علوم زیستی ورزشی ـ زمستان ۱۳۹۱
شمارهٔ ۱۵ - ص ص : ۶۲- ۴۵
تاریخ دریافت : ۳۰/ ۰۴ / ۹۱
تاریخ تصویب : ۲۹ /۰۶ / ۹۱

پاسخ های هورمونی، شاخص های آسیب سلولی و غلظت اسیدهای آمینهٔ پلاسما به دنبال فعالیت مقاومتی حاد همراه با مصرف مکمل BCAA

۱.داریوش شیخ الاسلامی وطنی [1] - ۲. آرزو مرادی
۱.استادیار دانشگاه کردستان،۲. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه کردستان

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر حاد تمرین مقاومتی همراه با مکمل اسید آمینهٔ شاخه‌دار بر غلظت اسیدهای آمینهٔ پلاسما، پاسخ‌های هورمونی و شاخص‌های آسیب عضلانی در زنان جوان سالم بود. ۱۰ دانشجوی فعال دختر که حداقل دو جلسه فعالیت ورزشی منظم در طول هفته داشته و سابقهٔ مصرف هیچ نوع مکملی نداشتند، به‌صورت داوطلب در یک طرح مقطعی دوسوکور شرکت کردند. طرح تحقیق در دو جلسه با فاصلهٔ ۶ هفته انجام گرفت. فعالیت مقاومتی شامل هفت حرکت (دو حرکت پایین‌تنه و پنج حرکت بالاتنه) با شدت ۵۰ درصد 1RM در ۵ ست، ۱۵-۱۲ تکرار بود. درهر جلسه نیمی از آزمودنی‌ها به‌صورت تصادفی مکمل (۴/۵ گرم BCAA به صورت محلول) و نیمی دیگر دارونما (به همان مقدار دکستروز) مصرف کردند. نمونه‌های خونی قبل از فعالیت (ناشتا)، بلافاصله بعد از فعالیت، ۳ ساعت بعد از فعالیت و همچنین در روز بعد (مشابه نمونهٔ اول) جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد مکمل‌سازی BCAA موجب افزایش چشمگیر اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پس از فعالیت شد ($P< ۰/۰۵$). همچنین پس از فعالیت و سه ساعت پس از آن، افزایش معناداری در مقادیر لوسین و ایزولوسین در شرایط مصرف مکمل (در مقایسه با شرایط دارونما) دیده شد ($P< ۰/۰۵$). این در حالی بود که متیونین در هر دو شرایط، بلافاصله پس از فعالیت کاهش یافت ($P< ۰/۰۵$)، اما گلوتامین و فنیل الانین تنها در شرایط مکمل و آن هم بلافاصله پس از فعالیت کاهش معناداری داشتند. علاوه‌بر این، لاکتات دهیدروژناز ($P> ۰/۰۵$) و کراتین کیناز ($P< ۰/۰۵$) به‌عنوان شاخص‌های آسیب سلولی در هر دو شرایط به‌دنبال فعالیت افزایش یافتند. تغییرات هورمون‌های انسولین و کورتیزول نیز در هر دو شرایط مکمل و دارونما الگوی مشابهی داشت. به‌نظر می‌رسد تنها یک بار مصرف مکمل قبل از شروع فعالیت مقاومتی حاد بر غلظت اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پلاسما تأثیر مثبتی داشته باشد، درحالی‌که مکمل موجب کاهش غلظت گلوتامین، فنیل الانین و متیونین شد. در هر حال، شاخص‌های آسیب سلولی (CK ، LDH) و هورمون‌های انسولین و کورتیزول تحت تأثیر دریافت قبل از فعالیت مکمل قرار نگرفتند.

واژه‌های کلیدی

اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پلاسما، انسولین، کورتیزول، لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز.

۱- نویسندهٔ مسئول : تلفن : **۰۹۱۲۲۲۵۰۷۲۴**
Email: dvatani2000@yahoo.com

مقدمه

پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد میزان سنتز پروتئین عضله در حین اجرای فعالیت حاد مقاومتی کاهش می‌یابد، البته پس از فعالیت بار دیگر به شرایط اولیه باز خواهد گشت. این تغییر از طریق سازوکار فعال‌سازی سیگنال[1] mTOR است (۷). یکی از دلایلی که موجب شده حین فعالیت، سنتز پروتئین دیده نشود، اولویت عضله برای تأمین ATP سلول‌های عضلانی درگیر و نه سنتز پروتئین است (۱۱، ۵).

اظهار شده که سازوکارهای سلولی احتمالی درگیر در کاهش سنتز پروتئین حین فعالیت مقاومتی عبارتند از: افزایش شدید اسیدوز ناشی از فعالیت مقاومتی، افزایش در فشار انرژی سلولی، افزایش فعالیت AMPK[2]، به‌عنوان یک سنسور انرژی سلولی، در حین و یک ساعت پس از یک وهله فعالیت مقاومتی (۱۰).

موارد مطرح‌شده موجب شده بسیاری از پژوهشگران تأثیر انواع مکمل‌های اسید آمینه را قبل، حین و بعد از فعالیت مقاومتی بررسی کنند (۳۲، ۳). تحقیقات بعدی نشان دادند که مکمل اسید آمینه برای اثربخشی بیشتر باید قبل از فعالیت مصرف شود (۲۷، ۱۵).

برخی از اسیدهای آمینه مانند BCAA منبع مهم انرژی برای عضلات در طول تمرین هستند (۲۳، ۱۳). همچنین دیده شده که اکسیداسیون لوسین (به‌عنوان یکی از اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار) همراه با شدت تمرین افزایش پیدا می‌کند (۱۷، ۲). تحقیقات زیادی تأثیر مکمل BCAA را بررسی کرده‌اند، اما بیشتر تحقیقات انجام گرفته در شرایط تمرین استقامتی صورت گرفته است (۲۱، ۱۷، ۱۶، ۴). مصرف مکمل BCAA به‌ویژه لوسین از طریق افزایش سنتز پروتئین عضله تأثیرات آنابولیکی بر سوخت‌وساز پروتئین (۱) و کاهش تجزیهٔ پروتئین (۱۹) دارد. در دو تحقیق جداگانه مشاهده شد که به‌ترتیب مصرف ۷۷ و ۳۸۰ میلی‌گرم BCAA موجب کاهش تجربهٔ پروتئین عضلهٔ ناشی از تمرین طولانی‌مدت خواهد شد (۲۰، ۱۹). در شرایط آزمایشگاهی در عضلهٔ اسکلتی و قلبی افزایش غلظت BCAA همراه با لوسین به تحریک سنتز پروتئین عضله (۲۲)، و مصرف لوسین به تنهایی به کاهش اسیدها آمینهٔ ضروری پلاسما منجر شده است (۲۲). از آنجا که تمرین بر سوخت‌وساز اسیدهای آمینه تأثیر می‌گذارد، در مواجهه با شرایط تمرینی، افزایشی در کاتابولسیم اسیدهای آمینه رخ می‌دهد

