علوم زیستی ورزشی – پاییز ۱۴۰۰
دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۳، ص: ۳۰۰ – ۲۸۵
نوع مقاله : علمی – پژوهشی
تاریخ دریافت : ۲۶ / ۰۶ / ۹۷
تاریخ پذیرش : ۲۹ / ۰۹ / ۹۷

تأثیر حاد مصرف مکمل HMB-FA و فعالیت ورزشی بر برخی عوامل مؤثر در هایپرتروفی و آسیب عضلانی در مردان غیرفعال

سیدمصطفی موسوی مظفر[۱] – مریم نورشاهی *[۲] – رضا قراخانلو [۳] – مهدی هدایتی[۴] – علی اکبرنژاد[۵]

۱. دانشجوی دکتری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۲. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۳. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۴. دانشیار پژوهشکدهٔ علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران ۵. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

با توجه به تأثیرگذاری مکمل HMB بر عملکرد ورزشی، تمایل به مصرف آن به‌منظور کسب کارایی بیشتر افزایش یافته است، بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۶ روز مصرف مکمل HMB-FA بر فاکتورهای مؤثر در هایپرتروفی و ریکاوری در مردان غیرفعال بود. ۲۰ مرد غیرفعال با شاخص تودهٔ بدنی ۱±۲۱/۵ کیلوگرم بر متر مربع و سن ۴± ۲۵/۱ سال به دو گروه ورزش + دارونما و ورزش + مکمل تقسیم شدند. آزمودنی‌ها ۶ روز پیش از شروع فعالیت مقاومتی به مصرف مکمل HMB-FA پرداختند. نمونهٔ بیوپسی عضلانی بلافاصله پیش و ۱۰ دقیقه پس از فعالیت مقاومتی و نمونهٔ خونی پیش و بلافاصله و ۴۸ ساعت پس از ورزش از آزمودنی‌ها گرفته شد. نتایج آزمون آنکوا نشان داد افزایش معناداری (P=۰/۰۰۱) بین سطوح سرمی تستوسترون پیش و بلافاصله پس از ورزش در گروه ورزش + دارونما در مقایسه با ورزش + مکمل وجود داشت. همچنین افزایش معناداری (P=۰/۰۰۱) در مقادیر P70S6K ، و کاهش معناداری (P=۰/۰۰۱) در سطوح سرمی کراتین کیناز (CK) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) بین گروه ورزش + مکمل با گروه ورزش + دارونما مشاهده شد. بنابراین مصرف حاد مکمل HMB پیش از فعالیت مقاومتی موجب افزایش مقادیر P70S6K به‌عنوان شاخص هایپرتروفی و کاهش CK و لاکتات LDH به‌عنوان شاخص آسیب عضلانی می‌شود.

واژه‌های کلیدی

بیوپسی عضلانی، تستوسترون، کراتین کیناز، لاکتات دهیدروژناز، P70S6K.

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۲۹۹۰۲۹۴۸ **Email:** m-nourshahi@sbu.ac.ir

مقدمه

تغذیه همراه با تمرین ورزشی، ابزار مهمی در کاهش خستگی، بهبود و عملکرد بهتر در فعالیت‌های ورزشی است. در واقع، بسیاری از افراد سعی می‌کنند عملکرد ورزشی را با روش‌های مختلفی افزایش دهند و استفاده از مکمل‌ها یکی از راهبردهای مهم تغذیه‌ای است (۱).

مکمل بتا هیدروکسی بتا - متیل بوتیرات (HMB[1]) متابولیت اسید آمینهٔ کتوژنیک لوسین است که از متابولیسم اسید آمینهٔ ضروری لوسین به میزان ۰/۴ – ۰/۳ گرم در روز تولید می‌شود (۲). HMB به‌عنوان عامل توانمندسازی برای بهبود سطوح قدرت، افزایش هورمون‌های رشدی (تستوسترون، IGF و GH، فعال شدن پروتئین‌های مسیر سلولی و مولکولی هایپرتروفی و کاهش فاکتورهای التهابی و آتروفی عضلانی به‌تنهایی و همراه با تمرینات مقاومتی به‌کار می‌رود (۳، ۴). امروزه با توجه به اهمیت HMB، این مکمل با ترکیبات جدیدی همچون HMB-CA(کلسیم)، HMB-COA (استیل کوآنزیم A) و HMB-FA (اسید آزاد) تولید می‌شود. در این میان HMB-FA به‌دلیل سرعت زیاد جذب و قابلیت دسترسی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۵). اخیراً نشان داده شده است که سطوح پلاسمایی HMB-FA نسبت به HMB-CA در مدت زمان بسیار کوتاه (۳۶ در مقابل ۱۳۱دقیقه)، حدود دو برابر شده است (۶)، به همین علت مطالعات در این زمینه به‌همراه فعالیت مقاومتی آغاز شده است.

مصرف این مکمل در کنار الگوهای متفاوت تمرین‌های مقاومتی، پاسخ‌های متفاوتی را ایجاد می‌کند، که در راستای اهداف ورزشکاران جهت بهبود ریکاوری به‌واسطهٔ کاهش آسیب عضلانی پس از فعالیت (۶) و حفظ و نگهداری عضلات به‌واسطهٔ تحریک مسیر هایپرتروفی بسیار حائز اهمیت است (۷).

الگوهایی از تمرینات مقاومتی به‌واسطهٔ شدت بالا موجب آزاد شدن کراتین کیناز (CK) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در خون می‌شوند (۸). این دو آنزیم شاخص‌های تخریب عضلانی‌اند که تحت آسیب سلول‌های عضلانی، غلظت آن در سطوح سرمی افزایش می‌یابد. رهایی این فاکتورها موجب افزایش فاکتورهای التهابی، درد عضلانی و کاهش عملکرد در افراد می‌شود (۸، ۹). از طرفی بالا رفتن شاخص‌های التهابی و آسیب عضلانی در سطوح سرمی با تحریک هورمون‌های رشدی همچون تستوسترون همراه است (۸، ۱۰).

