

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال ششم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱۳۹۸؛ صفحات ۱۶-۹

مقاله پژوهشی

اثر فعالیت راه رفتن با محدودیت جریان خون بر مسیر سیگنالی mTOR عضله اسکلتی مردان تمرین نکرده

سعید حلاج باشی^۱، بهمن میرزایی^{۲*}، فرهاد رحمانی نیا^۲

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۲۹

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر فعالیت راه رفتن با محدودیت جریان خون (BFR) بر فعالیت مسیر سیگنالی mTOR عضله اسکلتی مردان تمرین نکرده بود. پنج مرد سالم تمرین نکرده در دو وهله جداگانه (به فاصله سه هفته) مورد مطالعه قرار گرفتند: (۱) راه رفتن با BFR بر روی تردمیل با شدت ۴۰٪ از توان هوازی بیشینه (VO₂max) و (۲) فعالیت در شرایط مشابه بدون BFR. نمونه‌های باپوپی (پهن جانی) و نمونه‌های خونی (سیاهرگ بازویی) قبل و بعد از فعالیت در فواصل زمانی معین جهت بررسی میزان فسفوریلاسیون پروتئین و تغییرات در هورمون رشد (GH)، فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1) و لاکتات خون گرفته شد. نتایج نشان داد که فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و p70S6K در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت در هیچ یک از دو گروه BFR و کنترل تغییر معناداری نداشت ($P > 0.05$). IGF-1، بلافاصله بعد از فعالیت در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت افزایش معنادار نشان داد ($P < 0.05$). GH بلافاصله بعد از فعالیت در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت و در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنادار نشان داد ($P < 0.05$). لاکتات خون در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معناداری نداشت ($P > 0.05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و S6K به همراه فعالیت راه رفتن با محدودیت جریان خون تحریک نمی‌شود. در نتیجه مسیر سیگنالی mTOR به عنوان یک مکانیسم احتمالی نقش چندانی در افزایش سنتز پروتئین به دنبال فعالیت راه رفتن با BFR ندارد.

واژه‌های کلیدی: لاکتات خون، تمرین کاتسو، باپوپی عضله، هایپرتروفی عضله.



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران. (نویسنده مسئول): bmirzaei2000@yahoo.com

تمامی حقوق این مقاله بازمتن برای دانشگاه شهید مدنی آذربایجان محفوظ است.

نحوه ارجاع: سعید حلاج باشی، بهمن میرزایی، فرهاد رحمانی نیا. اثر فعالیت راه رفتن با محدودیت جریان خون بر مسیر سیگنالی mTOR عضله اسکلتی مردان تمرین نکرده. دو فصلنامه مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش ۱۳۹۸؛ ۶(۲): ۱۶-۹.

Original Article

The Effect of Walking Exercise with Blood Flow Restriction on Mtor Signaling Pathway in Untrained Male Subjects' Skeletal Muscle

Saeid Hallajbashi¹, Bahman Mirzaei^{2*}, Farhad Rahmaniniya²

Received November 26 2019; Accepted February 18 2020

Abstract

The purpose of this study was to study the acute responses to BFR walking exercise on the mTOR signaling pathway in untrained male subjects. five (n=5) apparently healthy untrained male participants were studied identically on two occasions: (1) BFR aerobic exercise consisting of walking at an exercise intensity of 40% VO₂max (2) Identical walking exercise without BFR (Ctrl). Each trial was separated by 3 weeks. Muscle biopsy (vastus lateralis) and blood sample (antecubital vein) were obtained pre- and post-exercise in given time points to determine protein expression and changes in GH and IGF-1. Results showed that mTOR and p70S6K phosphorylation levels did not change significantly in both groups (P > 0.05). IGF-1 and GH immediately after exercise increased in BFR group (P<0.05). Blood lactate did not show any significant change in both groups. We find that the phosphorylation of p70S6K and mTOR did not activate after a bout of walking with blood flow restriction. As result the mTOR signaling pathway is not responsible for stimulating skeletal muscle protein synthesis after BFR walking exercise.

Keywords: blood lactate, Kaatsu training, muscle biopsy, muscle hypertrophy.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. PhD Student of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, University of Guilan, Guilan, Iran
2. Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, University of Guilan, Guilan, Iran.
(Corresponding Author): bmirzaei2000@yahoo.com

All rights are reserved for Azarbaijan Shahid Madani University.

Cite as: Saeid Hallajbashi, Bahman Mirzaei, Farhad Rahmaniniya. The effect of walking exercise with blood flow restriction on mTOR signaling pathway in untrained male subjects' skeletal muscle. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2020; 6(2): 9-16.