1 . Mammalian target of rapamycin
2 . Adenosine monophosphate – activated protein kinases

که در این میان اکسیداسیون اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار به‌ویژه لوسین همراه با افزایش شدت تمرین دیده شده است (۳۳، ۳۱). باتوجه به تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر سوخت‌وساز اسیدهای آمینه، تأثیر مصرف مکمل BCAA بر تغییرات غلظت اسیدهای آمینه هنوز به‌خوبی مشخص نیست.

برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که مصرف اسیدهای آمینه قبل از شروع فعالیت (در مقایسه با مصرف اسیدهای آمینه بعد از اتمام فعالیت)، موجب افزایش سنتز پروتئین در دورهٔ ریکاوری و بعد از آن می‌شود (۲۷، ۱۵). از طرف دیگر، در زمینهٔ کاهش آسیب عضلانی ناشی از فعالیت، مصرف مکمل بررسی شده است. برخی یافته‌ها بر سودمندی این مکمل در ارتباط با تمرین استقامتی و پس از مکمل‌سازی طولانی‌مدت آن اشاره داشته‌اند (۱۶، ۹). اما تا جایی که محقق بررسی کرده، تنها یک تحقیق در زمینهٔ تأثیر این مکمل بر آسیب عضلانی ناشی از تمرین مقاومتی انجام گرفته است (۳۰).

باتوجه به موارد مطرح‌شده، این پژوهش سعی دارد از یک سو تأثیر مصرف کوتاه‌مدت (و قبل از شروع فعالیت) مکمل BCAA را بر غلظت‌های پلاسمایی اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پلاسما، از سوی دیگر، آثار احتمالی مصرف این مکمل بر شاخص‌های آسیب سلولی (لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز) را طی فعالیت مقاومتی حاد بررسی کند. در ضمن سازوکارهای پاسخگو به تغییرات غلظت اسیدهای آمینه و شاخص‌های آسیب عضلانی تحت مکمل‌سازی اسید آمینهٔ شاخه‌دار هنوز مشخص نیستند. برخی تحقیقات یکی از سازوکارهای احتمالی را تغییر در واکنش‌های هورمونی مطرح کرده‌اند (۱۲، ۸). بنابراین با بررسی تغییرات احتمالی در ترشح هورمون‌های انسولین و کورتیزول، سازوکار احتمالی تغییرات در متغیرهای مورد بحث بررسی خواهد شد.

روش تحقیق

۱۰ دانشجوی دختر رشتهٔ تربیت بدنی (به لحاظ بدنی فعال) با میانگین سنی ۱/۵±۲۲ سال، وزن ۳/۹۰±۵۹/۱۸ کیلوگرم، قد ۵/۹۵ ± ۱۶۲ سانتی‌متر، و شاخص تودهٔ بدنی ۱/۶۷ ± ۲۲/۳۲ کیلوگرم بر مترمربع در این تحقیق شرکت کردند. آزمودنی‌ها از بین داوطلبانی انتخاب شدند که حداقل دو جلسه فعالیت ورزشی منظم (و نه فعالیت مقاومتی) در طول هفته داشتند و هیچ نوع مکملی مصرف نکرده بودند. همچنین در یک ماه

گذشته هیچ بیماری خاص یا مصرف دارویی نداشتند. باتوجه به جنسیت آزمودنی‌ها، کسانی مدنظر قرار گرفتند که در مرحلهٔ لوتئال دورهٔ ماهیانه قرار داشتند. آزمودنی‌ها پس از تشریح مراحل اجرای طرح و ذکر خطرهای احتمالی، رضایت‌نامهٔ شرکت در طرح را امضا کردند. همچنین این طرح به شمارهٔ مجوز ۱۰۰۶۹۱۶ مورد تأیید دانشگاه کردستان و کمیتهٔ اخلاق آن قرار گرفت. طرح تحقیق به‌صورت مقطعی و دوسوکور در دو جلسه با فاصلهٔ شش هفته انجام گرفت. یک هفته قبل از شروع هر مرحله از آزمون، 1RM آزمودنی‌ها در حرکات جلو پا ماشین، پشت پا ماشین، پرس سینه، زیر بغل سیم کش، سرشانه از عقب، پشت بازو و جلو بازو با هالتر اندازه-گیری شد. از آزمودنی خواسته شد که در طول دورهٔ تحقیق از اجرای فعالیت‌های بدنی طاقت‌فرسا و سخت و همچنین مصرف هرگونه مکمل غذایی در طول دوره اجتناب کنند (هیچ کدام از آنها مصرف مکمل یا بیماری خاصی را در طول دورهٔ تحقیق گزارش نکردند). از آزمودنی‌ها طی دو مرحله (۲۴ ساعت قبل از شروع جلسهٔ اول و ۲۴ ساعت قبل از شروع جلسهٔ دوم)، یادآمد ۴۸ ساعتهٔ رژیم غذایی گرفته شد و در هر دو مرحله براساس جدول ترکیبات غذایی (۱۸) میزان دریافت هرکدام از مواد مغذی مورد نظر برآورد شد (جدول ۱). هیچ تفاوتی به لحاظ ترکیب مواد غذایی و مقدار کل کالری دریافتی بین آزمودنی‌های دریافت‌کنندهٔ مکمل و دارونما دیده نشد. شایان ذکر است آزمودنی‌ها دانشجویان ساکن خوابگاه دانشجویی بوده و از سبد غذایی به نسبت مشابهی برخوردار بودند.

