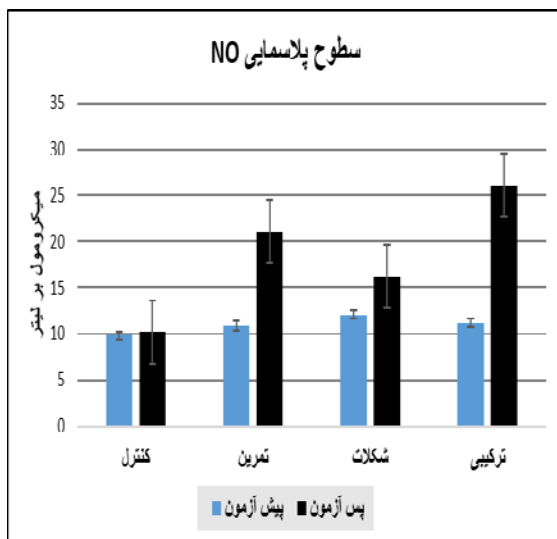
یافته‌ها

مشخصات دموگرافیک آزمودنی‌ها در گروه‌های مختلف در جدول ۱ آورده شده است. شاخص‌های توصیفی میانگین و انحراف معیار متغیرهای کیفیت زندگی، اندولین-۱ و NO مربوط به سالمندان، در جدول ۲ آورده شده است.



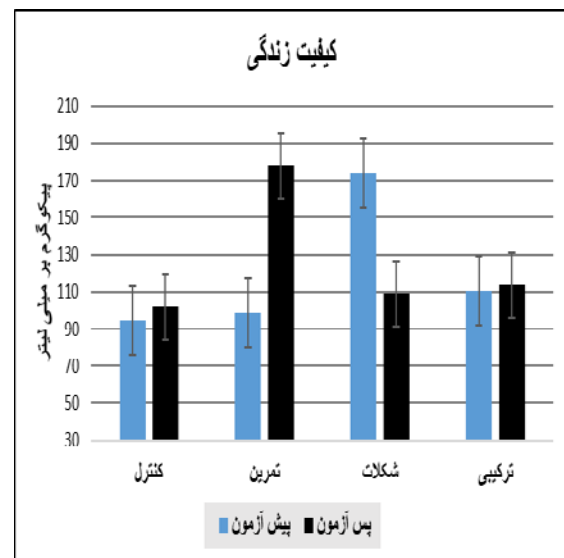
نمودار ۲. میانگین سطوح اندوتلین-۱ گروه های مختلف

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مرحله پس آزمون نشان داد که بین چهار گروه تفاوت معناداری در سطوح NO زنان سالمند وجود دارد ($p=0/001$). با توجه به اختلاف معنادار بین گروهها از آزمون تعقیبی بنفرونی جهت بررسی جایگاه تفاوتها استفاده گردید که نتایج این آزمون نشان داد، میانگین سطوح NO در گروه تمرین مقاومتی در آب به همراه مصرف شکلات تلخ (گروه ترکیبی) نسبت به گروه کنترل ($p=0/001$) و همچنین گروه تمرین مقاومتی در آب نسبت به گروه کنترل ($p=0/014$) در زنان سالمند به طور معناداری بالاتر بود. (نمودار ۳)



نمودار ۳. میانگین سطوح NO گروه های مختلف

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مرحله پس آزمون نشان داد که بین چهار گروه، تفاوت معناداری در شاخص کیفیت زندگی زنان سالمند وجود دارد ($p=0/029$). با توجه به اختلاف معنادار بین گروهها از آزمون تعقیبی بنفرونی جهت بررسی جایگاه تفاوتها استفاده گردید که نتایج این آزمون نشان داد، میانگین شاخص کیفیت زندگی در گروه تمرین مقاومتی در آب نسبت به گروه کنترل در زنان سالمند به طور معناداری بالاتر بود ($p=0/036$). (نمودار ۱)



