

تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر پاسخ به میزان MuRF1 و P70S6K عضلانی قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل HMB در مردان غیر فعال

سیدمصطفی موسوی مظفر^۱، مریم نورشاهی^۲، علی اکبر نژاد^۳

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی (نویسنده مسئول)

۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۰۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱

چکیده

مصرف مکمل HMB به همراه انجام تمرین‌های مقاومتی به دلیل حفظ توده عضلانی، در بین ورزشکاران بسیار استفاده می‌شود؛ با وجود این، در زمینه مسیر تأثیر این مکمل بر افزایش فاکتورهای هایپر تروفی و کاهش فاکتورهای آتروفی نتایج متناقضی مشاهده می‌شود؛ بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر مصرف مکمل HMB و تمرین مقاومتی بر پاسخ به میزان MuRF1 و P70S6K عضلانی در مردان غیر فعال بود. بدین منظور، ۴۰ مرد غیر فعال با شاخص توده بدنی 21.2 ± 1 کیلوگرم بر مترمربع و سن 25.5 ± 5 سال به چهار گروه تمرین، تمرین + مصرف HMB، مصرف HMB و کنترل تقسیم شدند. آزمودنی‌ها چهار روز در هفته و به مدت شش هفته تمرین‌های بدن‌سازی را (سه ست / ۸-۱۲ تکرار / ۷۵ درصد تا ۸۰ درصد 1RM) انجام دادند. گروه کنترل در این مدت هیچ تمرینی انجام ندادند. بیوپسی عضله پهن خارجی و مقادیر یک تکرار بیشینه از هر آزمودنی، یک جلسه قبل و بعد از یک دوره تمرین و مصرف مکمل انجام شد. نتایج آزمون آنوای یک طرفه نشان داد که تفاوت معناداری ($P = 0.001$) بین افزایش یک تکرار بیشینه در قبل و بعد از شش هفته تمرین در حرکت پرس پا بود. همچنین، نتایج آزمون تحلیل واریانس مکرر با عامل بین‌گروهی نشان داد که افزایش معناداری ($P = 0.001$) در مقادیر P70S6K بین گروه‌های تمرین، تمرین + مصرف HMB، مصرف HMB با گروه کنترل وجود داشت؛ هرچند این تفاوت در مقادیر MuRF1 معنادار نبود ($P = 0.22$)؛ بنابراین، مصرف مکمل HMB در طول تمرین موجب افزایش پاسخ P70S6K به عنوان شاخص هایپر تروفی و افزایش در قدرت پرس پا بعد از شش هفته می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، مکمل بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات، P70S6K، MuRF1.

1. Email: S.koneshlou@yahoo.com

2. Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir

3. Email: aakabarnejad@ut.ac.ir

مقدمه

به حداکثر رساندن توده عضلانی با هدف افزایش قدرت، توان و کارایی حرکتی یکی از اهداف اصلی ورزشکاران در سطوح متفاوت ورزشی است (۱، ۲). هایپرتروفی عضلانی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و مسیرهای سیگنالی متفاوت سلولی است. در سال‌های اخیر تلاش زیادی برای روشن شدن مکانیسم‌های سلولی و مولکولی هایپرتروفی و آتروفی عضلانی ناشی از تمرین مقاومتی شده است؛ با وجود این، به دلیل الگوهای متفاوت تمرین مقاومتی و همسو با آن، کشف و استفاده از مکمل‌های ورزشی گوناگون، انجام دادن پژوهش‌های نوین در راستای بررسی بیشترین اثربخشی پروتکل‌های تمرینی به همراه مصرف مکمل‌ها همچنان ادامه دارد (۳، ۴). یکی از مکمل‌هایی که امروزه توجه بسیاری به آن شده است، مکمل بتا‌هیدروکسی بتا متیل بوتیرات^۱ (HMB) است (۵، ۶).