جدول ۱ – ترکیب مواد غذایی مصرفی آزمودنی‌ها در گروه‌های مصرف‌کنندهٔ مکمل و دارونما

	جلسهٔ اول		جلسهٔ دوم	
	دارونما	BCAA	دارونما	BCAA
انرژی کل (کیلوکالری)	۲۳۵۵ ± ۱۰۶	۲۲۸۶ ± ۱۷۰	۲۲۹۰ ± ۱۳۴	۲۳۱۰± ۱۲۱
پروتئین کل (گرم در روز)	۱۲۸ ± ۱۹	۱۲۴ ± ۳۷	۱۲۹ ± ۴۳	۱۳۱ ± ۳۲
کربوهیدرات کل (گرم در روز)	۳۲۲ ± ۲۹	۳۱۱ ± ۴۶	۳۴۴ ± ۵۲	۳۱۹ ± ۳۸
چربی کل (گرم در روز)	۷۱ ± ۱۰	۷۶ ± ۱۸	۶۹ ± ۱۳	۷۹ ± ۲۱

در روز آزمون، همهٔ آزمودنی‌ها در ساعت ۷ صبح در سالن تمرین حضور داشتند و به مدت ۳۰ دقیقه در حالت استراحت قرار گرفتند. در ساعت ۷:۳۰ صبح اولین نمونهٔ خونی بعداز حدود ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه

گرفته شد. برای کاهش اثر گرسنگی بر کاتابولیسم اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار، در ساعت ۸ صبح یک صبحانهٔ سبک (یک عدد کیک و آبمیوه با قند کم حدود ۳۰۰ کیلوکالری) به آزمودنی‌ها داده شد. در ساعت ۸:۳۰ صبح، نیمی از آزمودنی‌ها مکمل BCAA دریافت کردند (۴/۵ گرم مکمل اسید آمینهٔ شاخه‌دار حدود معادل g/kg ۰/۰۷) و مابقی افراد، دارونما (به همان مقدار دکستروز) دریافت کردند. برای شبیه‌سازی، مکمل و دارونما به‌صورت محلول (با حجم یکسان) و با افزودن طعم پرتقال داده شد. مقدار تجویزشده براساس مقادیر توصیه‌شده بود (۳۱، ۲۹). سه اسید آمینهٔ لوسین، ایزولوسین و والین با نسبت یکسان (هرکدام ۳۳ درصد) در ترکیب مکمل وجود داشتند. ۲۰ دقیقه بعد از مصرف مکمل یا دارونما برنامهٔ تمرینی اجرا شد. مطالعات قبلی ۳۰ – ۱۵ دقیقه قبل از فعالیت را برای مصرف مکمل پیشنهاد داده‌اند (۳۰، ۱۹). میانگین دمای محیط حین اجرای فعالیت در جلسات اول و دوم به ترتیب ۲۱/۳ و ۲۵/۵ سانتی‌گراد بود. در ادامه از هر آزمودنی بلافاصله بعد از اتمام فعالیت خونگیری به‌عمل آمد. در نهایت ۳ ساعت بعد از قطع فعالیت، بار دیگر نمونهٔ خونی به مقدار مشابه اخذ شد. در فاصلهٔ زمانی بین دومین و سومین خونگیری (طی ۳ ساعت ریکاوری) آزمودنی‌ها بدون هیچ‌گونه فعالیت بدنی و هیچ نوع تغذیه‌ای در سالن بدنسازی و در حال استراحت بودند. در نهایت از آزمودنی‌ها خواسته شد که بدون هیچ نوع فعالیت بدنی اضافی در ساعت ۷ صبح روز بعد به‌منظور آخرین نمونهٔ خونی (مشابه نمونهٔ اول) مراجعه کنند. در هر مرحله ۸ سی‌سی خون از ورید آرنجی گرفته شد. در جلسهٔ دوم آزمون، ۶ هفته بعد از اجرای جلسهٔ اول، تمام مراحل اجرا عیناً تکرار شد. با این تفاوت که جای افراد دریافت‌کنندهٔ مکمل و دارونما تغییر کرد. از آزمودنی‌ها خواسته شد که در فاصلهٔ زمانی بین دو جلسه (۶ هفته) از فعالیت‌های سنگین پرهیز کنند و فعالیت-هایی مشابه با زمان قبل از اجرای جلسهٔ اول آزمون داشته باشند. قبل از شروع جلسهٔ دوم آزمون، برگه‌های ثبت تغذیه و فعالیت بدنی مربوط به جلسهٔ اول به آزمودنی‌ها برگردانده شد و از آنها خواسته شد که سه روز قبل از شروع جلسهٔ دوم تا حد امکان تغذیه و فعالیت بدنی مشابه با جلسهٔ اول داشته باشند. برای به حداقل رساندن اثر ناشی از مصرف مکمل (washout) و کاهش آثار کوفتگی ناشی از فعالیت مقاومتی، جلسهٔ دوم آزمون با فاصلهٔ ۶ هفته انجام گرفت (۳۰). از نمونه‌های خونی هم سرم و هم پلاسما استخراج شد. پلاسما به‌منظور اندازه‌گیری اسیدهای آمینه و سرم برای اندازه‌گیری هورمون‌های انسولین، کورتیزول و همچنین فعالیت آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز استفاده شد.

فعالیت مقاومتی

فعالیت مقاومتی مورد نظر در این تحقیق، حرکات روتین با وزنه بود. حرکات شامل جلو پا ماشین، پشت پا ماشین، پرس سینه، زیر بغل سیم‌کش، سر شانه از عقب، پشت بازو، و جلو بازو با هالتر با شدت ۵۰ درصد 1RM در ۵ ست، ۱۵ – ۱۲ تکرار اجرا شدند. شدت کم به‌دلیل عدم سابقهٔ آزمودنی‌ها در اجرای تمرینات مقاومتی در نظر گرفته شد، اما با انجام ست‌ها و تکرارهای زیاد سعی شد حداکثر فشار اعمال شود. استراحت بین ست‌ها ۲ دقیقه و در بین حرکات ۳ دقیقه به صورت غیرفعال در نظر گرفته شد. تشویق کلامی به‌منظور به حداکثر رساندن تلاش آزمودنی‌ها به‌ویژه در ست‌های پایانی انجام گرفت. قبل از شروع فعالیت نیز ۱۰ دقیقه گرم کردن شامل حرکات کششی و حرکات تخصصی (حرکات با وزنهٔ سبک) انجام گرفت.