نمودار ۱. میانگین کیفیت زندگی گروه های مختلف

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مرحله پس آزمون نشان داد که بین چهار گروه تفاوت معناداری در سطوح اندوتلین-۱ زنان سالمند وجود دارد ($p=0/001$). با توجه به اختلاف معنادار بین گروهها از آزمون تعقیبی بنفرونی جهت بررسی جایگاه تفاوتها استفاده گردید که نتایج این آزمون نشان داد، میانگین سطوح اندوتلین-۱ در گروه تمرین مقاومتی در آب به همراه مصرف شکلات تلخ (گروه ترکیبی) نسبت به گروه کنترل ($p=0/012$) و همچنین گروه تمرین مقاومتی در آب نسبت به گروه کنترل ($p=0/019$) در زنان سالمند به طور معناداری پایین تر بود.

(نمودار ۲)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱، نیتریک اکساید و کیفیت زندگی زنان سالمند انجام گرفت. در مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شد تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ باعث کاهش سطوح اندوتلین-۱، افزایش سطوح NO و افزایش کیفیت زندگی در زنان سالمند شد.

نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعه اقبالی و همکاران (۱۳۹۵) در راستای افزایش سطوح NO پس از تمرین مقاومتی در آب به همراه مصرف شکلات تلخ، همخوان است. اقبالی و همکاران (۱۳۹۵) تحقیقی تحت عنوان تأثیر یک دوره تمرینات پیلاتس بر نیتریک اکساید و ضربان قلب استراحتی مردان سالمند انجام دادند، نتایج این تحقیق نشان داد که تمرینات پیلاتس باعث افزایش نیتریک اکساید و ضربان قلب استراحتی مردان سالمند می‌شود (۲۷).

همچنین فراحتی و همکاران (۱۳۹۲) تحقیقی با عنوان طراحی تأثیر تمرینات ایروبیکی بر سطح پلاسمایی نیتریک اکساید و عملکرد اندوتلیوم عروق زنان انجام دادند. نتایج نشان داد هشت هفته تمرین هوازی باعث افزایش تولید نیتریک اکساید و بهبود عملکرد اندوتلیوم عروق زنان شد (۲۸). همچنین این پژوهشگران در پژوهش خود به این نکته اشاره کردند که تمرینات بدنی منظم و مستمر احتمالاً می‌تواند به عنوان یک عامل پیشگیری کننده در بروز بیماریهای قلبی عروقی زنان یائسه مؤثر باشد (۲۸). یول و همکاران (۲۰۲۰) اثرات تمرین منظم هوازی بر سطح نیتریک اکساید خون، اندوتلین-۱ و LDL اکساید شده در ورزشکاران تمرین کرده را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که سطوح نیتریک اکساید بلافاصله پس از تمرین افزایش می‌یابد و باعث بهبود عملکرد عروقی می‌شود (۲۹). اتوسکی و همکاران (۲۰۱۹)

در تحقیق خود با عنوان تأثیر پروتکل‌های مختلف ورزش مقاومتی بر روی نیتریک اکساید، در مردان کم تحرک را مورد بررسی قرار دادند. و گزارش کردند که تولید NO در گروه مقاومتی با شدت زیاد افزایش یافت. که نتایج تحقیقات ذکر شده همگی با تحقیق حاضر همسو می‌باشند و افزایش نیتریک اکساید را در تحقیقات خود گزارش کرده اند (۳۰). نتایج تحقیق حاضر با مطالعه‌ی قارداشی و همکاران (۱۳۹۴) ناهمخوان است.

آنها تحقیقی با عنوان تأثیر تمرین هوازی بر سطوح پلاسمایی نیتریک اکساید، عملکرد سلولهای اندوتلیال عروقی انجام دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد با وجود ده هفته تمرین تناوبی هوازی تأثیر معناداری بر نیتریک اکساید و سلول های اندوتلیال عروقی ندارد (۳۱). از دلایل ناهمخوانی با تحقیق حاضر می‌توان به گروه مورد مطالعه اشاره کرد که در تحقیق قارداشی و همکاران (۱۳۹۴)، زنان میانسال مبتلا به دیابت بودند؛ به نظر می‌رسد طول دوره‌ی تمرینات برای افراد بیمار بیشتر از افراد سالم است. در تحقیق حاضر نشان داده شد که تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ باعث کاهش سطوح اندوتلین-۱ در زنان سالمند شد.