1 . β-hydroxy-β-methylbutyrate

تستوسترون از هورمون‌های استروئیدی مهم است که موجب فعال شدن مسیرهای سیگنالی مهار آتروفی و افزایش هایپرتروفی همچون PI3K/AKT/mTOR[1] و در نهایت سنتز و افزایش فعالیت فاکتور کلیدی هایپرتروفی، p70s6k[2] می‌شود (۱۱). با وجود این در صورت دسترسی نداشتن به متابولیت لوسین، HMB، فرایند سنتز پروتئین اتفاق نمی‌افتد. در نتیجه عضله دچار ریزآسیب شده و این فرایند همراه با افزایش درد، موجب بالا رفتن شاخص‌های آسیب عضلانی در سرم و به تعویق افتادن ریکاوری می‌شود (۶، ۱۲). بنابراین از یک سو با توجه به اهمیت سرعت جذب بالای مکمل HMB-FA نسبت به ترکیبات دیگر و تحقیقات اندکی که روی آن انجام گرفته و از سوی دیگر پاسخ‌های متفاوتی که در الگوهای فعالیت مقاومتی نسبت به مدت زمان مصرف و اثربخشی آن مشاهده می‌شود، همچنین تمایل به آگاهی از اثربخشی HMB-FA بر روی افراد مبتدی که معمولاً پس از جلسات اولیهٔ تمرین دچار ریزآسیب و کوفتگی‌های عضلانی می‌شوند، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر شش روز مصرف مکمل HMB-FA بر مقادیر P70S6K، LDH، CK و تستوسترون در مردان غیرفعال است.

روش‌شناسی

در این پژوهش ۱۰۰ مرد غیرفعال به‌صورت هدفمند و از طریق فراخوان دعوت به همکاری شدند و از میان آنها ۲۰ نفر که سابقهٔ ورزش منظم، مصرف مکمل، عدم سابقهٔ بیماری، اعتیاد و شاخص تودهٔ بدنی بالای ۲۲ نداشتند، به‌عنوان آزمودنی انتخاب شدند. طی جلسهٔ توجیهی فرم رضایت‌نامهٔ آگاهانهٔ شرکت در طرح شامل اطلاعات پزشکی و اصول کلی اجرای کارآزمایی بالینی (طراحی توسط دانشگاه علوم پزشکی یاسوج که به پیوست ارائه شده است)، توسط آزمودنی‌ها تکمیل شد. سپس آزمودنی‌ها به‌طور مساوی به دو گروه ورزش + مکمل و ورزش + دارونما تقسیم شدند. این مطالعه از نوع دوسوکور بود و آزمودنی‌ها و آزمونگر از محتویات کپسول‌ها آگاه نبودند. اصول اجرای کارآزمایی بالینی، شامل معیارهای ورود و خروج از پژوهش، اطلاعات پزشکی، حمایت‌ها و تعهدات درمانی نسبت به آزمودنی‌ها، بیوپسی و سایر اصول اخلاقی تحت نظارت کمیتهٔ اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی با کد IR.SSRI.REC.1397.280 انجام گرفت.

1 . Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt/Mammalian Target of Rapamycin
2. p 70 ribosomal protein S6 kinase

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار ویژگی فردی آزمودنی‌ها در اجرای پروتکل حاد

گروه متغیر	ورزش+ مکمل	ورزش+ دارونما
وزن (کیلوگرم)	۷۱/۵±۳۴/۱۲	۷۲/۴±۴۴/۱
BMI (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۱/۱±۴/۳	۲۱/۱±۷/۷
سن (سال)	۲۵/۶±۳	۲۵/۵±۵

ملاحظات تغذیه‌ای

در این پژوهش به‌منظور کنترل عوامل مداخله‌ای تغذیه، یک ماه پیش از شروع پژوهش از آزمودنی‌ها خواسته شد، تحت رژیم غذایی یکسان قرار گیرند. به‌منظور کنترل مقادیر غذای دریافتی برای آزمودنی‌ها از نرم‌افزار NUT4 استفاده شد. با توجه به اینکه نسبت غذاهای سه‌گانه نیز باید در برنامهٔ غذایی روزانهٔ هر آزمودنی مشخص می‌شد، سهم کالری هریک از مواد چربی (کمتر از ۳۰ درصد کل کالری)، پروتئین (۳۰ درصد کل کالری) و کربوهیدرات (بیش از ۴۰ درصد کل کالری) نسبت به کالری کل آزمودنی‌ها تعیین و مصرف قندهای ساده و غذاهای غنی از انرژی محدود (کمتر از ۱۰٪ کل کالری) حذف شد (۶). رژیم‌های غذایی به‌صورت روزبه‌روز و هر هفته یک بار در اختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. آزمودنی‌ها به‌منظور کنترل وزن هر دو هفته یک بار به کارشناس تغذیه واقع در مرکز تندرستی مراجعه می‌کردند. مقدار دریافت غذایی افراد با استفاده از رژیم غذایی دوهفته‌ای که توسط کارشناس تغذیه تنظیم شد، از میزان سهم‌های غذایی کنترل شد.

کالری مصرفی برای همهٔ آزمودنی‌ها با توجه به جدول تعیین کالری متناسب با سن و جنس ۲۸۰۰ کیلوکالری در نظر گرفته شد و مقدار مواد غذایی که در آن HMB وجود داشت، به نسبت یکسان محدود شد.

مکمل‌دهی و پروتکل فعالیت مقاومتی

۶ روز پیش از شروع جلسهٔ ورزش، آزمودنی‌های گروه ورزش + مکمل، ۳ گرم / روز مکمل HMB-FA با نام تجاری (clear muscle(free Acide beta-hydroxy-beta-methylbutyrate/ HMB-FA ساخت

کمپانی ماسل تک آمریکا مصرف کردند (۱۳). روش مصرف این ۳ گرم در سه وعدهٔ غذایی مجزا (۳۰ دقیقه پیش از ورزش، همراه ناهار و میان‌وعده) و در هر وعده به مقدار ۱۰۰۰ میلی‌گرم از آن بود. گروه ورزش + دارونما نیز کپسول ژله‌ای مشابه گروه مکمل، حاوی نشاسته، دریافت کردند (۶).