اندازه‌گیری متغیرها

از دستگاه مدل Younglin _ Acme 9000 – HPLC ساخت کرهٔ جنوبی به‌منظور آنالیز اسیدهای آمینهٔ پلاسما استفاده شد. برای این منظور ابتدا نمونه‌های پلاسمایی به کمک اسید پرکلریک دپروتئینه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شد. در نهایت غلظت اسیدهای آمینه براساس فاز معکوس و به کمک orthophthaldialdehyde و با استفاده از روش شرح داده شد توسط Pfeifer et al اندازه‌گیری شد (۲۶).

به‌منظور اندازه‌گیری هورمون‌های انسولین و کورتیزول از کیت‌های Monobind آمریکا و برای نشان دادن غلظت‌های این دو متغیر از روش ایمنوآنزیماتیک استفاده شد. تفاوت‌های درون‌آزمونی برای انسولین (۱۰ و ۱۱ درصد) و کورتیزول (۹/۵ و ۹ درصد) به‌ترتیب برای شرایط مکمل و دارونما بود. برای اندازه‌گیری آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز از کیت‌های پارس آزمون ساخت ایران و دستگاه Autoanlayser مدل BT 1500 ساخت ایتالیا استفاده شد. تفاوت‌های درون‌آزمونی در مورد لاکتات دهیدروژناز (کمتر از ۶ و ۷ درصد) و برای کراتین کیناز (کمتر از ۱۰ و ۹ درصد) به‌ترتیب برای شرایط مکمل و دارونما بود.

روش‌های آماری

ابتدا آزمون کلموگروف – اسمیرنوف به‌منظور اطمینان از طبیعی بودن داده‌ها انجام گرفت. سپس به‌منظور تعیین تغییرات درون‌جلسه‌ای و بین‌جلسه‌ای از آزمون Two way repeated measure استفاده شد. در

صورت معناداری تغییرات درون‌جلسه‌ای از آزمون تعقیبی پونفرونی، و در صورت معناداری تغییرات بین‌جلسه‌ای از آزمون t مستقل استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS ۱۹ در سطح معناداری α = ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

مقادیر BCAA پلاسما

نتایج تحقیق نشان داد که در شرایط مکمل BCAA، بلافاصله بعد از فعالیت، در مقایسه با قبل از فعالیت، مقدار پلاسمایی لوسین افزایش معناداری یافت (P< ۰/۰۵) و این افزایش طی دورهٔ ریکاوری نیز حفظ شد (P< ۰/۰۵). علاوه‌بر این، بلافاصله پس از فعالیت، و سه ساعت پس از آن، مقدار لوسین در شرایط مکمل بیش از شرایط دارونما بود (P< ۰/۰۵) (جدول ۲). همچنین پس از فعالیت در مقایسه با شرایط استراحتی، مقدار ایزولوسین در شرایط مکمل (و نه دارونما) افزایش غیرمعناداری یافت (P> ۰/۰۵) که طی دورهٔ ریکاوری این مقدار افزایش به حد معناداری رسید (P< ۰/۰۵). در مورد این متغیر نیز مانند لوسین، بلافاصله پس از فعالیت (P< ۰/۰۵) و سه ساعت پس از آن (P< ۰/۰۵)، تفاوت بین شرایط مکمل و دارونما به نفع شرایط مکمل بود (جدول ۲).همان‌گونه که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، والین برعکس دو متغیر قبلی نه تغییرات درون‌جلسه‌ای و نه تغییرات بین‌جلسه‌ای‌اش معنادار نشد.

غلظت گلوتامین، متیونین و فنیل آلانین

جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار گلوتامین در شرایط مکمل و بلافاصله پس از فعالیت کاهش یافت (P<۰/۰۵) و بار دیگر پس از سه ساعت ریکاوری به مقادیر استراحتی بازگشت. این در حالی بود که در شرایط دارونما مقدار گلوتامین پس از فعالیت ثابت مانده بود. همچنین متیونین پس از فعالیت در هر دو شرایط مکمل و دارونما با کاهش مواجه شد (P< ۰/۰۵) و بار دیگر روز بعد به حالت پایه بازگشت. فنیل آلاتین هم مانند گلوتامین تنها در شرایط مکمل و بلافاصله پس از فعالیت با کاهش معناداری همراه بود (P< ۰/۰۵). شایان ذکر است در ارتباط با

تمامی این متغیرها (گلوتامین، متیونین و فنیل آلانین) در هیچ‌یک از مراحل اندازه‌گیری، اختلاف معناداری بین شرایط مکمل و دارونما مشاهده نشد (عدم تفاوت بین‌جلسه‌ای).

جدول ۲ – تغییرات اسیدهای آمینهٔ پلاسما، کورتیزول، انسولین و شاخص‌های آسیب سلولی پس از فعالیت مقاومتی همراه با مصرف مکمل