مقدمه

افزایش غلظت سرمی این هورمون‌ها می‌تواند یکی از کاندیداهای اصلی فعال کننده مسیر سیگنالی mTOR و افزایش توده عضلانی مشاهده شده به همراه تمرین هوازی با BFR باشد. با این حال، شواهد تحقیقی اندکی درستی این فرضیه به دنبال فعالیت با BFR را بررسی کرده‌اند. ازاکا و همکاران^۶ (۲۰۱۴) افزایش معنادار GH و عدم افزایش معنادار IGF-1 را در آزمودنی‌های خود مشاهده کردند (۱۱). با وجود این، عدم افزایش معنادار فسفوریلاسیون پروتئین‌های Akt, mTOR و S6K1 در این مطالعه گزارش شد (۱۱). با این حال، طبق اطلاعات ما این تنها مطالعه‌ای است که فعالیت مسیر سیگنالی mTOR به دنبال فعالیت راه رفتن با BFR گزارش کرده است (۱۱). بنابراین، با توجه به کمبود شواهد موجود برای درک بهتر از مکانیسم‌های هایپرتروفی عضله که به همراه چندین مطالعه تمرینی (۱،۲،۳،۴) گزارش شده است، نیاز به مطالعات بیشتر احساس می‌شود. فرض ما بر این است که مسیر سیگنالی mTOR، به همراه فعالیت هوازی با محدودیت جریان خون، جهت افزایش سنتز پروتئین در عضله اسکلتی فعال شده و یکی از مکانیسم‌های احتمالی هایپرتروفی متعاقب فعالیت هوازی با BFR است. بنابراین، هدف این مطالعه بررسی فسفوریلاسیون پروتئین‌های mTOR و S6k، همچنین سطوح سرمی IGF-1، GH و لاکتات خون به همراه یک وهله فعالیت هوازی با و بدون محدودیت جریان خون است.

روش پژوهش

آزمودنی‌ها

پنج مرد بزرگسال تمرین نکرده (سن: ۳۳/۴±۱/۰۲ سال؛ توده بدن: ۷۹/۴±۶۴/۶۹ کیلوگرم؛ قد: ۱۷۳/۴±۹/۰۲ سانتی متر؛ چربی بدن: ۱۸/۲±۹۷/۲۲ درصد) که در طول یک سال گذشته فعالیت ورزشی منظم نداشتند، داوطلبانه در این مطالعه شرکت کردند. آزمودنی‌ها، هیچ نوع بیماری مزمن نداشتند، سیگاری نبودند و دارو مصرف نمی‌کردند. یک معادله رگرسیونی برای تخمین ضربان قلب بیشینه مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). پس از آن VO₂max آزمودنی‌ها توسط نسبت ضربان قلب بیشینه به ضربان قلب استراحت و معادله ارائه شده توسط یوت و همکاران^۷ (۲۰۰۴) تخمین زده شد (۱۳). گزارش شده است هنگامی که ضربان قلب بیشینه از طریق سن محاسبه می‌شود، VO₂max می‌تواند با روش نسبت ضربان قلب با خطای استاندارد ۷/۸٪ تخمین زده شود (۱۲). ویژگی‌های بدنی آزمودنی‌ها نیز یک روز قبل از مطالعه اندازه‌گیری شد. تمامی آزمودنی‌ها از روش انجام کار و خطرات آن مطلع شده و رضایت نامه شرکت در طرح تحقیق را قبل از آغاز مطالعه امضاء کردند. مجوز انجام این تحقیق توسط کمیته اخلاقی دانشگاه گیلان برای استفاده از آزمودنی‌های انسانی مورد تایید قرار گرفت (شناسه: IR.GUMS.REC. 1397.061).

تمرین ورزشی با محدودیت جریان خون به عنوان یک روش تمرینی برای افزایش حجم و قدرت عضلانی مطرح است. تاکنون مطالعات فواید تمرین هوازی با محدودیت جریان خون و با شدت پایین را برای افزایش قدرت و اندازه عضله گزارش کرده‌اند (۱،۲). با این حال، چگونگی کسب توده عضلانی در اثر این نوع تمرینات همچنان یک موضوع مبهم است. مطالعات گذشته چندین مسیر را برای تعیین مکانیسم‌های هایپرتروفی عضلانی پس از تمرین با محدودیت جریان خون بررسی کرده‌اند. مسیر سیگنالی mTOR یکی از مسیرهای اصلی هایپرتروفی عضله است که جهت سنتز پروتئین عضله و در نهایت هایپرتروفی ضروری است (۵). مسیر Akt/mTOR با فعال کردن پروتئین پایین دستی خود (S6K) موجب افزایش سنتز پروتئین عضله می‌شود. چندین مطالعه نقش مسیر سیگنالی Akt/mTOR را در سنتز پروتئین عضله به همراه تمرین مقاومتی با محدودیت جریان خون تایید کرده‌اند (۵،۶،۷). فوجیتا و همکاران^۲ (۲۰۰۷) نشان دادند که تمرین مقاومتی به همراه BFR موجب افزایش فسفوریلاسیون پروتئین‌های مسیر سیگنالی Akt/mTOR/S6k و افزایش سنتز پروتئین عضلانی می‌شود. در تایید این یافته‌ها فرای و همکاران^۳ (۲۰۱۰) و گاندرمن و همکاران^۴ (۲۰۱۲) در دو مطالعه جداگانه، نشان دادند که سنتز پروتئین عضله پس از یک وهله تمرین مقاومتی با BFR افزایش یافته و مسیر سیگنالی Akt/mTOR/S6k در این فرآیند نقش دارد (۷،۸).