پروتکل تمرینی شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن روی تردمیل و حرکات کششی، سپس اجرای حرکات (پرس سینه، پرس سرشانه، جلوبازو لاری دستگاه، ددلیفت، زیربغل سیم‌کش، قایقی سیم‌کش، ساق ایستاده، اسکات، لانگز و شکم خوابیده) بود. هر حرکت در سه ست و تکرار در هر ست (۸-۱۰) با ۷۰ تا ۸۰ درصد 1RM انجام گرفت. فاصلهٔ استراحت بین هر حرکت یک دقیقه بود. پس از پایان ورزش آزمودنی‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سرد کردند (۱۴). مشابه با پژوهش‌های پیشین با وجود انجام تمرینات فول‌بادی (بالاتنه و پایین‌تنه) به‌منظور بررسی تغییرات، تنها بیوپسی از عضلهٔ پهن جانبی انجام گرفت (۱۵)، هرچند بیوپسی عضلهٔ پهن جانبی از پا گرفته شده است، با وجود این تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که تمرین در هر قسمت از بدن به‌دلیل تأثیر بر هورمون‌های رشدی و گیرنده‌های آن در قسمت‌های مختلف بدن، بر هایپرتروفی، مؤثر است (۱۶).

نمونه‌گیری خونی و بیوپسی عضلانی

پیش از شروع ورزش، اولین نمونهٔ خونی به مقدار ۱۰ سی‌سی از ورید بازویی دست راست در وضعیت نشسته (در حالت ۱۲ ساعت ناشتا) و نمونهٔ دوم ۴۸ ساعت بعد به‌منظور سنجش متغیرهای CK و LDH گرفته شد (۱۷). برای سنجش متغیر تستوسترون بلافاصله پس از فعالیت مقاومتی نیز نمونهٔ خونی گرفته شد (۱۸). زمان‌های نمونه‌گیری با توجه به زمان پیک متغیرها انتخاب شد.

به‌منظور انجام بیوپسی عضلانی، پیش از شروع ورزش آزمودنی روی صندلی نشست (روز قبل از آزمودنی‌ها خواسته شده بود موهای قسمت موردنظر در بیوپسی را اصلاح کنند)، سپس آن ناحیه با محلول بتادین ضدعفونی شد و تزریق موضعی حدود ۳ میلی‌لیتر لیدوکائین ۱٪ به‌همراه اپی‌نفرین صورت گرفت. لیدوکائین از محلول‌های رایج در بیوپسی عضلانی است، با وجود این پیش از تزریق آن، پرسشنامهٔ حساسیت دارویی توسط آزمودنی‌ها پر شد. محل بیوپسی از عضلهٔ پهن جانبی واقع در عضلهٔ چهارسر و تقریباً ۱۵ سانتی‌متر بالای کشک (پتلا) انجام گرفت. نمونه‌برداری توسط سوزن تمام اتوماتیک مداکس ساخت ایتالیا توسط متخصص جراح انجام گرفت. این روش بیوپسی عضلانی جایگزین روش برگسترم است، که حالت تهاجمی کمتری دارد و به‌طور موفقی برای انجام بیوپسی عضلانی در چندین مطالعه انجام شده است (شکل ۱) (۱۹).

بلافاصله پس از نمونه‌گیری به مدت ۱۰ دقیقه از کمپرس یخ استفاده شد، سپس محل بیوپسی با بانداژ استریل و انعطاف‌پذیر بسته شد. پس از اطمینان از ایمن بودن بانداژ، آزمودنی‌ها به مدت ده دقیقه گرم کردند. سپس به ورزش پرداختند. مدت زمان انجام ورزش یک ساعت بود. با توجه به اینکه بیوپسی عضلانی از عضلهٔ پهن جانبی صورت گرفت، ورزش به‌گونه‌ای طراحی شد که با تأکید بر سیستم فول‌بادی از عضلات بالاتنه شروع می‌شود و در انتهای تمرین به عضلات پا می‌رسد و همین عامل می‌تواند بر عملکرد آزمودنی و کاهش تأثیر زخم ناشی از بیوپسی مؤثر عمل کند. بلافاصله پس از ورزش، افراد مجدداً در موقعیت استراحت[1] برای بیوپسی پس از ورزش قرار گرفتند. مراحل دوم بیوپسی مشابه مرحلهٔ اول انجام شد و با توجه به طولانی بودن پروتکل تمرین مادهٔ بی‌حسی مجدد تزریق شد. مدت زمان انجام بیوپسی ۵ تا ۱۰ دقیقه طول کشید. برای جلوگیری از درد برای آزمودنی‌ها و کاهش آثار زخم بیوپسی پیش از ورزش از پای چپ و بیوپسی پس از ورزش از پای راست گرفته شد. مقدار بافت برداشته‌شده در بیوپسی برابر ۷۵ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بود (۲۰).

شکل ۱. مراحل انجام بیوپسی عضلانی توسط پزشک جراح

روش‌های اندازه‌گیری

نمونه‌های خونی پس از جمع‌آوری به‌منظور لخته شدن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه و بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم از لخته‌ها جدا و در میکروتیوب‌های ۱ میلی‌لیتری الیکوت و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

1 . Supine Resting Position

فعالیت لاکتات دهیدروژناز به روش رنگ‌سنجی آنزیمی (DGKC) با حساسیت U/L ۵ و ضریب تغییر ۲/۱ (کیت رنگ‌سنجی LDH، شرکت پارس‌آزمون، تهران، ایران) تعیین شد. واحد اندازه‌گیری آن، واحد در لیتر بود.

فعالیت CK به روش رنگ‌سنجی شیمیایی براساس واکنش ژافه با حساسیت U/L ۱ و ضریب تغییر ۱/۶ (کیت رنگ‌سنجی CK، شرکت پارس‌آزمون، تهران، ایران) تعیین شد. واحد اندازه‌گیری آن، واحد در لیتر بود.

اندازه‌گیری تستوسترون نیز به روش الایزا با استفاده از کیت سنجش تستوسترون ساخت کمپانی آبکم کد ۱۷۴۵۶۹ با CV 2.28% انجام گرفت.

نمونه‌های عضلانی بلافاصله پس از بیوپسی در داخل میکروتیوب و دمای ۸۰- تا زمان انجام پژوهش نگهداری شدند. سنجش مقادیر P70S6K با روش وسترن بلات توسط آنتی‌بادی rabbit anti human p70s6k(s6k1) ab(ab 5231) تولید کمپانی ابکم آمریکا انجام گرفت. برای این منظور، ابتدا بافت عضلانی در بافر لیزکننده (RIPA lysis buffer Santa Cruz Biotechnology) ساخت آمریکا به مدت ۶۰ ثانیه در هموژنایزر ۴۰۰۰ دور بر دقیقه هموژن شد. سپس بافت‌های هموژن‌شده با ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند، سپس غلظت پروتئین‌های موجود در آن با استفاده از کیت BCA (Thermo, Pierce, USA) تعیین شد.