			قبل از فعالیت	بلافاصله پس از فعالیت	۳ ساعت پس از فعالیت	۲۴ ساعت پس از فعالیت
پاسخ اسیدهای آمینهٔ شاخه دار پلاسما	لوسین (µmol/l)	S	۱۶۵/۱ ± ۱۱	۱۹۰/۹۳ ± ۱۰/۳$	۱۹۲/۹ ± ۸/۴$	۱۵۶/۴ ± ۹/۷
		P	۱۴۱/۴۸ ± ۷/۴	۱۴۱/۴۸ ± ۶/۲	۱۴۸/۹ ± ۹/۹	۱۵۸/۷ ± ۸/۱
	ایزولوسین (µmol/l)	S	۸۱/۹ ± ۳/۵	۸۹/۶ ± ۴/۵ $	۹۳/۸ ± ۴$	۸۱ ± ۵/۱
		P	۷۴ ± ۵/۸	۷۱/۶ ± ۴/۲	۷۷/۱ ± ۷/۸	۷۹/۶ ± ۸
	والین (µmol/l)	S	۲۵۶/۷ ± ۱۰/۵	۲۳۶/۷ ± ۱۲/۷	۲۳۸ ± ۹/۴	۲۵۰/۱ ± ۱۱/۱
		P	۲۴۲/۴ ± ۹/۷	۲۳۴/۶ ± ۱۰/۵	۲۴۸/۲ ± ۱۲/۹	۲۴۲/۳ ± ۹/۶
پاسخ دیگر اسیدهای آمینهٔ پلاسما	گلوتامین (µmol/l)	S	۴۵۱/۹ ± ۲۰/۴	۳۹۱/۹ ± ۱۸/۳*	۴۵۸/۹ ± ۱۹/۹ β	۴۸۳/۳ ± ۲۱/۶β
		P	۴۵۱ ± ۱۴/۸	۴۵۶/۷ ± ۱۶/۶	۵۱۹ ± ۱۹/۶* β	۴۹۹/۴ ± ۱۳/۶
	متیونین (µmol/l)	S	۳۰/۳ ± ۲/۴	۲۳/۲ ± ۲*	۲۰/۴ ± ۳/۶*	۳۰ ± ۲/۷β
		P	۲۹/۱ ± ۳/۴	۲۴/۹ ± ۳*	۲۷/۵ ± ۲/۲	۲۶/۸ ± ۴/۲
	فنیل آلانین (µmol/l)	S	۶۸/۱ ± ۵/۵	۵۲/۹ ± ۴/۲*	۴۳/۱ ± ۳/۴* β	۶۴/۶ ± ۴/۳β
		P	۵۸/۵ ± ۳/۸	۵۴/۶ ± ۴/۴	۵۳/۲ ± ۴/۶	۵۵/۶ ± ۵/۵
پاسخ های هورمونی	کورتیزول (µl/ml)	S	۲۰/۸ ± ۲	۸/۲ ± ۰/۸*	۷/۷ ± ۰/۹*	۱۸ ± ۱/۱β
		P	۱۸/۷ ± ۱/۷	۸/۴ ± ۰/۹*	۹/۹ ± ۰/۸*	۱۶/۷ ± ۱β
	انسولین (µl/ml)	S	۸/۳ ± ۰/۹	۹/۱ ± ۰/۸	۳/۹ ± ۰/۲* β	۸/۱ ± ۰/۹
		P	۷/۲ ± ۰/۸	۱۰/۳ ± ۱	۴/۹ ± ۰/۴* β	۸/۵ ± ۰/۷
شاخص های آسیب سلولی	کراتین کیناز (IU/L)	S	۸۳/۸ ± ۷/۶	۹۷/۳ ± ۶/۶*	۱۰۶/۸ ± ۷/۶*	۱۲۱ ± ۹/۶*
		P	۷۳/۸ ± ۶/۳	۸۹/۳ ± ۶/۹*	۱۰۲/۵ ± ۹/۸* β	۹۷/۲ ± ۸/۳*
	لاکتات دهیدروژناز (IU/L)	S	۳۶۴/۶ ± ۲۱/۲	۴۱۱/۹ ± ۱۹/۸	۳۹۲/۳ ± ۲۰/۷	۳۲۶/۶ ± ۱۵/۹* β
		P	۳۷۶ ± ۲۶/۶	۳۹۲ ± ۱۶/۹	۳۵۸/۳ ± ۲۴/۱	۳۴۲/۷ ± ۱۲/۵

تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین انحراف استاندارد ارائه شده است.

$ = تفاوت معنادار در مقایسه با شرایط دارونما، * = اختلاف معندار با قبل از فعالیت، β= اختلاف معنادار با بلافاصله پس از فعالیت ($P< ۰/۰۵$)، S = شرایط دریافت مکمل، P = شرایط دریافت دارونما

شاخص‌های آسیب سلولی

فعالیت کراتین کیناز در هر دو شرایط مکمل و دارونما، و با الگوی مشابهی (جدول ۲) بلافاصله پس از فعالیت و همچنین سه ساعت پس از فعالیت، افزایش معناداری یافت (P<۰/۰۵) و حتی روز پس از فعالیت این مقادیر افزایش‌یافته حفظ شده بودند.

همین وضعیت در مورد لاکتات دهیدروژناز دیده شد. در واقع در هر دو شرایط مکمل و دارونما، مقادیر LDH بلافاصله پس از فعالیت افزایش یافت اگرچه معنادار نبود (P>۰/۰۵). هرچند طی ریکاروی ۳ ساعته به حالت اولیه برگشت. در مورد شاخص‌های آسیب سلولی نیز در هیچ یک از مراحل اندازه‌گیری، بین دو شرایط مکمل و دارونما اختلافی دیده نشد.

انسولین و کورتیزول

بلافاصله پس از فعالیت تغییر محسوسی در مقدار انسولین مشاهده نشد. اما ۳ ساعت پس از فعالیت، کاهش معناداری در انسولین هر دو شرایط مکمل و دارونما به وجود آمد (P< ۰/۰۵) و در نهایت، روز بعد به حالت اولیه برگشت.

در مورد دکورتیزول ملاحظه شد که بلافاصله پس از فعالیت در مقدار سرمی این هورمون کاهش چشمگیری ایجاد شد (P< ۰/۰۵) که مستقل از دریافت مکمل بود و تا ۳ ساعت پس از فعالیت نیز این تغییر حفظ شد.

در مورد هورمون‌های کورتیزول و انسولین هم تغییرات بین‌جلسه‌ای (جلسات دریافت مکمل یا دارونما) معناداری وجود نداشت.

بحث

اسیدهای آمینهٔ پلاسما

در پژوهش حاضر پس از یک بار مکمل‌سازی و ۲۰ دقیقه قبل از شروع فعالیت ورزشی مقاومتی با شدت ۵۰ درصد یک تکرار بیشینه، ملاحظه شد که به جز والین، غلظت پلاسمایی دیگر اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار

(لوسین و ایزولوسین) افزایش چشمگیری یافت. در واقع، مکمل BCAA توانست غلظت پلاسمایی اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار را بهبود بخشد. افزایش BCAA پلاسما می‌تواند از پروتئولیز عضلانی ناشی از فعالیت جلوگیری کرده (۲۲) و به سنتز پروتئین پس از فعالیت کمک کند (۲۴). نتایج تحقیق شیمومورا و همکاران، یافته‌های حاضر را تأیید می‌کند (۳۰).