علاوه بر گزارش‌ها در مورد افزایش حجم عضله به همراه تمرین مقاومتی با BFR، چندین مطالعه نشان داده‌اند که تمرین هوازی با BFR نیز باعث افزایش اندازه و قدرت عضله می‌شود (۱،۳،۹). برای مثال، آبه و همکاران^۵ (۲۰۰۶)، برای اولین بار افزایش ۴ تا ۷ درصدی در حجم عضله ران و افزایش ۸ تا ۱۰ درصدی در قدرت ایزومتریک عضله ران به همراه ۳ هفته تمرین پیاده روی با BFR گزارش کردند (۲). پس از آن چندین مطالعه یافته‌های اولیه آبه و همکاران (۲۰۰۶) را تایید کردند (۱،۹). مکانیسم هایپرتروفی عضلانی به همراه تمرین هوازی با شدت پایین با BFR به خوبی درک نشده است. با این حال، مطالعات قبلی چندین سناریوی ممکن همانند هورمون رشد (GH)، عامل رشد شبه انسولینی (IGF-I) و دیگر عوامل تنظیمی مایوژنیک را در این ارتباط مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۰). برای مثال، یک وهله فعالیت هوازی با BFR با شدت اندک (۵۰ متر در دقیقه بر روی تردمیل)، موجب افزایش GH خون شده است اما سطوح IGF-I به همراه یک وهله فعالیت و سه هفته تمرین پیاده روی تغییر نکرد (۲). با توجه به آثار آنابولیک GH و IGF-1 از طریق مسیر سیگنالی mTOR به نظر می‌رسد

1. Phosphatidylinositol-3-OH kinase

2. Fujita et al

3. Fry et al

4. Gundermann et al

5. Abe et al

6. Ozaki et al

7. Uth et al

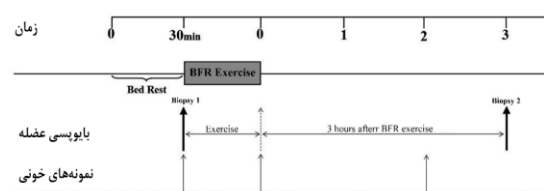
جریان خون به مدت ۱۰ ثانیه برداشته شد. این حالت تا زمانی که فشار شریان بند از فشار اولیه ۱۲۰ میلی‌متر جیوه به ۲۰۰ میلی‌متر جیوه برسد تکرار شد. فشار شریان بند ۲۰۰ میلی‌متر جیوه فشار مورد نظر برای ارزیابی پاسخ به فعالیت هوازی در نظر گرفته شد. پس از این دوره آمادگی، آزمودنی‌ها با شدت ۶۰ تا ۶۵٪ از ضربان قلب بیشینه معادل با ۴۰٪ از اکسیژن مصرفی بیشینه فعالیت هوازی با محدودیت جریان خون را اجرا کردند (۱۳). برنامه فعالیت هوازی شامل پنج وهله ۲ دقیقه‌ای بود و یک دقیقه استراحت بین هر وهله بود. محدودیت جریان خون در کل جلسه فعالیت هوازی و در وهله‌های استراحت حفظ شد (کل زمان فعالیت ۱۴ دقیقه). بنابراین، کل زمان محدودیت جریان خون برای هر آزمودنی تقریباً ۱۷ دقیقه بود (تقریباً ۳ دقیقه مرحله آماده‌سازی قبل از آغاز فعالیت هوازی). آزمودنی‌ها، سه هفته پس از فعالیت با BFR، فعالیت هوازی بدون محدودیت جریان خون را دقیقاً مشابه با گروه BFR و بدون محدودیت جریان خون اجرا کردند. برداشت نمونه‌های خونی و نمونه بایوپسی مشابه گروه محدودیت جریان خون بود.

اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی

برای ارزیابی تغییر در محتوای پروتئین‌های مورد مطالعه از آنالیز وسترن بلات استفاده شد. برای انجام آزمون وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی‌اکریل‌امید SDS-PAGE ۱۲٪ جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ در محلول بلاکینگ برای ۱ ساعت قرار گرفت. سپس کاغذ به مدت ۲۴ ساعت در آنتی بادی اولیه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ آنتی بادی ثانویه به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. بعد از این مرحله بلات‌ها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. سپس بافرها را در بافر استریپینگ شستشو داده و آنتی بادی بتا‌اکتین را روی کاغذ گذاشته و مجدداً با آنتی بادی ثانویه انکوبه شدند و بتا‌اکتین کنترل نیز در فیلم رادیولوژی ظاهر شد. سپس باندهای ایمونوبلات بدست آمده با استفاده از نرم افزار Image J برای ارزیابی تغییر در مقدار پروتئین کمی‌سازی شدند. p-mTOR Antibody (59.ser 2448) و p-p70S6K α Antibody (E-5) به عنوان آنتی بادی اولیه و IgG κ binding protein-HRP (m-IgG κ BP-HRP) به عنوان آنتی بادی ثانویه مورد استفاده قرار گرفت. تمامی آنتی بادی‌ها از شرکت بیوتکنولوژی سانتاکروز (SantaCruz, CA) خریداری شدند. غلظت سرمی هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولینی با استفاده از chemiluminescent immunoassay با استفاده از کیت LIAISON (Diasorin, LIAISON, Italy) و غلظت لاکتات خون نیز توسط روش آنزیماتیک با استفاده از کیت Randox (Randox Laboratories, Co.) آنزیماتیک با استفاده از کیت Antrim, UK اندازه‌گیری شدند.