در ادامه ۵۰ میکروگرم عصارهٔ پروتئین در ژل آکریل آمید ۱۰٪ قرار داده شده و توسط SDS–PAGE در v200 به مدت ۲ ساعت جدا شد. پس از انکوباسیون ژل‌ها در بافر انتقال‌دهنده به مدت ۳۰ دقیقه، پروتئین‌ها به غشای PVDF با استفاده از جریان ثابت ۳۰۰ میلی‌آمپری به مدت ۳ ساعت، روی یخ در اتاق سرد در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد، انتقال پیدا کردند. سپس کاغذ در محلول بلاکینگ (Tris-buffered saline; 10 mM Tris pH 7.6, 100 mM NaCl -TBS-) حاوی ۵٪ شیر خشک بدون چربی به مدت یک شب در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد، غشا با آنتی‌بادی اولیهٔ β- actin به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. پس از چهار بار شست‌وشوی پنج‌دقیقه‌ای بافر TBST، غشا به مدت یک ساعت با آنتی‌بادی ثانویهٔ کونژوگه با HRP انکوبه شد. سپس چهار بار شست‌وشوی ۵ دقیقه‌ای انجام گرفت و غشا با سوبسترای کمی لومینوسانس ECL به مدت ۱-۲ دقیقه انکوبه شد، سپس با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند و در نهایت باندها به‌وسیلهٔ برنامهٔ Imag j نسخهٔ ۱,۴۱ باندها به‌دست آمد.

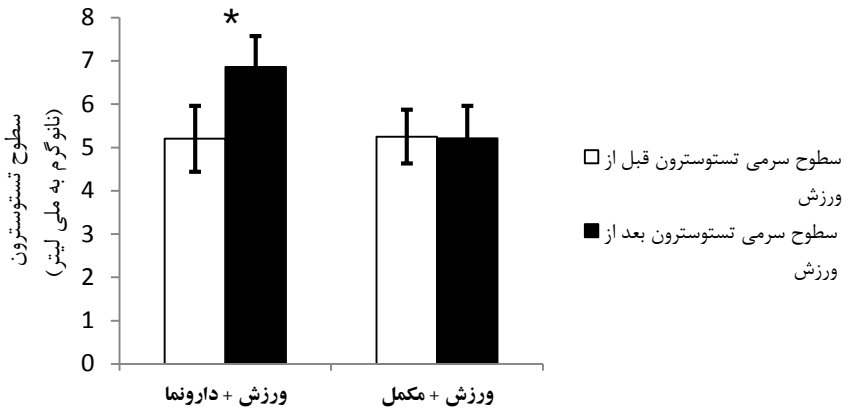
روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف برای مشخص کردن طبیعی بودن داده‌ها استفاده شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن داده‌ها از آزمون آماری تحلیل کوواریانس استفاده شد. پیش از تحلیل کوواریانس همگنی رگرسیون و همگنی واریانس بررسی شد و نتیجه نشان داد استفاده از آزمون تحلیل کوواریانس بلامانع است. تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۶ انجام گرفت. سطح معناداری به‌منظور بررسی اختلاف بین میانگین‌ها ($P \leq ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

نتایج بررسی نشان داد با حذف تأثیر پیش‌آزمون و در نظر گرفتن آن به‌عنوان متغیر هم‌پراش سطوح سرمی تستوسترون در گروه ورزش+ دارونما با میانگین ۶/۸۶ ±۰/۶۲ در مقایسه با گروه ورزش + مکمل با میانگین ۵/۲۱ ±۰/۷۵ از لحاظ آماری به‌طور معناداری، افزایش یافته است (شکل ۲). پس از تعدیل میانگین نمرات پس‌آزمون به‌وسیلهٔ حذف اثر پیش‌آزمون، مداخلهٔ آزمایشی در مرحلهٔ پس‌آزمون، موجب افزایش معنادار در سطوح سرمی تستوسترون شد. با بررسی ضریب تأثیر اتا میزان تأثیر ٪۴۹ بود.

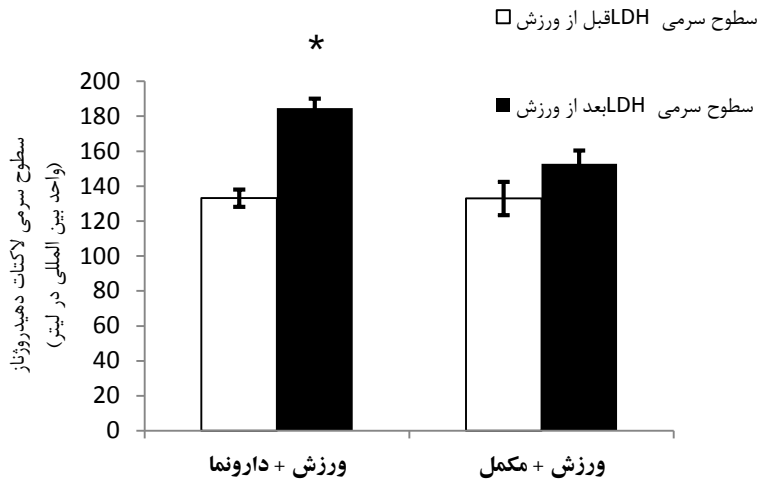
($F = ۲۸/۱۱$ ،$p\text{-value} = ۰/۰۰۱$)



شکل ۲. میانگین ± انحراف معیار تغییرات سطوح پلاسمایی تستوسترون پیش و پس از یک جلسه فعالیت مقاومتی در گروه‌های تحقیق (*معناداری بین گروه ورزش + مکمل و ورزش+ دارونما $P< ۰/۰۵$)

نتایج بررسی نشان داد سطوح سرمی لاکتات دهیدروژناز در گروه ورزش+ دارونما با میانگین ۹/۵± ۱۸۴/۶ در مقایسه با گروه ورزش+ مکمل با میانگین ۷/۵± ۱۵۲/۸ از لحاظ آماری به‌طور معناداری، افزایش یافته است (شکل ۲). پس از تعدیل میانگین نمرات پس‌آزمون به‌وسیلهٔ حذف اثر پیش‌آزمون، مداخلهٔ آزمایشی در مرحلهٔ پس‌آزمون، موجب افزایش معنادار در سطوح سرمی لاکتات دهیدروژناز شد. با بررسی ضریب تأثیر اتا میزان تأثیر ۷۱٪ بود.