HMB متابولیت اسیدآمینه کتوژنیک لوسین است و در بدن از متابولیسم اسیدآمینه ضروری لوسین (۳/۴-۰/۰ گرم در روز) تولید می‌شود (۷). در شرایط نرمال تقریباً پنج درصد از لوسین به HMB تبدیل می‌شود؛ بنابراین، به نظر می‌رسد بدن به تأمین آن به صورت مکمل HMB احتیاج داشته باشد (۸)؛ به طوری که در پژوهش‌های بسیاری تأثیر مکمل HMB بر عملکرد نشان داده شده است (۱۰، ۹). مکانیسم اثر HMB به همراه تمرین‌های مقاومتی در قالب دو مسیر اصلی طراحی می‌شود (۱۱، ۵): مسیر اول مکانیسم تأثیر HMB به واسطه P70s6k است. P70s6k یک پروتئین کیناز از خانواده سرین/ ترئونین کیناز است که توسط ژن RPS6KB1 کدگذاری می‌شود (۱۲). این پروتئین در حلقه پایانی مسیر فسفواینوزیتول تری کیناز، Akt و mTOR² قرار می‌گیرد و به عنوان فاکتور اصلی در سنتز پروتئین معرفی می‌شود؛ به طوری که محرک‌هایی همچون کشش مکانیکی (اینترگرین و فعالیت ناحیه چسبنده) و تحریک به واسطه هورمون‌ها (انسولین، IGF و MGF) موجب فعال شدن این مسیر می‌شود و در نهایت سنتز پروتئین می‌گردد (۱۳، ۱۲)؛ مسیر دوم مکانیسم تأثیر HMB، کاهش تجزیه پروتئین از طریق ممانعت از فعالیت یوبی کوئیتین/ MuRF13 است (۱۴، ۵).

MuRF1 برای اولین بار در سال ۲۰۰۱ به عنوان پروتئین انگشت حلقوی ویژه عضلانی چسبده به دامنه کینازی پروتئین بزرگ سارکومری تیتین معرفی شد (۱۵). این آنزیم از خانواده لیگازهای یوبی کوئیتین^۴ است. تا کنون بیش از ۵۰ نوع لیگاز شناخته شده است که در این بین MuRF1 به دلیل تأثیر بر تخریب پروتئین‌های ساختاری و انقباضی بسیار اهمیت دارد؛ به طوری که آن را مهم‌ترین آنزیم یوبی کوئیتین می‌نامند (۱۶). و با توجه به نقش مهم آن در آتروفی عضلانی، پژوهش‌های بسیاری در

1. Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate
2. Mammalian Target of Rapamycin
3. Muscle RING-Finger Protein-1
4. Ubiquitin

زمینه مصرف مکمل‌های ورزشی، با هدف کاهش این پروتئین و حفظ توده عضلانی انجام گرفته است که یکی از این مکمل‌ها HMB است (۱۷).
 در این راستا، کائو^۱ و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که مصرف اگزوزن مکمل HMB بدون انجام فعالیت بدنی به افزایش پروتئین‌های ساختاری عضله به وسیله تحریک سنتز پروتئین (p70s6k) و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای منجر می‌شود. در این پژوهش مقادیر MuRF1 در گروه مکمل HMB نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد. از طرفی، نوک^۲ و همکاران (۱۷) در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که مقادیر MuRF1 با مصرف مکمل HMB کاهش می‌یابد؛ بنابراین، با توجه به وجود نتایج ضدونقیض در زمینه تأثیر مکمل HMB بر کاهش آتروفی و افزایش هایپرتروفی، انجام پژوهش‌ها در این زمینه همچنان ادامه دارد.

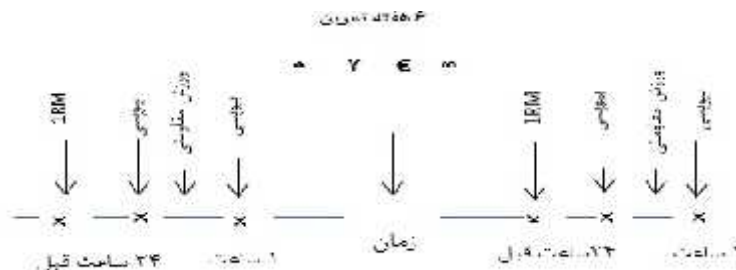
امروزه گرایش به انجام تمرین‌های مقاومتی و مصرف مکمل‌های ورزشی افزایش یافته است. مکمل‌های ورزشی با هدف افزایش کارایی و کسب بهترین نتیجه در کنار تمرین‌های مقاومتی مصرف می‌شوند و موجب افزایش پاسخ به سازگاری‌های تمرین می‌شوند. با توجه به اینکه مکمل HMB متابولیت اسید آمینه لوسین است و سرعت جذب آن بسیار سریع‌تر از اسید آمینه‌های دیگر است، فرض پژوهشگر مطالعه حاضر این است که این مکمل بتواند اثرهای ناشی از تخریب عضلانی و افزایش پروتئین‌هایی همچون MuRF1 و نیز تحریک سریع‌تر مسیر هایپرتروفی با افزایش پروتئین P70S6K را در پی پاسخ به سازگاری ناشی از مصرف شش هفته مکمل HMB و تمرین مقاومتی را بهبود بخشد. از طرفی، الگوی تمرینی پژوهش حاضر که از الگوهای رایج برنامه مقاومتی است، در کنار مصرف این مکمل بررسی نشده است؛ بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر پاسخ به میزان MuRF1 و P70S6K عضلانی قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل HMB در مردان غیرفعال بود.