طرح مطالعه

آزمودنی‌ها فعالیت هوازی را در دو وهله جداگانه به همراه سه هفته استراحت بین هر وهله با و بدون محدودیت جریان خون اجرا کردند. در گروه با محدودیت جریان خون، کاف‌های الاستیک دستگاه باند فشاری (ساخت شرکت پوپیش صنعت آریا، شماره ثبت ۱۱۶۲۲) به بالاترین قسمت پاهای هر آزمودنی در هنگام فعالیت هوازی روی تردمیل بسته شد. یک شب قبل از اجرای مطالعه، آزمودنی‌ها یک غذای استاندارد را در ساعت ۱۰ شب صرف کردند. بعد از صرف شام تا پایان اندازه‌گیری، آزمودنی‌ها فقط اجازه نوشیدن آب داشتند. صبح روز بعد، آزمودنی‌ها در حالت ناشتا به آزمایشگاه مراجعه کرده و در حالت درازکش ۳۰ دقیقه استراحت کردند. پس از ۳۰ دقیقه استراحت، اولین نمونه خونی از سیاهرگ آنتی کوبیتال آزمودنی‌ها و اولین نمونه بایوپسی از عضله پهن جانبی پای برتر هر آزمودنی به فاصله ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متری از استخوان کشک گرفته شد (۱۱). بلافاصله پس از گرفتن اولین نمونه بایوپسی، یک وهله فعالیت هوازی نظارت شده با و بدون محدودیت جریان خون بر روی تردمیل اجرا شد. پس از اتمام فعالیت، هر آزمودنی توسط یک صندلی چرخدار به تخت بیمارستانی انتقال یافته و دومین (بلافاصله پس از فعالیت (H0)) و سومین نمونه (۲ ساعت پس از فعالیت (H2)) خونی از آزمودنی‌ها گرفته شد. در انتها، دومین نمونه عضلانی به فاصله ۳-۲ سانتی‌متری از محل بایوپسی اول برداشته شد (شکل ۱). بایوپسی عضله توسط یک پزشک متخصص و آشنا به روش بایوپسی انجام شد. تمامی نمونه‌های عضلانی بلافاصله در مایع نیتروژن منجمد شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا هنگام آنالیزهای مولکولی نگهداری شد. بایوپسی عضله با استفاده از یک سوزن میکروبایوپسی دیسپوزال (gauge 14x11, TSK ACECUT Biopsy Needle, Japan)، تحت شرایط استریل و بی حسی موضعی (لیدوکائین ۱٪) انجام شد.



شکل ۱. نمایش شماتیک طرح مطالعه. نمونه‌های خونی و نمونه‌های بایوپسی در زمان نشان داده شده به وسیله پیکانه

فعالیت هوازی با و بدون محدودیت جریان خون

پس از بایوپسی اولیه، باندهای فشاری پایین تنه (پهنای کاف‌ها ۷ سانتی متر بود) بر روی بالاترین قسمت پاهای آزمودنی‌ها قرار گرفت. به منظور گرم کردن و آمادگی برای فعالیت با BFR، آزمودنی‌ها با بستن شریان بند با فشار ۱۲۰ میلی‌متر جیوه بر روی صندلی نشستند و محدودیت جریان خون به مدت ۳۰ ثانیه حفظ شد، سپس محدودیت

فعالیت به حدود مقادیر استراحتی بازگشت. IGF-1 و GH در گروه کنترل تغییر معناداری را نشان ندادند ($P > 0.05$).

جدول ۱. مقدار متغیرها در طول مداخله

متغیر	گروه	پیش‌آزمون	بلافاصله بعد (H0)	۲ ساعت بعد (H2)
لاکتات	BFR	۲/۰۸±۰/۲۸	۳/۴۱±۱/۲۵	۱/۵۷±۰/۱۰
(mmol/L)	Ctrl	۱/۹۷±۰/۱۴	۳/۰۷±۰/۹۰	۱/۷۲±۰/۱۳
IGF-1	BFR	۱۷۹/۰۰±۱۶/۹۷	۱۸۳/۱۷±۲۱/۷۶*	۱۷۲/۲۵±۱۶/۴۵
(ng/ml)	Ctrl	۱۷۲/۲۵±۱۶/۰۱	۱۷۱/۵۰±۴/۹۷	۱۶۴/۰۰±۷/۲۲
GH	BFR	۰/۳۳±۰/۰۸	۱/۲۲±۰/۴۳*†	۰/۲۲±۰/۰۰
(ng/ml)	Ctrl	۰/۱۷±۰/۰۸	۰/۱۵±۰/۱۰	۰/۲۰±۰/۰۷