در این رابطه اوکادا و همکاران (۲۰۱۰) تحقیقی با عنوان آثار ۳ ماه تمرین ترکیبی ایروبیکی و مقاومتی بر عملکرد اندوتلیال افراد میانسال غیر فعال انجام دادند، آنها افزایش پاسخ اتساع عروقی حاصل از جریان خون و بهبود عملکرد اندوتلیال بعد از دوره تمرینی را گزارش کردند (۳۲). بقرآبادی و همکاران (۱۳۹۰) تحقیقی با عنوان تأثیر تمرین هوازی بر میزان اندوتلین-۱ زنان میانسال سالم غیر فعال انجام دادند، نتایج این تحقیق نشان داد یک دوره تمرین هوازی تأثیر معناداری بر کاهش غلظت اندوتلین-۱ پلاسمای زنان میانسال دارد که تمام تحقیقات ذکر شده با تحقیق ما همسو می‌باشند و کاهش اندوتلین-۱ را در تحقیقات خود گزارش کرده اند (۳۳).

شدت کنترل شده در آب به همراه مصرف شکلات تلخ می‌تواند از طریق بهبود عملکرد اندوتلیالی و کاهش مقاومت منظم عروقی و افزایش اتساع پذیری سرخرگی، به افزایش جریان خون کرونری و بهبود عملکرد ورزشی در افراد سالمند منجر می‌شود (۳۹،۴۰).

از دیگر نتایج این تحقیق، افزایش کیفیت زندگی زنان سالمند بعد از تمرین مقاومتی در آب بود. مطالعات گسترده‌ای به این نتیجه اشاره کرده‌اند که فعالیت جسمانی در ارتقای کیفیت زندگی نقش دارد (۴۱). تأثیری که فعالیت جسمانی در کیفیت زندگی ایجاد می‌کند به دلیل اثرات فعالیت در شخص است. فعالیت جسمانی در ویژگی‌های مختلف جسمانی، روانی، اجتماعی و معنوی افراد سبب تغییرات گسترده در جهت مثبت می‌شود که برآیند این اثرات بالا بودن کیفیت زندگی است (۲۲).

یافته‌های تحقیق احمدی و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد میانگین رتبه سلامت عمومی سالمندان فعال به طور معناداری بالاتر از میانگین رتبه سالمندان غیرفعال است. بر این اساس بین وضعیت کیفیت زندگی سالمندان فعال و غیرفعال شهرستان بندرگز از نظر مؤلفه سلامت عمومی، تفاوت معناداری وجود دارد (۲۲). ورزش کردن می‌تواند در ابعاد مختلف موجب تقویت جسم و روح شود و بر این اساس سلامت عمومی بدن را افزایش دهد. سالمندانی که فعالیت جسمانی دارند بسیاری از ویژگی‌های فردی، جسمانی، روانی و هیجانی آنها که در نتیجه فرایند پیری دچار تغییرات گسترده شده است تحت تأثیر قرار می‌گیرد. فعالیت جسمانی سبب به تأخیر افتادن ناتوانی‌های ناشی از پیری می‌شود (۴۲).