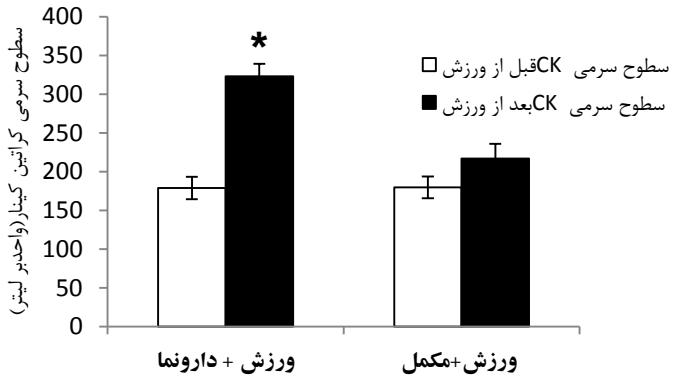
(F = ۷۳/۹۱ ،p-value = ۰/۰۰۱)



شکل ۳. میانگین ± انحراف معیار تغییرات سطوح پلاسمایی لاکتات دهیدروژناز پیش و پس از یک جلسه فعالیت مقاومتی در گروه‌های تحقیق (*معناداری بین گروه ورزش + مکمل و ورزش+ دارونما (P< ۰/۰۵

نتایج نشان داد سطوح سرمی کراتین کیناز در گروه ورزش+ دارونما با میانگین ۱۴/۰۶± ۳۲۳/۲ در مقایسه با گروه ورزش+ مکمل با میانگین ۸/۹± ۲۱۷/۵ از لحاظ آماری به‌طور معنی‌داری، افزایش یافته است (شکل۳). پس از تعدیل میانگین نمرات پس‌آزمون از طریق حذف اثر پیش‌آزمون، مداخلهٔ آزمایشی در مرحلهٔ پس‌آزمون، موجب افزایش معنادار در سطوح سرمی کراتین شد. با بررسی ضریب تأثیر اتا میزان تأثیر ۶۵٪ بود.

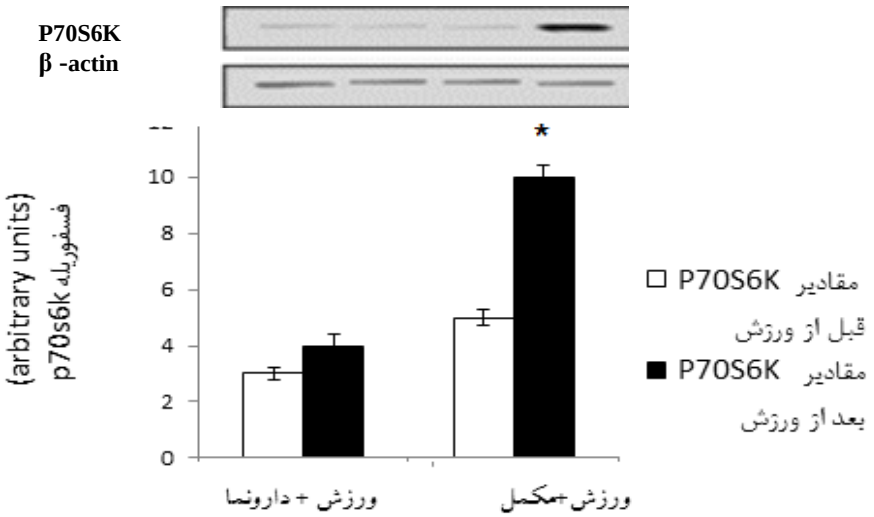
(F = ۶۸/۳۵ ،p-value = ۰/۰۰۱)



شکل ۴. میانگین ± انحراف معیار تغییرات سطوح پلاسمایی کراتین کیناز پیش و پس از یک فعالیت مقاومتی در گروه‌های تحقیق (*معناداری بین گروه ورزش + مکمل و ورزش+ دارونما P< ۰/۰۵)

نتایج نشان داد مقادیر P70S6K در گروه ورزش+ مکمل در مقایسه با گروه ورزش+ دارونما از لحاظ آماری به‌طور معناداری، افزایش یافته است (شکل ۴). پس از تعدیل میانگین نمرات پس‌آزمون به‌وسیلهٔ حذف اثر پیش‌آزمون، مداخلهٔ آزمایشی در مرحلهٔ پس‌آزمون، موجب افزایش معنادار در مقادیر P70S6K شد. با بررسی ضریب تأثیر اتا میزان تأثیر ۸۹٪ بود.

(F = ۱۰۱/۱۵ ،p-value = ۰/۰۰۱)