یافتهٔ جالب در تحقیق حاضر کاهش غلظت اسیدهای آمینهٔ فنیل آلانین، گلوتامین و متیونین پس از شرایط مکمل بود، البته متیونین در شرایط دارونما نیز کاهش یافت، اما مقدار آن در شرایط مکمل (۲۴ درصد) بیش از دارونما (۱۴ درصد) بود. این نتایج حاکی از آن است که مکمل BCAA می‌تواند سطوح پلاسمایی اسیدهای آمینهٔ آزاد را تحت تأثیر قرار دهد. همسو با یافته‌های حاضر، در پژوهش دیگری ملاحظه شد سطوح پلاسمایی متیونین و فنیل آلانین تا ۲ ساعت پس از فعالیت در شرایط مکمل کمتر از شرایط دارونما بوده است (۲۹). عوامل آنزیمی و هورمونی می‌توانند در این زمینه تأثیرگذار باشند. برای مثال اظهار شده که سطوح سرمی انسولین تأثیر زیادی بر سوخت‌وساز تمامی مواد و از جمله اسیدهای آمینه دارد. بنابراین، این هورمون ممکن است یک عامل اثرگذار بر غلظت‌های پلاسمایی متیونین و دیگر اسیدهای آمینهٔ آزاد پلاسما باشد (۲۹). در تحقیق حاضر به همین منظور تغییرات هورمون انسولین بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که بلافاصله پس از فعالیت افزایش معناداری در اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پلاسمایی گروه مکمل ایجاد شد و از طرف دیگر کاهش محسوس اسیدهای آمینهٔ گلوتامین، فنیل آلانین و متیونین در شرایط مکمل به وجود آمد. درحالی‌که غلظت انسولین تقریباً ثابت ماند و تفاوتی بین دو شرایط مکمل و دارونما به لحاظ این هورمون دیده نشد. بنابراین یافته‌های پژوهش حاضر این احتمال را که ممکن است افزایش ترشح هورمون انسولین ناشی از مکمل BCAA موجب تغییرات اسیدهای آمینهٔ پس از فعالیت خواهد شد، رد می‌کند.

سازوکار احتمالی بعدی تغییر فعالیت آنزیم محدودکننده مقدار کاتابولیسم BCAA (BCKDC)[1] است (۲۵، ۱۳). نشان داده شده که BCKDC بر کاتابولیسم متیونین در کبد تأثیر می‌گذارد. از طرف دیگر، مصرف لوسین فعالیت این آنزیم را در کبد موش زیاد کرده است. باتوجه به اینکه در تحقیق حاضر مکمل BCAA موجب افزایش لوسین و ایزولوسین شده، بنابراین ممکن است این شرایط (افزایش لوسین) با تحریک فعالیت این

1 . Branched – chain α - keto acid dehydrogenase complex

آنزیم، موجبات کاهش متیونین (به‌طور مستقیم) و کاهش اسیدهای آمینهٔ گلوتامین و فنیل آلانین را (به شکل غیرمستقیم) مهیا کرده باشد. علاوه‌بر این طی پژوهشی عنوان شده که مصرف لوسین موجب کاهش تجزیهٔ پروتئین می‌شود و این کاهش به رقیق شدن غلظت اسیدهای آمینهٔ ضروری پلاسما منجر می‌شود (۲۴).

در همین زمینه اذعان شده است مکمل BCAA قبل از فعالیت به مقدار mg/kg ۷۷ ممکن است رهاسازی اسیدهای آمینهٔ ضروری را از عضلات فعال کم کند (۱۸).

در کل این یافته‌ها نشان می‌دهند مصرف BCAA قبل از فعالیت می‌تواند از طریق سازوکارهای احتمالی که اشاره شد، موجب کاهش اسیدهای آمینهٔ پلاسما شود.

تغییرات انسولین و کورتیزول

همان‌طورکه اشاره شد، مکمل BCAA تأثیری بر ترشح انسولین نداشته است. از طرف دیگر، مقدار ترشح کورتیزول نیز تحت تدثیر مکمل قرار نگرفت. این در حالی است که نشان داده شده مکمل BCAA سبب افزایش فرایندهای آنابولیک و کاهش فرایندهای کاتابولیک مربوط به پروتئین‌های عضله می‌شود. در همین زمینه مطرح شده که قابلیت مکمل BCAA در تقویت فرایندهای آنابولیک تا حدودی مربوط به واکنش‌های هورمونی است (۸). شارپ عنوان کرد که مصرف خارجی BCAA قبل از فعاللیت سبب افزایش هورمون رشد و تستوسترون و کاهش غلظت کورتیزول شده است. بر این اساس پیش‌بینی شد که مکمل BCAA می‌تواند هورمون‌های آنابولیکی را تحریک کند (۲۸). اما در تحقیق حاضر و در پژوهش شیمومورا (۲۰۰۹)، تفاوت معناداری در غلظت انسولین و کورتیزول در بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نشد (۲۹). در هر حال، بررسی-های انجام‌گرفته در مورد تغییر ترشح هورمون‌های انسولین (به‌عنوان یک هورمون آنابولیک)، و کورتیزول (به-عنوان یک هورمون کاتابولیک) طی مکمل‌سازی BCAA به‌دنبال فعالیت مقاومتی حاد بسیار محدود است و نمی‌توان با قاطعیت در این زمینه اظهار نظر کرد. اما، مسئله‌ای که از این نتایج استنباط می‌شود، این است که این هورمون‌ها مسئول تغییرات اسیدهای آمینهٔ پلاسما پس از مکمل BCAA و به‌دنبال چنین پروتکلی نیستند. به‌نظر می‌رسد تغییر فعالیت آنزیم محدودکنندهٔ مقدار کاتابولیسم BCAA (BCKDC) عامل مهم‌تری باشد، هرچند فعالیت آنزیم مذکور در پژوهش حاضر بررسی نشد.

شاخص‌های آسیب سلولی

تحقیقات نشان داده‌اند که کوفتگی عضلانی با آسیب عضلانی ارتباط مستقیم دارند (۷). اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار به‌ویژه لوسین عملکردهای اساسی در میان انواع اسیدهای آمینهٔ ضروری ایفا می‌کنند. آنها تنظیم‌کنندهٔ متابولیسم پروتئین و همچنین بازدارندهٔ تجزیهٔ پروتئین از طریق سیستم mTOR هستند (۷). این یافته‌ها نشان می‌دهند که مکمل BCAA قبل یا بعد از تمرین ممکن است موجب تسریع ریکاوری عضلات آسیب‌دیده شود. همچنین مکمل BCAA (۷۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) قبل از تمرین سبب کاهش و رهاسازی اسیدهای آمینهٔ ضروری از عضلات تمرین‌کرده شده و از تجزیهٔ پروتئین عضلات جلوگیری می‌کند (مک لین، ۱۹۹۴) (۱۹). اگرچه سازوکارهای عمل انسولین بر mTOR تا حدودی مشخص شده است، اما مسیرهایی که اسیدهای آمینه (لوسین) بر mTOR تأثیر می‌گذارند، دقیقاً معلوم نیست. ممکن است تغییر در فسفوریلاسیون $P70^{S6K}$ در عضلهٔ اسکلتی به‌دنبال فعالیت ورزشی، دلیل افزایش سنتز پروتئین در حین فاز ابتدایی ریکاوری باشد (۱۴). همچنین گزارش شده مصرف مکمل BCAA (۱۲ گرم در روز به مدت دو هفته، و ۲۰ گرم قبل و بعد از تمرین) موجب کاهش تسریع فعال‌سازی کراتین کیناز سرم برای چندین روز بعد از تمرین شده است (۹). از طرف دیگر، اظهار شده است که BCAA با تقویت فعالیت (KIC)[1] به‌عنوان مهارکنندهٔ پروتئولیز عضلانی در شرایط آزمایشگاهی، از تجزیهٔ پروتئین جلوگیری می‌کند (۳۲).