براساس یافته‌های تحقیق حاضر، آزمودنی‌های فعال به طور معناداری کمتر از آزمودنی‌های غیرفعال دچار محدودیت عملکرد بدنی بوده‌اند. بنابراین، سلامت عملکرد بدنی در زنان سالمندی که به فعالیتهای جسمانی منظم

اما در این رابطه تاگاو و همکاران (۲۰۱۸)، تحقیقی با عنوان تأثیر تمرین مقاومتی بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱ مردان سالم انجام دادند که نتایج آن نشان داد غلظت اندوتلین-۱ پلازما با ورزش مقاومتی تغییر معناداری پیدا نکرد (۳۴) که با نتایج تحقیق حاضر ناهمخوان بود که از دلایل ناهمخوانی می‌توان به شدت و نوع تمرین مقاومتی (پروتکل تمرینی حاضر در آب صورت گرفت) و گروه مورد مطالعه اشاره کرد. از طرف دیگر شکلات و سایر فرآورده‌های غنی از فلاونوئید کاکائو، دارای خاصیت کاهش فشار خون هستند و به همین دلیل به عنوان یک درمان غیردارویی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۳۵).

اثرات مفید کاکائو به واسطه مکانیزم‌های وابسته به NO و عملکرد اندوتلیال مورد مطالعه قرار می‌گیرد (۳۶). نقص در آزاد سازی NO منجر به عدم کارایی اندوتلیوم خواهد شد که در این حالت عروق تمایل به منقبض شدن و در نتیجه افزایش فشار خون خواهند داشت (۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که پلی فنول‌ها سبب افزایش NO و کاهش اندوتلین-۱ می‌شوند (۱۶). مصرف کاکائو حاوی پلی فنول باعث افزایش وازودیلاسیون محیطی در افراد سالم شده و تجویز N-L منومیتیل آرژینین که مهار کننده رقابتی سنتز NO است، باعث مهار این پدیده شد که می‌توان چنین برداشت کرد که این اثر مفید کاکائو نیز به واسطه مکانیزم‌های وابسته به NO و اندوتلیال انجام می‌گیرد (۳۷).

علاوه بر این فلاونوئیدهای شکلات مانع از تبدیل NO به پروکسی نیتريت غیر فعال می‌شوند (۳۷). همچنین در مطالعه‌ای در سطح سلول، شکلات تلخ به طور معناداری آنزیم مبدل آنژیوتانسین را مهار و میزان NO را در سلول‌های اندوتلیال انسانی افزایش و میزان اندوتلین-۱ را کاهش داد (۳۸). به طور کلی به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی با

کنترل شده در آب به همراه مصرف شکلات و سایر فرآورده های غنی از فلاونوئید جهت بهبود وضعیت اندوتلیال عروق خود استفاده کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران می باشد. بدین وسیله از زحمات ریاست محترم اداره سلامت شهرداری منطقه ۸، دبیر کانون جهاندیدگان، مسئولین سلامت سرای تهرانپارس، سرای کرمان و سرای هفت حوض که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

می پردازند در مقایسه با زنان سالمند غیرفعال بیشتر است. فعالیت بدنی بر قدرت، استقامت عضلانی، استقامت قلبی عروقی، انعطاف پذیری، سرعت، چابکی، تعادل و دیگر ویژگی های افراد اثر مثبت دارد. وجود هریک از این ویژگی ها، موجب توانمندی جسمانی و عملکردی افراد می شود. از این رو، انتظار می رود زنان سالمندی که فعالیت جسمانی دارند، هم راستا با فعالیت هایشان، عملکردشان نیز ارتقا یابد (۴۲).

تحقیق حاضر به تنهایی قادر نبود تمامی شاخص های درگیر در عملکرد اندوتلیال را کنترل کند و این مورد را می توان به عنوان محدودیت این تحقیق ذکر کرد. از این رو پیشنهاد می شود که محققان اثرات متقابل سایر فاکتور های درگیر در این فرآیند را مورد بررسی قرار دهند. به طور کلی بر اساس نتایج حاضر می توان نتیجه گیری کرد که احتمالاً تمرین مقاومتی در آب همراه با مصرف شکلات تلخ از طریق کاهش غلظت سطوح اندوتلین-۱ و افزایش سطوح NO منجر به بهبود عملکرد اندوتلیالی و افزایش کیفیت زندگی در زنان سالمند می شود. و پیشنهاد می شود زنان سالمند از تمرینات ورزشی