شکل ۵. تصویر ژل و میانگین ± انحراف معیار تغییرات P70S6K پیش و پس از یک فعالیت مقاومتی در گروه‌های تحقیق (*معناداری بین گروه ورزش + مکمل و ورزش+ دارونما P< ۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد افزایش مقادیر P70S6K در پی مصرف مکمل به‌همراه یک جلسه فعالیت مقاومتی، اتفاق می‌افتد. با توجه به تولید جدید مکمل HMB-FA مطالعه‌ای که به‌صورت مستقیم به ارزیابی تغییرات P70S6K به همراه ورزش بپردازد، مشاهده نشده است. تنها ویلکینسون[1] و همکاران (۲۰۱۳) برای اولین بار نشان دادند مصرف HMB-FA با کاهش شکست پروتئین‌های عضله و افزایش P70S6K همراه است، هرچند در این پژوهش تأثیر آن با ورزش سنجیده نشده است (۱۲). بنابراین به‌منظور بررسی تأثیر HMB-FA به تحقیق‌هایی اشاره می‌شود که تودهٔ عضلانی (هایپرتروفی) در آن تغییر کرده است. به‌تازگی مسیرهای تحریک هایپرتروفی به‌همراه تمرین و مصرف مکمل HMB-FA بررسی شده است. اسدی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که با مصرف ۶ هفته مکمل HMB-FA، در مردان جوان، تودهٔ عضلانی و قدرت، افزایش پیدا می‌کند، درحالی‌که این افزایش به تغییرات هورمون‌های مرتبط با هایپرتروفی، همچون افزایش هورمون رشد و IGF-1 وابسته است و مسیرهای سیگنالی mTOR همچون P70S6K بررسی نشده است (۲۱). در این زمینه ویلسون و همکاران (۲۰۱۴) نیز در بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی به‌همراه مصرف روزانه ۳ گرم مکمل HMB-FA، افزایش تودهٔ عضلانی و قدرت را نشان دادند؛ با این تفاوت که آزمودنی‌های تحقیق افراد تمرین‌کرده بودند (۲۲). برخلاف آن رانسون و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که مصرف مکمل HMB به‌همراه تمرین مقاومتی، تأثیری بر افزایش تودهٔ عضلانی ندارد. در این پژوهش آزمودنی‌ها به دو گروه تقسیم شدند، گروه اول یک هفته و گروه دوم چهار هفته به مصرف ۳ گرم مکمل HMB در روز پرداختند، هرچند در این پژوهش از مکمل HMB-CA استفاده شده بود (۲۳). با وجود این سیلوا و همکاران (۲۰۱۷) در مقالهٔ مروری خود به‌دلیل تأثیر HMB بر مسیر هایپرتروفی از مسیر AKT/mTOR و افزایش تودهٔ عضلات ناشی از آن، مکمل HMB-FA را نیز بر هایپرتروفی و افزایش P70S6K و افزایش احتمالی تودهٔ عضلانی مؤثر دانستند (۲۴).

مطالعات نشان دادند، HMB از یک سو هایپرفسفوریلاسیون 4E-BP1[2] را تسهیل می‌کند، در نتیجه فاکتورهای شروع‌کنندهٔ هایپرتروفی فعال می‌شود، از طرف دیگر این مکمل با مهار فعالیت PKR[3]فسفوریلاسیون زیرواحدα، eIF را افزایش می‌دهد، در نتیجه P70S6K فعال می‌شود و سنتز پروتئین

1 . Wilkinson
2 . Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1
3 . Double strand RNA-dependent protein kinase

و به‌دنبال آن هایپرتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد (۲۵، ۲۶). بنابراین به‌نظر می‌رسد با توجه به افزایش مقدار P70S6K در گروه تمرین به‌همراه مصرف مکمل، HMB-FA نیز توانسته این مسیر را تحریک کند.

همچنین نتایج نشان داد یک جلسه فعالیت مقاومتی به‌همراه مصرف مکمل HMB-FA موجب کاهش سطوح سرمی تستوسترون می‌شود، درحالی‌که مقادیر آن در گروه تمرین بدون مصرف مکمل، افزایش می‌یابد.

مخالف با پژوهش حاضر جوسفین[1] و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که با مصرف مکمل HMB به‌همراه پروتئین Whey در کنار تمرین مقاومتی، سطوح تستوسترون افزایش معناداری پیدا می‌کند و هایپرتروفی در این افراد اتفاق می‌افتد. در این پژوهش با افزایش تستوسترون سطح مقطع[2] و ضخامت[3] عضله در افراد تمرین‌کرده با مصرف HMB افزایش معناداری نشان داد (۲۷). همچنین جرمی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که مصرف یک گرم مکمل HMB-FA ۳۰ دقیقه پیش از یک جلسه فعالیت مقاومتی سنگین، موجب افزایش سطوح تستوسترون در آزمودنی‌ها می‌شود (۲۸). به‌نظر می‌رسد دلیل این تفاوت با پژوهش حاضر، استفاده از الگوی تمرین‌دهی متفاوت است. در این زمینه وینگرن و همکاران (۲۰۱۰) در مقالهٔ مروری خود در زمینهٔ بررسی تأثیر الگوهای تمرین مقاومتی بر ترشح هورمون تستسترون، تغییرات این هورمون را به‌شدت متأثر از شدت، حجم، الگوی ترتیب حرکات، طراحی تمرین، سن، جنس و سابقهٔ تمرین در آزمودنی‌ها دانستند (۲۹). بنابراین احتمالاً تفاوت نتایج در تحقیق جرمی، استفاده از آزمودنی‌های تمرین‌کرده و الگوی تمرینی باشد.

در راستای پژوهش حاضر ویلسون و همکاران (۲۰۱۴) مصرف مکمل HMB-FA به‌همراه تمرین مقاومتی را، در افزایش سطوح تستوسترون سرمی بی‌تأثیر معرفی کردند (۲۲)، که مشابه نتایج رایان و همکاران (۲۰۱۳) بود. دوز مصرف مکمل HMB-FA به‌همراه یک جلسه فعالیت مقاومتی در پژوهش رایان مشابه پژوهش حاضر بود (۶).

تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت مقاومتی از یک سو با افزایش سطوح اپیبودها[4] همچون بتااندروفین و هورمون‌های پپتیدی همچون اپی‌نفرین و از سوی دیگر با افزایش CRH[5](هورمون وابسته به استرس

1 . Josephine
2 . Cross-sectional area
3 . Muscle thickness
4 . Opioid
5 . Corticotropin – releasing hormone

سلولی)، نروکنین B[1] و کیسپپتین[2] فعال شده و این فرایند موجب تحریک نورون GnRH[3] و آزاد شدن GnRH می‌شود. آزاد شدن این هورمون با افزایش سطوح LH و FSH همراه است. این دو هورمون محرک اصلی ترشح هورمون تستوسترون است (۳۱-۲۹). بنابراین به‌نظر می‌رسد، فعالیت مقاومتی از طریق این مکانیسم، به افزایش سطوح تستوسترون منجر شده است، همچنین با توجه به تأثیر ثابت‌شدهٔ HMB در مهار فاکتورهای التهابی و استرس سلولی در مقالات متعدد (۱۴)، احتمالاً در گروه تمرین به‌همراه مصرف مکمل، با کاهش استرس سلولی، محور هیپوتالاموس- هیپوفیزی و مسیرهای پایین‌دست آن NeurokinineB/GnRH/FSH کمتر تحریک شده و موجب کاهش ترشح تستوسترون در گروه تمرین به‌همراه مصرف مکمل، نسبت به گروه تمرین شده است.