از سوی دیگر، نتایج حاضر نشان داد مکمل BCAA قبل از فعالیت مقاومتی حاد، مقدار LDH و CK را پس از فعالیت تحت تدثیر قرار نمی‌دهد، به‌گونه‌ای که فعالیت کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز در هر دو شرایط به طرز مشابهی افزایش یافت. این نتایج با برخی یافته‌ها در تضاد است (۲۰۰۹). در بیشتر مطالعات قبلی که تأثیر مکمل بر کوفتگی تأخیری و شاخص‌های آسیب عضلانی بررسی شده است، مکمل‌سازی طی یک دورهٔ چندروزه (و نه مصرف یک بار)، یا در ارتباط با فعالیت‌های استقامتی بوده‌اند (۲۱، ۱۶).

کوبا و همکاران (۲۰۰۷) در شرایط فعالیت استقامتی اثر مکمل BCAA را بر ریکاوری عضله بررسی کردند و اظهار داشتند این مکمل می‌تواند از افزایش شاخص‌های آسیب عضلانی جلوگیری کند (۱۶).

1 . α - Keto isocaproate

در تحقیق شمومورا (۲۰۰۶)، آسیب عضلانی ناشی از تمرین اسکات به‌طور معناداری از طریق مصرف ۲ mg/kg ± ۹۲ مکمل BCAA در زنان ورزشکار کاهش یافت (۲۹).

شارپ (۲۰۱۰) تأثیر مصرف کوتاه‌مدت مکمل BCAA بر آسیب عضلانی ناشی از تمرین مقاومتی را در مورد هشت فرد تمرین‌کرده بررسی کرد و نشان داد که سطوح کراتین کیناز سرم در طول تمرین و بعد از آن در گروه مکمل به‌طور معناداری کمتر است (۲۸).

براساس نتیجهٔ حاصل از تحقیق حاضر می‌توان اظهار داشت که مصرف مکمل بر آسیب عضلانی ناشی از تمرین مقاومتی تأثیر نداشته است. شاید علت نتایج متناقض در پژوهش حاضر، شدت تمرین مقاومتی اعمال‌شده باشد که تنها با 1RM ۵۰٪ انجام گرفت و احتمالاً چنین شدتی نتوانسته آسب سلولی جدی ایجاد کند. عدم افزایش معنادار LDH پس از فعالیت مقاومتی در تحقیق حاضر می‌تواند مؤید همین قضیه (شدت کم فعالیت) باشد. همچنین متغیر بودن مقدار مصرف مکمل در تحقیقات قبلی می‌تواند عامل تناقض با پژوهش حاضر باشد، به‌گونه‌ای که در بیشتر مطالعات گذشته دوز مصرفی تقریباً g/kg ۰/۱ بوده، درحالی‌که در پژوهش حاضر این مقدار حدود g/kg ۰/۰۷ بوده است (مطابق با مقدار توصیه شده) (۶).

نتیجــه‌گیری

در تحقیق حاضر تأثیر ۴/۵ گرم BCAA، ۲۰ دقیقه قبل از فعالیت مقاومتی با شدت 1RM ۵۰٪ در مورد دختران جوان فعال بررسی شد و نتایج نشان داد این مکمل می‌تواند غلظت اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار پلاسما را افزایش دهد که به‌طور بالقوه می‌تواند از تجزیهٔ پروتئین عضلهٔ ناشی از فعالیت جلوگیری کرده یا به سنتز پروتئین پس از فعالیت کمک کند. در هر حال، این آثار ناشی از تغییر ترشح هورمون‌های انسولین و کورتیزول نبود. همچنین مکمل BCAA می‌تواند به‌دلیل افزایش مقادیر لوسین و ایزولوسین پلاسما و احتمالاً از طریق فعال‌سازی آنزیم BCKDC موجب کاهش متیونین و دیگر اسیدهای آمینهٔ ضروری پلاسما شود که این خود ممکن است ناشی از تجزیهٔ کمتر پروتئین عضلات فعال طی چنین شرایطی باشد. بنابراین در صورت تکرار چنین نتایجی در تحقیقات آتی، شاید بتوان مصرف مکمل را قبل از شروع فعالیت‌های مقاومتی به‌منظور کمک به

ریکاوری بهتر عضلات پس از فعالیت توصیه کرد. از طرف دیگر، این نتایج بیانگر آن است که یک بار دریافت مکمل BCAA قبل از چنین پروتکل‌هایی شاید تأثیری بر جلوگیری از آسیب سلولی نداشته باشد.

منابع و مآخذ

1. Alvestrand, A. Hagenfeldt, L. Merli O. A. Eriksoon L. S. (1990). "Influence of leucine infusion on intracellular amino acids in humans". Eur J Clin Invest. 20. PP:293-298.

2.Babij, P. Matthews, S.M. and Rennie, M. J. (1983). "Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man". Eur J Appl Physiol, 50: PP: 405-411.

3. Bassit, R. A. Sawada, L. A., Bacurau, R. F. P. Navarro, F. Costa Rosa, L. F. B. P., Martins, E. et al. (2002). "Branched – chain amino acid supplementation and the immune response of long distance athletes – Nutrition". 18: PP:376-9.

4.Blomstrand, E. Hassmen, P. Ekblom, B. et al (1991). "Administration of branched – chain amino acids during sustained exercise: effects on performance and on plasma concentration of some amino acids". Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 63: PP:83-88.

5.Blomstrand, E. (2006). "Branched – chain amino acids activated key enzymes in protein synthesis after physical exercise". Journal of nutrition. 136(1): P:269.