References

1. Brach JS, Simonsick EM, Kritchevsky S, Yaffe K, Newman AB, Health A, et al. The association between physical function and lifestyle activity and exercise in the health, aging and body composition study. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2004;52(4):502-9.
2. Mortazavi SS, Ardebili HE, Mohamad K, Beni RD. Assessing the mental health status of elderly in Shahrekord and relationship with sociodemographic factors. *Payesh (Health Monitor)*. 2011;10(4):485-92.
3. Prestes J, Shiguemoto G, Botero JP, Frollini A, Dias R, Leite R, et al. Effects of resistance training on resistin, leptin, cytokines, and muscle force in elderly post-menopausal women. *Journal of sports sciences*. 2009;27(14):1607-15.
4. Numao S, Katayama Y, Nakata Y, Matsuo T, Nakagaichi M, Tanaka K. Association of abdominal fat with metabolic syndrome components in overweight women: effect of menopausal status. *Journal of physiological anthropology*. 2020;39:1-8.
5. Suzuki FS, Evangelista AL, Teixeira CVLS, Paunksnis MRR, Rica RL, Evangelista RAGdT, et al. Effects of a multicomponent exercise program on the functional fitness in elderly women. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2018;24(1):36-49.
6. Viridis A, Taddei S. Endothelial dysfunction in resistance arteries of hypertensive humans: old and new conspirators. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2016;67(6):451-7.
7. Qassemian A, Daryanoush F, Ghasemian E, Shakoor E. Responses of endothelin-1 and arterial blood pressure of postmenopausal women to aerobic exercise training. *Iranian Journal of Ageing*. 2016;11(2):368-79.
8. Reynolds LJ, Credeur DP, Manrique C, Padilla J, Fadel PJ, Thyfault JP. Obesity, type 2 diabetes, and impaired insulin-stimulated blood flow: role of skeletal muscle NO synthase and endothelin-1. *Journal of applied physiology*. 2017;122(1):38-47.
9. Zhang L, Qin LQ, Liu AP, Wang PY. Prevalence of risk factors for cardiovascular disease and their associations with diet and physical activity in suburban Beijing, China. *J Epidemiol*. 2010;20(3):237-43.
10. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*. 2012;33(7):829-37.
11. Tsukiyama Y, Ito T, Nagaoka K, Eguchi E, Ogino K. Effects of exercise training on nitric oxide, blood pressure, and antioxidant enzymes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2017:16-108.
12. Pearson SJ, Hussain SR. A review on the mechanisms of blood-flow restriction resistance training-induced muscle hypertrophy. *Sports medicine*. 2015;45(2):187-200.
13. Reichert T, Kanitz AC, Delevatti R, Kruegel L. Corrida em piscina funda promove