یکی دیگر از نتایج پژوهش حاضر افزایش سطوح CK و LDH در گروه تمرین نسبت به گروه تمرین به‌همراه مصرف مکمل است.

مخالف با پژوهش حاضر، کونزالس و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که مصرف HMB-FA بدون غوطه‌وری در آب سرد[4] (CWI) نقشی در ریکاوری پس از تمرین مقاومتی ندارد. در این پژوهش آزمودنی‌ها به چهار گروه دارونما، HMB-FA، HMB-FA+CWI و CWI تقسیم شدند. نتایج نشان داد مصرف مکمل HMB-FA به‌تنهایی قادر به کاهش فاکتورهای آسیب عضلانی همچون CK و میوگلوبین نیست، بنابراین نمی‌تواند در ریکاوری پس از تمرینات مقاومتی مؤثر باشد (۳۲). هرچند برخلاف کونزالس و در راستای پژوهش حاضر، ویلسون و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، مصرف ۲ روز مکمل HMB-FA به‌همراه یک جلسه فعالیت مقاومتی به میزان ۳ گرم در روز، موجب کاهش شاخص‌های آسیب عضلانی در آزمودنی‌ها می‌شود. افزایش CK، ۴۸ ساعت پس از فعالیت مقاومتی در گروه تمرین به‌همراه مکمل به مقدار ۱۰۴٪ و درحالی‌که در گروه تمرین بدون مصرف مکمل به میزان ۳۲۰٪ نشان داده شد. همچنین در این پژوهش، شکست پروتئین‌های عضله با بررسی نسبت ۳متیل هیستیدین به کراتنین نشان داد کاهش غیرمعنادار شکست پروتئین در گروه مصرف مکمل و تمرین، نسبت به گروه تمرین به‌تنهایی مشاهده می‌شود، هرچند این کاهش بسیار نزدیک به معناداری (P=۰/۰۸) بود (۶). همچنین لویر و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که مصرف ۱۲ هفته مکمل HMB-FA به‌همراه تمرین مقاومتی، در فازهای دوهفته‌ای موجب بهبود

1 . NeurokinineB
2 . Kisspeptin
3 . Gonadotropin-releasing hormone
4 . Cold water immersion

ریکاوری و کاهش سطوح CK و کورتیزول در افراد تمرین‌کرده می‌شود. هرچند در پژوهش لویری علاوه‌بر ۳ گرم مکمل HMB-FA، مقدار ۴۰۰ میلی‌گرم مکمل ATP در روز، به آزمودنی‌ها داده می‌شد (۳۳).

در پژوهش حاضر به‌نظظر می‌رسد مصرف مکمل HMB-FA در کنار یک جلسه فعالیت مقاومتی، با جلوگیری از آسیب غشا مانع از خروج آنزیم‌های مرتبط با آسیب عضلانی، همچون CK و لاکتات دهیدروژناز شده است. از طرفی فاکتور اصلی هایپرتروفی، P70S6K، با مصرف HMB-FA افزایش یافته است. بنابراین احتمالاً مصرف ۶ روز مکمل HMB-FA پیش از انجام یک جلسه فعالیت مقاومتی می‌تواند فاکتورهای آسیب عضلانی را کاهش دهد و موجب تحریک هایپرتروفی شود. توصیه می‌شود در تحقیقات آینده مصرف این مکمل در کنار سایر مکمل‌های مرتبط با رشد عضلانی بررسی شود. همچنین سایر مسیرهای مرتبط با هایپرتروفی و آتروفی بررسی شود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر حاصل رسالهٔ دکتری دانشگاه شهید بهشتی است. بدین‌وسیله از پژوهشکدهٔ غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخش بیوشیمی و تمامی آزمودنی‌هایی که در انجام این پژوهش همراهی کردند، کمال تشکر و امتنان را دارم.

منابع و مآخذ

1. Maughan RJ, Burke LM. Practical nutritional recommendations for the athlete. Sports Nutrition: More Than Just Calories-Triggers for Adaptation. 69: Karger Publishers; 2011. p. 131-50
2. Fitschen PJ, Wilson GJ, Wilson JM, Wilund KR. Efficacy of β-hydroxy-β-methylbutyrate supplementation in elderly and clinical populations. Nutrition. 2012.
3. Wilson GJ, Wilson JM, Manninen AH. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review. Nutrition & metabolism. 2008;5(1):1
4. MIRANDA M, SOUZA R, CAPERUTO E. β-hydroxy–β-methylbutyrate (HMβ), Physical training and skeletal muscle: a systematic review. J Morphol. 2017;34(2):107-13
5. Fuller JC, Sharp RL, Angus HF, Baier SM, Rathmacher JA. Free acid gel form of β-hydroxy-β-methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt. British Journal of Nutrition. 2011;105(3):367-72
6. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Walters JA, Baier SM, Fuller JC, et al. β-Hydroxy-β-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. British Journal of Nutrition. 2013;110(3):538-44