* و †: اختلاف معنی‌دار با پیش‌آزمون و گروه کنترل ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

مسیر سیگنالی mTOR به عنوان یکی از مسیرهای اصلی هایپرتروفی عضلانی شناخته شده است. با این حال، نتایج مطالعه حاضر بر خلاف فرض اولیه، نشان داد که فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و S6K در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت در گروه BFR و همچنین در گروه بدون محدودیت جریان خون افزایش معناداری نمی‌یابد. بر این اساس، میتوان گفت که مسیر سیگنالی mTOR، احتمالاً به عنوان یکی از مکانیسمهای افزایش سنتز پروتئین و افزایش توده عضله به همراه فعالیت راه رفتن با BFR فعال نشده و نقش آن به عنوان یک مکانیسم احتمالی افزایش هایپرتروفی عضله متعاقب تمرین هوازی با BFR اهمیت چندانی ندارد.

گزارش شده است که رشد عضلانی با افزایش GH و IGF-1 به همراه فعالیت ورزشی (۱۴) و همچنین فعالیت ورزشی هوازی با BFR (۲،۱۱) تحریک می‌شود. نتایج ما افزایش معنادار GH را در گروه BFR، در مقایسه با گروه بدون محدودیت جریان خون به همراه فعالیت ورزشی هوازی نشان داد. با این حال، این افزایش معنادار در مورد IGF-1 مشاهده نشد. IGF-1 با اتصال به گیرنده غشایی و سپس ورود به سلول منجر به فعال سازی PI3K می‌شود. PI3K به نوبه خود از طریق دو مسیر (۱) فعال سازی GSK3 و در نهایت ۲) eIF2 فعال سازی Akt و mTOR و فسفوریلاسیون p70S6k سنتز پروتئین عضلانی را افزایش می‌دهد (۱۵). در مطالعه حاضر اگرچه در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت افزایش در IGF-1 معنادار بوده اما این افزایش احتمالاً به حدی نبوده که باعث تحریک Akt و در ادامه فسفوریلاسیون mTOR و S6K شود. این نتایج در توافق با یافته‌های ازاکي و همکاران (۲۰۱۴) است که عدم فسفوریلاسیون Akt، mTOR و S6K و همچنین عدم افزایش معنادار در IGF-1 را به همراه فعالیت هوازی با BFR گزارش کردند (۱۱). به نظر می‌رسد که به همراه فعالیت هوازی به همراه BFR مکانیسمهای پیچیده تری برای تحریک این مسیر مورد نیاز است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که پروتئینهایی که به همراه هایپوکسی فعال می‌شوند مانند HIF و پروتئین پایین دستی آن REDD1 بر مسیر سیگنالی mTOR اثرگذار بوده و باعث سرکوب آن می‌شوند (۱۶،۱۷). بنابراین، به احتمال زیاد با توجه به هایپوکسی ایجاد شده به همراه BFR، احتمالاً بیان پروتئینهای HIF و پروتئین پایین دستی آن REDD1 افزایش یافته و این یکی از دلایل عدم تحریک مسیر mTOR بوده است. دورموند و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که REDD1 نقش تنظیمی را به همراه تمرین

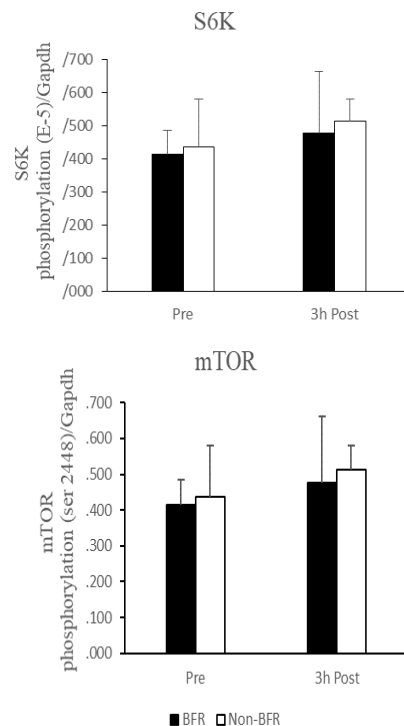
تحلیل آماری

داده‌ها بر اساس میانگین و SE ارائه شده است. تحلیل آنوای دوطرفه با اندازه گیری‌های مکرر برای مقایسه تغییرات در فسفوریلاسیون پروتئین، تغییرات هورمونی و لاکتات خون در گروه‌ها از تحلیل آنوای دوطرفه با اندازه گیری‌های مکرر [گروه‌ها (BFR در برابر کنترل) × زمان (پیش‌آزمون در برابر H1 و در برابر H2 (تحلیل نمونه‌های خونی) یا پیش‌آزمون در برابر ۳ ساعت پس از فعالیت (نمونه بایوپسی))] برای مقایسه تغییرات در هورمون کورتیزول، لاکتات خون و بیان پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. با مشاهده اختلاف معنادار بین زمانها، از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ (IBM Corp., Armonk, NY) تحلیل شدند و سطح معناداری در سطح $P < 0.05$ تنظیم شده بود.