- manutenção da pressão arterial ao longo de cinco anos. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde*. 2015;20(6):580-594.
14. Alberton CL, Finatto P, Pinto SS, Antunes AH, Cadore EL, Tartaruga MP, et al. Vertical ground reaction force responses to different head-out aquatic exercises performed in water and on dry land. *Journal of sports sciences*. 2015;33(8):795-805.
 15. Zhang D, Du M, Wei Y, Wang C, Shen L. A review on the structure-activity relationship of dietary flavonoids for protecting vascular endothelial function: Current understanding and future issues. *Journal of Food Biochemistry*. 2018;42(5):e12557.
 16. Socci V, Tempesta D, Desideri G, De Gennaro L, Ferrara M. Enhancing human cognition with cocoa flavonoids. *Frontiers in Nutrition*. 2017;4:19.
 17. Basu D. Quality-of-life issues in mental health care: Past, present, and future. *German Journal of Psychiatry*. 2004;7(3):35-43.
 18. Lang T, Streeper T, Cawthon P, Baldwin K, Taaffe DR, Harris T. Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. *Osteoporosis international*. 2010;21(4):543-59.
 19. Hamidizadeh S, Ahmadi F, Aslani Y, Etemadifar S, Salehi K, Kordeyazdi R. Study effect of a group-based exercise program on the quality of life in older men and women in 2006-2007. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services*. 2007;16(1).
 20. Brown DR, Carroll DD, Workman LM, Carlson SA, Brown DW. Physical activity and health-related quality of life: US adults with and without limitations. *Quality of life research*. 2014;23(10):2673-80.
 21. Lee J-H, Lee R, Hwang M-H, Hamilton MT, Park Y. The effects of exercise on vascular endothelial function in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2018;10(1):15.
 22. Ahmadi M, Noudehi M, Esmaeili M, Sadrollahi A. Comparing the quality of life between active and non-active elderly women with an emphasis on physical activity. *Iranian Journal of Ageing*. 2017;12(3):262-75.
 23. Montazeri A, Goshtasebi A, Vahdaninia M. Translating, reliability and validity of Persian form of SF-36 standard tool. *Payesh*. 2005;5(1):49-56.
 24. Zabihi A, Noudehi M, editors. Compared health related quality of life between active and passive faculty member of Islamic Azad University of Semnan province. 1th Congress of Physical Education and Sport Science; 2015.
 25. Haghghat N, Rostami A, Eghtesadi S, Shidfar F, Heidari I, Hoseini A. The effects of dark chocolate on glycemic control and blood pressure in hypertensive diabetic patients: a randomized clinical trial. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2013;20(113):78-86.

26. Costa RR, Kanitz AC, Reichert T, Prado AKG, Coconcelli L, Buttelli ACK, et al. Water-based aerobic training improves strength parameters and cardiorespiratory outcomes in elderly women. *Experimental gerontology*. 2018;108:231-9.
27. Eghbali F, Moradi M. The Effect of A Course of Pilates Exercise on Hypertension, Nitric Oxide, and Resting Heart Rate in the Eldrly Men with Hypertension. *Arak Medical University Journal*. 2017;19:1-10.
28. Farahati S, Atarzadeh Hosseini SR, Bijeh N, Mahjoob O. The effect of aerobic exercising on plasma nitric oxide level and vessel endothelium function in postmenopausal women. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2014;20(115):78-88.
29. Yol Y, Turgay F, Yigittürk O, Aşıkovalı S, Durmaz B. The effects of regular aerobic exercise training on blood nitric oxide levels and oxidized LDL and the role of eNOS intron 4a/b polymorphism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2020;1866(12):165913.
30. Otsuki T, Nakamura F, Zempo-Miyaki A. Nitric oxide and decreases in resistance exercise blood pressure with aerobic exercise training in older individuals. *Frontiers in Physiology*. 2019;10:1204.
31. Ghardashi Afousi A, Gaeini A, Gholami Borujeni B. The effect of aerobic interval training on endothelial vasculature function in type 2 diabetes patient. *Iranian Journal of Rehabilitation Research in Nursing*. 2016;2(3):27-39.
32. Okada S, Hiuge A, Makino H, Nagumo A, Takaki H, Konishi H, et al. Effect of exercise intervention on endothelial function and incidence of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2010;1005120226-.
33. Boghrabadi v, hejazi sm, peeri m, nejatpour s. The effect of Aerobic exercise training on endothelin-1 concentration in old women. *Quarterly of Horizon of Medical Sciences*. 2012;17(4):70-7.
34. Tagawa K, Ra S, Kumagai H, Yoshikawa T, Yoshida Y, Takekoshi K, et al. Effects of resistance training on arterial compliance and plasma endothelin-1 levels in healthy men. *Physiological research*. 2018;67:S155-S66.
35. Rostami A, Khalili M, Haghighat N, Eghtesadi S, Shidfar F, Heidari I, et al. High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves blood pressure in patients with diabetes and hypertension. *ARYA atherosclerosis*. 2015;11(1):21.
36. Engler MB, Engler MM, Chen CY, Malloy MJ, Browne A, Chiu EY, et al. Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. *Journal of the American College of Nutrition*. 2004;23(3):197-204.
37. Álvarez-Cilleros D, Ramos S, Goya L, Martín MÁ. Colonic metabolites from flavanols stimulate nitric oxide production in human endothelial cells and protect against oxidative stress-induced toxicity