6. Blomstrand, E. Andersoon, S. Hassmen P. Ekblom B, Newsholme EA. (1995). "Effect of branched – chain amino acid and carbohydrate supplementation on the exercise – induced change in plasma and muscle concentration of amino acids in human subjects". Acta Physiol Scand. 153 (2): PP: 87-96.

7. Bolster D.R., Jefferson, L. S. and Kimball S.R. (2004). "Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin – amino acid – and exercise induced signalling". Nutrition society, 63, PP: 351-356.

8. Carli, G. Bonafazi, M. Lodi, C. Martelli G, Viti A. (1992). "Changes in the exercise – induced hormone respones to branched chain amino acid administration". Eur J Appl Physiol, 64, PP: 272-277.

9. Coombes, J. S., McNaughton L. R. (2000). "Effects of branched – chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise". J Sport Med Phys Fitness. 40: PP:240-6.

10. Dreyer HC, Fujita S, Cadenas JG, Volpi, E. Rasmussen BB. (2006). "Resistance exercise increases AMPK activity and inhibits translation initiation and protein synthesis in human muscle". J Physiol. 576: PP: 613-624.

11. Fujita S, Dreyer H.C, Drummond M.J. Glynn, E.L. Volpi E, and Rasmussen B.B. (2009). "Essential amino acid and carbohydrate ingestion before resistance exercise does not inhance postexercise muscle protein synthesis". J Appl Physiol 106: PP:1730-1739.

12. Garlic P. G. and Grant I. (1988). "Amino acid infusion increases the sensitivity of muscle protein synthesis in vivo to insulin". Biochem J. 254, PP: 579-584.

13. Harper, A.E., Miller R.H., Block K.P. (1984). "Branched – chain amino acid metabolism". Annu rev Nutr. 4: PP: 409-454.

14. Hawley, J. A., Tipton K.D. Millard – Stafford M.L.(2006). "Promoting training adaptations through nutritional interventions". J Sports Scineces, 24(7): PP:709-721.

15. Kevin D.T. Blake B. R. Sharon, L.M. Steven E.W. Sharla K.O. Bart E.P., and Robert R.W. (2001). "Timing of amino acid – carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise". Am J Physiol Endocrinol Metab, 281: E197-E206.

16. Koba T., Hamada K, Sakurai, M. Matsumoto K, Hayase H, Imaizumi K, Tsujimoto H, Mitsuzono R. (2007). "Branched – chain amino acids

supplementation attenuates the accumulation of blood lactate dehydrogenase during distance running". J Sport Med Phys fitness, 47: PP:316-22.

17. Lamont L.S, McCullough A.J., Kalhan S.C. (2001). "Relationship between leucine oxidation and oxygen consumption during steady state exercise". Med Sci Sports exerc. 33: PP: 237-241.

18. McCance, R.A., Widdowson, E.M. (2002). "Food standards agency. AFRC institute of food research mCCance and widdowson's the composition of foods". 6th ed. Cambridge: royed society of chemistry.

19. MacLean D.A., Graham T.E., Saltin B. (1994). "Branched – chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise". Am J Physiol: 267: E1010-22.

20. Maclntyre D.L. Sorichter S, Mair J, Berg A. McKenzie D.C. (2001). "Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans". Eur J Appl Physiol. 3: PP:180-6.

21. Matsumoto, K. Koba, T. Hamada, K. Tsujimoto, H. Mitsuzono, R. (2009). "Branched chain amino acid supplementation increases the lactate threshold during an incremental exercise test in trained individuals". J Nutr Sci Vitaminol, 55, PP:52-58.

22. May M.E. Buse M.G. (1989). "Effects of branched – amino acids on protein turnover". Diabetes Metab Rev 5(3): PP:227-245.

23. Mero A, leikas A. Knuutinen J, Hulmi J. J, Kovanen, V. (2009). "Effect of strength training session plasma amino acid concentration following oral ingestion of leucine, BCAAs or glutamine in men". Eur J appl physiol. 105:PP: 215-223.

24. Nair K.S, Shcwartz R.G. and Wells S. (1992). "Leucin as a regulator of whol body and skeletal mucle protein metabolism in human". the Am Physiol Society.

25. Paxton R, Scislowki, P. W. Davis E. J., Harris R. A. (1986). Role of branched – chain 2 – oxo acid dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase in 2 – oxobutyrate metabolism. Biochem J. 234:PP: 295-303.

26. Pfeifer R, Karol R, Korpi J (1983). "Practical application on HPLC to amino acid analysis". Am Lab 15: 78-87.

27. Rasmussen, BB. Tipton KD, Miller SL., Wolf SE, and Wolfe RR. (2000). "An oral essential amino acid – carbohydrate supplement enhances muscle protein anabolism after resistance exercise". J Appl Phhysiol 88: PP:386-392.

28. Sharp C.P., Pearson D.R. (2010). "Amino acid supplements and recovery from high – intensity resistance training". J Strength Cond Res. 24(4): PP:1125-30.

29. Shimomura, Y. Kobayashi, H. Mawatari, K. Akita, K. Inaguma, A. Watanabe S, Bjotto G. and Sato J. (2009). "Effect of squat exercise and branched – chain amino acid supplementation on plasma free amino acid concentrations in young women". J nutr SCI vitamin, 55, PP:288-291.

30. Shimomura Y, Inguma A. Watanabe S, Yamamoto, Y. Muramatsu Y, Bajotto G, Sato J, Shimomura N, Kobayashi, H. and Mawatari K. (2010). "Branched – chain amino acid supplementation before squat exercise and delaed – onset muscle soreness". Int J sport nutr exer metabol. 20,PP: 236-244.

31. Shimomura Y, Fujii H, Suzuki M, Murakami, T, Fujitsuka N, Nakai N. (1995). "Branched – chain - keto acid dehydrogenase complex in rat skeletal muscle: regulation of the activity and gene expression by nutrition and physical exercise". J Nutr 125: 1762S – 1765S.

32. Tischler ME, Desautels M, Goldberg A. (1982). "Does leucine, leucyl – tRNA, or some metabolite of leucing regulate protein synthesis and degradation in skeletal and cardiac muscle?" J Biol Chem. 257: PP:1613-21.

33. Wagenmakers, A.J. M, Brookes, J. H.Coakley, J.H. Reilly, T. and Edwards, R. H. T. (1989). "Exercise – induced activation of branched – chian 2 – oxo dehydrogenase in human muslce". Eur J Appl Physiol. 59:PP:159-167.