یافته‌ها

شکل ۲ تغییرات در فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و S6K قبل و ۳ ساعت پس از فعالیت با و بدون محدودیت جریان خون را نشان می‌دهد. فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و p70S6K در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت در هیچ یک از دو گروه BFR و کنترل تغییر معناداری نداشت ($P > 0.05$).

شکل ۲. فسفوریلاسیون mTOR و S6K گروه‌ها



همچنین، نتایج نشان داد که لاکتات خون در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معناداری نداشت ($P > 0.05$). IGF-1، بلافاصله بعد فعالیت با BFR در مقایسه با مقادیر قبل از فعالیت با BFR افزایش معنادار داشت ($P < 0.05$). اما در مقایسه با گروه کنترل افزایش آن معنادار نبود ($P > 0.05$). مقادیر IGF-1، دو ساعت بعد فعالیت با BFR به مقادیر استراحتی بازگشت. هورمون رشد بلافاصله بعد از فعالیت با BFR در مقایسه با مقادیر قبل از تمرین و در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنادار داشت ($P < 0.05$) و دو ساعت بعد

ارتباط با پاسخ لاکتات، یافته های این مطالعه با نتایج لونک و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد؛ این محققان نیز به همراه فعالیت راه رفتن با شدت پایین در ترکیب با BFR، تغییری را در لاکتات خون آزمودنی هایشان مشاهده نکردند و نتیجه گرفتند که احتمالاً مکانیسمهایی به غیر از تجمع لاکتات در فواید مشاهده شده به همراه تمرین هوازی با BFR نقش دارند (۲۱). کنسیساتو و همکاران^۳ (۲۰۱۶) نیز پس از فعالیت هوازی با شدت پایین به همراه محدودیت جریان خون (رکاب زنی با ۴۰٪ از $VO_2\text{peak}$)، تغییر معنی داری را در غلظت لاکتات خون گزارش نکردند (۲۶). بنابراین به نظر می رسد که اگرچه عوامل متابولیک نقش عمده ای را در فواید مشاهده شده به همراه تمرین مقاومتی با BFR بازی می کنند (۱۸،۲۷)، به نظر می رسد که نتایج ما مکانیسم تجمع متابولیت ها را به عنوان عامل بهبود بایوژنز میتوکندری به همراه تمرین هوازی با BFR زیر سوال می برد. با وجود این، به دلیل محدودیت در انتخاب آزمودنی ها و محدودیت های متدولوژیک در اندازه گیری سایر پروتئینهای اثرگذار بر مسیرهای هایپرتروفی نتایج مطالعه حاضر باید با احتیاط مورد تفسیر قرار گیرد.

نتیجه گیری کلی

به طور خلاصه، بر اساس نتایج مطالعه حاضر به نظر می رسد که فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و S6K به همراه فعالیت راه رفتن با محدودیت جریان خون تحریک نمی شود. در نتیجه مسیر سیگنالی mTOR به عنوان یک مکانیسم احتمالی نقش چندانی در افزایش سنتز پروتئین به همراه قدم زدن با BFR نداشته و احتمالاً مسیرهای سیگنالی دیگر در این زمینه نقش دارند.

منابع

1. Abe T, Fujita S, Nakajima T, Sakamaki M, Ozaki H, Ogasawara R, Sugaya M, Kudo M, Kurano M, Yasuda T, Sato Y. Effects of low-intensity cycle training with restricted leg blood flow on thigh muscle volume and $VO_2\text{max}$ in young men. *Journal of sports science & medicine*. 2010;9(3):452.
2. Abe T, Kearns CF, Sato Y. Muscle size and strength are increased following walk training with restricted venous blood flow from the leg muscle, Kaatsu-walk training. *Journal of applied physiology*. 2006;100(5):1460-6.
3. Ozaki H, Miyachi M, Nakajima T, Abe T. Effects of 10 weeks walk training with leg blood flow reduction on carotid arterial compliance and muscle size in the elderly adults. *Angiology*. 2011;62(1):81-6.
4. Park S, Kim JK, Choi HM, Kim HG, Beekley MD, Nho H. Increase in maximal oxygen uptake following 2-week walk training with blood flow occlusion in athletes. *European journal of applied physiology*. 2010 1;109(4):591-600.
5. Drummond MJ, Fujita S, Takashi A, Dreyer HC, Volpi E, Rasmussen BB. Human muscle gene expression following resistance exercise and blood flow restriction. *Medicine and science in sports and exercise*. 2008;40(4):691.
6. Fujita S, Abe T, Drummond MJ, Cadenas JG, Dreyer HC, Sato Y, Volpi E, Rasmussen BB. Blood flow restriction during low-intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. *Journal of applied physiology*. 2007;103(3):903-10.
7. Fry CS, Glynn EL, Drummond MJ, Timmermann KL, Fujita S, Abe T, Dhanani S, Volpi E, Rasmussen BB. Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle

مقاومتی با BFR بر عهده دارد (۵). با این حال، درستی این احتمال باید در مطالعات آینده با کنترل تمامی پروتئینهای درگیر در تحریک مسیر هایپرتروفی mTOR و پروتئینهای تنظیمی مانند HIF و REDD1 مورد بررسی قرار گیرد. نتیجه مطالعه حاضر با آنچه ورنیام و همکاران^۱ (۲۰۱۳) گزارش کردند همخوانی دارد (۱۸). این محققان نشان دادند که افزایش سطح فسفوریلاسیون S6K به زمان بیشتری نیاز دارد و افزایش آن عموماً ۲۴ ساعت پس از فعالیت مشاهده می شود (۱۸). با توجه به اینکه نمونه گیری ما از عضله ۳ ساعت پس از فعالیت انجام گرفت شاید این نیز یکی از دلایل برای مشاهده چنین نتایجی باشد. علاوه بر این، رابطه نزدیکی بین فعالیت مسیر سیگنالی mTOR و ایجاد آسیب عضلانی در خلال فعالیت بدنی گزارش شده است (۱۸،۱۹). به نظر می رسد پروتکل تمرینی حاضر حتی با وجود انسداد جریان خون، نتوانسته آسیب عضلانی موثر برای تحریک و فسفوریلاسیون پروتئینهای mTOR و S6K را ایجاد کند.

افزایش حاد هورمون رشد (GH) بلافاصله پس از تمرین، باعث تحریک ترشح عوامل رشدی شبه انسولین (IGF) شده است که این امر سبب افزایش سنتز پروتئین و در نهایت هایپرتروفی عضلانی می شود (۲۰). نتایج مربوط به تغییرات سطح هورمون رشد نشان داد که سطح این هورمون تنها در گروه BFR افزایش یافته و همچنین، اختلاف معنی داری بین تغییرات دو گروه مشاهده شد. این نتیجه مطالعه حاضر با آنچه لونک و همکاران^۲ (۲۰۱۲) نشان دادند هم خوانی دارد (۲۱). این محققان گزارش کردند که تغییرات سطح هورمون رشد متعاقب فعالیت با BFR تا حد زیادی به شدت فعالیت بستگی دارد (۲۱). با توجه به عدم تغییر سطح هورمون رشد در گروه کنترل، به نظر میرسد پروتکل تمرینی حاضر از شدت کافی برای تغییر سطح هورمون رشد برخوردار نبوده است و تنها در صورت استفاده از انسداد جریان خون می تواند سطح این هورمون افزایش یابد. لونک و همکاران (۲۰۱۲) همچنین دریافته اند که تورم سلولی ناشی از BFR از طریق انباشت خون و متابولیت ها و پرخونی واکنشی سبب افزایش سازگاری های ناشی از تمرین از جمله افزایش سطح هورمون رشد و رشد عضلات می شود (۵) که این موضوع احتمالاً مربوط به فراخوانی بیشتر و سریع تر تارهای عضلانی تند انقباض هنگام استفاده از انسداد جریان خون می باشد (۱۰). علاوه بر این، گزارش شده است که تجمع محصولات جانبی متابولیکی توسط عضله فعال سبب تحریک ترشح هورمون رشد می شود که این موضوع به دلیل هایپوکسی ایجاد شده در هنگام فعالیت همراه با BFR بیشتر است (۲۲). از این رو، افزایش سطح هورمون رشد تنها در گروه تمرین همراه با BFR قابل توجیه است. نتایج مطالعه حاضر با آنچه سایر محققان مبنی بر افزایش سطح GH متعاقب تمرینات BFR گزارش کردند نیز هم خوانی دارد (۲۳).

نتایج مربوط به تغییرات سطح لاکتات تغییر معنی داری را در دو گروه نشان نداد. پاسخ لاکتات به عوامل بسیاری از قبیل درصد تارهای کندانقباض، تراکم مویرگی، ظرفیت اکسایشی و همچنین، سطح آنزیم های گلیکولیتیک بستگی دارد. علاوه بر این، پاسخ لاکتات به فعالیت به طور قابل توجهی به شدت فعالیت بستگی دارد و در صورت کافی نبودن شدت فعالیت افزایش معنی دار سطح لاکتات مشاهده نمی شود (۲۴). از سوی دیگر، عدم افزایش معنی دار سطح لاکتات ممکن است مربوط به پاکسازی همزمان لاکتات تجمع یافته و برداشت آن توسط اندام هایی از قبیل کبد و قلب باشد (۲۵). در