۷7. Wilson JM, Fitschen PJ, Campbell B, Wilson GJ, Zanchi N, Taylor L, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2013;10(1):6
8. Koch A, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance exercise. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2014;14(1):68-77
9. Callegari GA, Novaes JS, Neto GR, Dias I, Garrido ND, Dani C. Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Responses After Different Resistance and Aerobic Exercise Protocols. Journal of human kinetics. 2017;58(1):65-72
10. Foschini D, Prestes J. Acute hormonal and immune responses after a bi-set strength training. Age (anos). 2008;22(1.9):20
11. Basualto-Alarcón C, Jorquera G, Altamirano F , Jaimovich E, Estrada M. Testosterone signals through mTOR and androgen receptor to induce muscle hypertrophy. Medicine and science in sports and exercise. 2013;45(9):1712-20
12. Wilkinson D, Hossain T, Hill D, Phillips B, Crossland H, Williams J, et al . Effects of leucine and its metabolite β-hydroxy-β-methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. The Journal of physiology. 2013;591(11):2911-23
13. Paddon-Jones D, Keech A, Jenkins D. Short-term β-hydroxy-β-methylbutyrate supplementation does not reduce symptoms of eccentric muscle damage. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2001;11(4):442-50
14. Kraemer WJ, Hatfield DL, Comstock BA, Fragala MS, Davitt PM, Cortis C, et al. Influence of HMB supplementation and resistance training on cytokine responses to resistance exercise. Journal of the American College of Nutrition. 2014;33(4):247-55
15. Allison AG. The effects of a 12-week resistance training program combined with casein or whey protein supplementation on body composition, muscle strength, and markers of satellite cell activation in older males 2010
16. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. Sports medicine. 2005;35(4):339-61
17. Wilson JM, Kim J-s, Lee S-r, Rathmacher JA, Dalmau B, Kingsley JD, et al. Acute and timing effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on indirect markers of skeletal muscle damage. Nutrition & metabolism. 2009;6(1):6
18. Stanković A, Đorđević-Nikić M, Kukić F, Petrović M, Cvijanović N, Todorović N. The effect of strength training on the testosterone level in men. Fizička kultura. 2013;67(2):157-66
19. Hayot M, Michaud A, Koechlin C, Caron M, Leblanc P, Prefaut C, et al. Skeletal muscle microbiopsy: a validation study of a minimally invasive technique. European Respiratory Journal. 2005;25(3):431-40
20. Kudrna RA. The Effects of Resistance Exercise, Resistance Training, and a Multi-Ingredient High Caffeine Pre-Exercise Supplement on the p38 and ERK1/2 Cellular Signaling Proteins: University of Kansas; 2014

21. Asadi A, Arazi H, Suzuki K. Effects of β-hydroxy-β-methylbutyrate-free acid supplementation on strength, power and hormonal adaptations following resistance training. Nutrients. 2017;9(12):1316
22. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Andersen J, Wilson SM, Stout JR, et al. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. European journal of applied physiology. 2014;114(6):1217-27
23. Ransone J, Neighbors K, Lefavi R, Chromiak J. The effect of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on muscular strength and body composition in collegiate football players. Journal of strength and conditioning research. 2003;17(1):34-9
24. Silva VR, Belozo FL, Micheletti TO, Conrado M, Stout JR, Pimentel GD, et al. β-Hydroxy-β-methylbutyrate free acid supplementation may improve recovery and muscle adaptations after resistance training: A systematic review. Nutrition Research. 2017;45:1-9
25. Hawley JA, Hargreaves M, Joyner MJ, Zierath JR. Integrative biology of exercise. Cell. 2014;159(4):738-49
26. Albert FJ, Morente-Sánchez J, Ortega FB, Castillo MJ, Gutiérrez Á. Usefulness of β-hydroxy-β-methylbutyrate (HMB) supplementation in different sports: an update and practical implications. Nutricion hospitalaria. 2015;32(1):20-33
27. Jakubowski JS, Wong EP, Nunes EA, Noguchi KS, Vandeweerd JK, Murphy KT, et al. Equivalent Hypertrophy and Strength Gains in HMB-or Leucine-supplemented Men. Medicine and science in sports and exercise. 2018
28. Townsend JR, Hoffman JR, Gonzalez AM, Jajtner AR, Boone CH, Robinson EH, et al. Effects of β-hydroxy-β-methylbutyrate free acid ingestion and resistance exercise on the acute endocrine response. International journal of endocrinology. 2015;2015
29. Vingren JL, Kraemer WJ, Ratamess NA, Anderson JM, Volek JS, Maresh CM. Testosterone physiology in resistance exercise and training. Sports medicine. 2010;40(12):1037-53
30. Rietjens R. Acute Testosterone Responses to Different Resistance Exercise Intensities. 2014
31. Marques P, Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. Physiology of GnRH and gonadotropin secretion. Endotext [Internet]: MDText .com, Inc.; 2018
32. Gonzalez AM, Stout JR, Jajtner AR, Townsend JR, Wells AJ, Beyer KS, et al. Effects of β-hydroxy-β-methylbutyrate free acid and cold water immersion on post-exercise markers of muscle damage. Amino acids. 2014;46(6):1501-11
33. Lowery RP, Joy JM, Rathmacher JA, Baier SM, Fuller JC, Shelley MC, et al. Interaction of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid and adenosine triphosphate on muscle mass, strength, and power in resistance trained individuals. Journal of strength and conditioning research. 2016;30(7):1843-54

The Acute Effect of HMB-FA Supplement and Sport Activity on Some Factors that Influence Hypertrophy and Muscle Damage in Inactive Men

Seyyed Mustafa Mousavi Mozafar[1] - Maryam Nourshahi*[2] – Reza Gharakhanlou[3] – Mehidi Hedayati[4] - Ali Akbarnejad[5]

1.Ph.D. Student of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran 2.Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran* 3. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, University of Trarbiat Modares, Tehran, Iran 4.Associate Professor of Endocrinology and Metabolism Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran 5. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received :17/09/2018 ; Accepted: 17/12/2018)

Abstract

Considering the impact of HMB supplement on sport performance, the tendency to consume it in order to achieve more efficiency has increased. Accordingly, the present study investigates the impact of a 6-day consumption of HMB-FA supplement on factors that influence hypertrophy and recovery in inactive men. 20 inactive men with a body mass index of 21.5±1 kg/m2 and age of 25.1±4 years were classified into the following two groups: sport with placebo and sport with supplement. The subjects started to consume HMB-FA supplement 6 days before resistance exercises. The muscle biopsy samples were taken from the subjects immediately before and 10 minutes after resistance exercise. Similarly, blood samples were taken immediately before and after as well as 48 after the exercise. The Results of ancova that there is a significant increase (p =0.001) between serum levels of testosterone before and immediately after exercise in sport with placebo group in comparison with sport with supplement group. In addition, there is a significant increase (p =0.001) in P70S6K values and a significant decrease (p =0.001) in serum levels of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) between sport with supplement group and sport with placebo. Therefore, acute consumption of HMB supplement before resistance exercise can increase P70S6K values as the index of hypertrophy. By the same token, it decreases CK and LDH as the indices of muscle damage.

Keywords

Creatine Kinase, Lactate Dehydrogenase, Muscle Biopsy, P70S6K, Testosterone

---

*Corresponding Author:Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir ; Tel:+9829902948–