روش پژوهش

در این پژوهش ۴۰ مرد با شاخص توده بدنی (21.2 ± 1) کیلوگرم بر مترمربع) و سن (25.5 ± 5) سال) داوطلبانه انتخاب شدند. آزمودنی‌ها به‌طور مساوی به چهار گروه (تمرین به‌همراه مصرف مکمل، تمرین، مکمل و دارونما تقسیم شدند. سپس آزمودنی‌ها در جلسه توجیهی شرکت کردند و پرسش‌نامه سلامت و رضایت‌نامه را تکمیل کردند. ۲۴ ساعت قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی مقدار 1RM با آزمون پرس پا تعیین شد. شرایط اجرای آزمون پرس پا و سنجش 1RM مشابه مطالعه اسدی و

1. kao
2. Nohkk

همکاران بود (۲۰، ۱۹). سپس، سایر مراحل پژوهش مطابق شکل شماره یک و با کد اخلاق IR.SSRI.REC.1397.280 که از پژوهشگاه دریافت شد، انجام شد.



شکل ۱- طرح تحقیق، گروه کنترل = ؛ ، گروه تمرین = *، گروه تمرین + کمپل = € و گروه کمپل =

برای بررسی پاسخ به تمرین مقاومتی، آزمودنی‌ها قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی به انجام پروتکل ورزش مقاومتی پرداختند. این پروتکل شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن روی تردمیل و حرکات کششی و سپس اجرای حرکات (پرس سینه، پرس سرشانه، جلو بازو لاری دستگاه، ددلیفت، زیر بغل سیم‌کش، قایقی سیم‌کش، ساق ایستاده، اسکات، لانگز و شکم خوابیده) بود. هر حرکت در سه ست و تکرار در هر ست (هشت تا ۱۰) با شدت ۷۰ درصد تا ۸۰ درصد IRM انجام شد. فاصله استراحت بین هر حرکت یک دقیقه بود. پس از پایان ورزش، آزمودنی‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سرد کردند. مدت زمان انجام پروتکل ورزش مقاومتی یک ساعت بود (۲۱).

شش هفته پروتکل تمرین مقاومتی در قالب دو برنامه تدوین شد (۲۲، ۲۳). آزمودنی‌ها چهار روز در هفته و به صورت یک روز در میان برنامه‌ها را انجام دادند. برای اصل تنوع تمرین و نیز کسب مزایا، تمرین‌های فول‌بادی، طراحی تمرین در قالب دو برنامه تدوین شد. برنامه تمرین‌های فول‌بادی شامل تمرین در بالاتنه و پایین‌تنه بود که به دلیل ایجاد بالانس تمرینی بدین صورت تدوین شد. برنامه اول شامل حرکات پرس پا، جلو پا، پشت پا نشسته، ددلیفت، سرشانه دستگاه، جلو بازو هالتر و فیله کمر و برنامه دوم شامل حرکات پرس سینه، بالاسینه، زیر بغل سیم‌کش، زیر بغل دستگاه اچ، پشت بازو هالتر خوابیده، پشت بازو سیم‌کش و شکم سیم‌کش بود. انجام هر حرکت در سه ست و هر ست هشت تا ۱۲ تکرار با شدت ۷۵ درصد تا ۸۰ درصد IRM انجام شد (۲۲، ۲۳). طبق اصل تنوع تمرینی و برای ایجاد بالانس در تمرین‌های مقاومتی، تمرین‌های بالاتنه نیز در پژوهش لحاظ شده‌اند (۲۴). مشابه با پژوهش‌های پیشین، با وجود انجام تمرین‌های فول‌بادی (بالاتنه و پایین‌تنه) برای بررسی تغییرات، تنها بیوپسی از عضله پهن خارجی انجام شد (۲۵)؛ بیوپسی عضله پهن جانبی از پا گرفته