1. Wernbom et al

2. Loenneke et al

3. Conceição et al

21. Loenneke J P, Thrower A D, Balapur A, Barnes J T, Pujol T J. Blood flow-restricted walking does not result in an accumulation of metabolites. *Clinical physiology and functional imaging*. 2012; 32(1): 80-82.
22. Manini TM, Yarrow JF, Buford TW, Clark BC, Conover CF, Borst SE. Growth hormone responses to acute resistance exercise with vascular restriction in young and old men. *Growth Hormone & IGF Research*. 2012;22(5):167-72.
23. Madarame H, Neya M, Ochi E, Nakazato K, Sato Y, Ishii N. Cross-transfer effects of resistance training with blood flow restriction. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2008;40(2):258-63.
24. Graham TE. Mechanisms of blood lactate increase during exercise. *Physiologist*. 1984;27(4):299-303.
25. Stallknecht B, Vissing J, Galbo H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1998;8(3):127-31
26. Conceição MS, Chacon-Mikahil MP, Telles GD, Libardi CA, Junior EM, Vechin FC, DE AA, Gáspari AF, Brum PC, Cavaglieri CR, Serag S. Attenuated PGC-1 α Isoforms following Endurance Exercise with Blood Flow Restriction. *Medicine and science in sports and exercise*. 2016; 48(9): 1699-707.
27. Takano H, Morita T, Iida H, Asada KI, Kato M, Uno K, Hirose K, Matsumoto A, Takenaka K, Hirata Y, Eto F. Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. *European journal of applied physiology*. 2005 1;95(1):65-73.
- exercise with vascular restriction in young and old men. *Growth Hormone & IGF Research*. 2012;22(5):167-72.
23. Madarame H, Neya M, Ochi E, Nakazato K, Sato Y, Ishii N. Cross-transfer effects of resistance training with blood flow restriction. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2008;40(2):258-63.
24. Graham TE. Mechanisms of blood lactate increase during exercise. *Physiologist*. 1984;27(4):299-303.
25. Stallknecht B, Vissing J, Galbo H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1998;8(3):127-31
26. Conceição MS, Chacon-Mikahil MP, Telles GD, Libardi CA, Junior EM, Vechin FC, DE AA, Gáspari AF, Brum PC, Cavaglieri CR, Serag S. Attenuated PGC-1 α Isoforms following Endurance Exercise with Blood Flow Restriction. *Medicine and science in sports and exercise*. 2016; 48(9): 1699-707.
27. Takano H, Morita T, Iida H, Asada KI, Kato M, Uno K, Hirose K, Matsumoto A, Takenaka K, Hirata Y, Eto F. Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. *European journal of applied physiology*. 2005 1;95(1):65-73.
- protein synthesis in older men. *J Appl Physiol*. 2010; 108: 1199–1209,
8. Gundermann DM, Fry CS, Dickinson JM, Walker DK, Timmerman KL, Drummond MJ, Volpi E, Rasmussen BB. Reactive hyperemia is not responsible for stimulating muscle protein synthesis following blood flow restriction exercise. *J Appl Physiol*. 2012; 112: 1520–1528.
9. Abe T, Sakamaki M, Fujita S, Ozaki H, Sugaya M, Sato Y, Nakajima T. Effects of low-intensity walk training with restricted leg blood flow on muscle strength and aerobic capacity in older adults. *Journal of geriatric physical therapy*. 2010; 33(1): 34-40.
10. Pope ZK, Willardson JM, Schoenfeld BJ. Exercise and blood flow restriction. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2013; 1;27(10):2914-26.
11. Ozaki H, Kakigi R, Kobayashi H, Loenneke JP, Abe T, Naito H. Effects of walking combined with restricted leg blood flow on m TOR and MAPK signalling in young men. *Acta Physiologica*. 2014;211(1):97-106.
12. Nes BM, Janszky I, Wisløff U, Støylen A, Karlsen T. Age-predicted maximal heart rate in healthy subjects: The HUNT Fitness Study. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2013;23(6):697-704.
13. Uth N, Sørensen H, Overgaard K, Pedersen P K . Estimation of VO₂max from the ratio between HRmax and HRrest—the heart rate ratio method. *European journal of applied physiology*. 2004; 91(1): 111-115.
14. Hakkinen K, Pakarinen A, Alen M, Kauhanen H, Komi PV. Neuromuscular and hormonal adaptations in athletes to strength training in two years. *Journal of applied physiology*. 1988 1;65(6):2406-12.
15. Li X, Monks B, Ge Q, Birnbaum MJ. Akt/PKB regulates hepatic metabolism by directly inhibiting PGC-1 α transcription coactivator. *Nature*. 2007;447(7147):1012.
16. Liu L, Cash TP, Jones RG, Keith B, Thompson CB, Simon MC. Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth. *Molecular cell*. 2006 17;21(4):521-31.
17. Arsham AM, Howell JJ, Simon MC. A novel hypoxia-inducible factor-independent hypoxic response regulating mammalian target of rapamycin and its targets. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 Aug 8;278(32):29655-60.
18. Wernbom M, Apro W, Paulsen G, Nilsen TS, Blomstrand E, Raastad T. Acute low-load resistance exercise with and without blood flow restriction increased protein signalling and number of satellite cells in human skeletal muscle. *European journal of applied physiology*. 2013 1;113(12):2953-65.
19. Baar K, Esser K. Phosphorylation of p70S6 correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1999;276(1):C120-C7.
20. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports medicine*. 2005;35(4):339-61. 1;95(1):65-73.