- and endothelial dysfunction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;115:88-97.
38. Horie K, Nanashima N, Maeda H. Phytoestrogenic effects of blackcurrant anthocyanins increased endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in human endothelial cells and ovariectomized rats. *Molecules*. 2019;24(7):1259.
39. Jun J-K, Park H-G, Li W, Lee Y-R, Jung J-H, Lee W-L, et al. Effects of endurance exercise on estrogen receptors, endothelin-1, and eNOS expression in aorta of OVX rats. *Exercise Science*. 2016;25(3):159-65.
40. Taş M, Kiyici F. The chronic effect of speed exercises of football players on the Nitric oxide (NO) level. *AGE*. 2010;18(19.00):30.00.
41. Lin M-S, Chen P-H, Chiu W-N, Chen M-Y. Evidence of specific healthy behaviors positively associated with general life satisfaction among rural adults. *Open Journal of Preventive Medicine*. 2016;6(6):161-9.
42. De Souto Barreto P, Denormandie P, Lepage B, Armaingaud D, Rapp T, Chauvin P, et al. Effects of a long-term exercise programme on functional ability in people with dementia living in nursing homes: Research protocol of the LEDEN study, a cluster randomised controlled trial. *Contemporary clinical trials*. 2016;47:289-95.

The Effect of Eight Weeks of Water Resistance Training with Dark Chocolate Consumption on Plasma Levels of Endothelin-1, Nitric Oxide and Quality of Life in Elderly Women

Mohamadkhani M^{1*}, Ghazalian F²

1. MSc of Exercise Physiology (Sports Nutrition), Azad University of Tehran Sciences and Research Branch, m.mohamadkhani1399@gmail.com

2. PhD in Sports Physiology, Assistant Professor, Azad University of Tehran Sciences and Research Branch

Received: 20 Jun 2021

Accepted: 13 March 2021

Abstract

Background: Vascular endothelial cells play an important role in regulating vascular activity by producing vascular active substances such as endothelin-1 and nitric oxide. The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of water resistance training with dark chocolate consumption on plasma levels of endothelin-1, nitric oxide and quality of life in elderly women.

Materials and Methods: In this semi-experimental study, 37 elderly women (mean \pm standard deviation; age, 65.6 ± 3.1 years; weight 75.71 ± 7.7 kg) were purposefully divided into four complementary groups. Supplementation and exercise, exercise and control were included. The training protocol was performed for eight weeks of water resistance training. Supplementation of 30 grams of 83% dark chocolate daily was used for 8 weeks. Quality of life index was measured by SF-36 evaluation and plasma endothelin-1 levels by ELISA and serum nitrite levels as the main metabolite of NO. One-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc test were used for statistical analysis.

Results: The results showed that the mean quality of life index in the water resistance training group was significantly higher than the control group in elderly women ($p = 0.036$). Also, the mean NO levels in the combined group were significantly higher than the control group ($p = 0.001$). But the mean levels of endothelin-1 in the combined group were significantly lower than the control group ($p = 0.012$).

Conclusion: Based on the present results, it can be concluded that resistance training in water along with consumption of dark chocolate may reduce endothelin-1 levels and increase NO levels to improve endothelial function and increase quality of life in elderly women.

Keywords: Dark chocolate, Water resistance training, Endothelial, Quality of life, Elderly.

***Citation:** Mohamadkhani M, Ghazalian F. The Effect of Eight Weeks of Water Resistance Training with Dark Chocolate Consumption on Plasma Levels of Endothelin-1, Nitric Oxide and Quality of Life in Elderly Women. *Yafte*. 2021; 23(2):182-195.