شده است، اما پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که تمرین در هر قسمت از بدن به دلیل تأثیر بر هورمون‌های رشدی و گیرنده‌های آن در قسمت‌های متفاوت بدن، بر هایپرتروفی مؤثر است (۲۶). دوز مجاز مصرف HMB که توسط سازمان غذا و دارو تأیید شده است، بین سه تا شش گرم در روز است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بین دوز مصرفی شش و سه گرم تفاوت معناداری وجود ندارد؛ بنابراین، در این پژوهش، برای هر آزمودنی مصرف HMB (HMB نام تجاری کلیر ماسل^۱)، کمپانی ماسل تک، ساخت آمریکا، کد محصول ۰۰۰۰۸۵۳۲۵۰) به مقدار سه گرم تعیین شد (۲۷، ۲۸). چهار مرحله در قبل و بعد از شش هفته تمرین نمونه عضلانی به روش بیوپسی سوزنی از عضله پهن جانبی گرفته شد. نمونه عضلانی به وسیله سوزن تمام اتوماتیک مداکس ساخت کشور ایتالیا به صورت عمقی توسط پزشک جراح انجام شد. محل نمونه برداری تقریباً در فاصله ۱۵ سانتی متری بالای کشکک بود و بعد از انجام بیوپسی نمونه‌ها به سرعت در داخل تیوب گذاشته شدند و در داخل نیتروژن مایع برای آزمایش‌های بعدی قرار داده شدند.

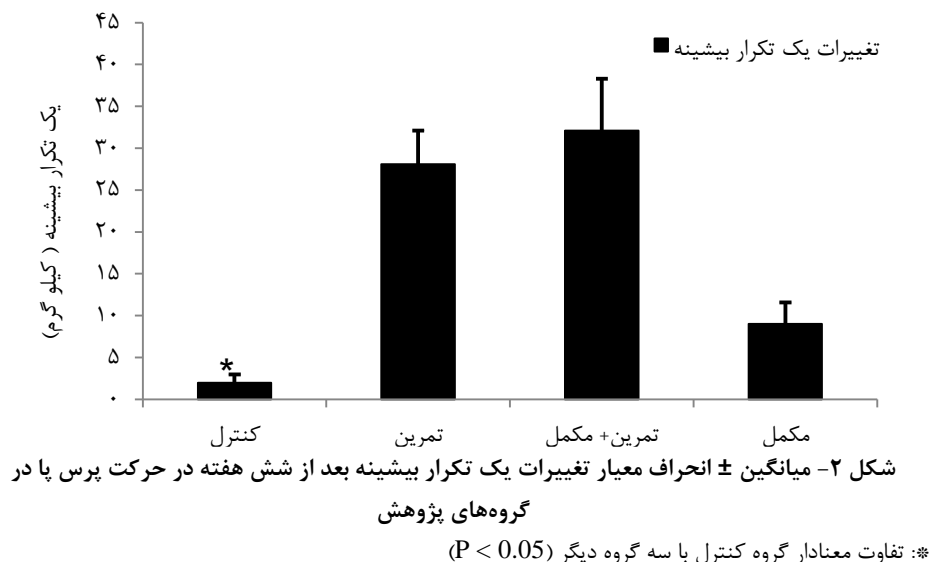
مقادیر P70S6K توسط آنتی‌بادی^۲ p70s6k (s6k1) انسانی کمپانی آمریکایی ابکم با کد ۵۲۳۱ و مقادیر MuRF1 توسط آنتی‌بادی^۳ MuRF1 انسانی کمپانی آمریکایی ابکم با کد ۹۶۸۵۷ با استفاده از روش وسترن بلات سنجش شد. بدین منظور، ابتدا بافت عضلانی در بافر لیزکننده^۴ RIPA ساخت کمپانی بیوتکنولوژی سانتا کروز کشور آمریکا به مدت ۶۰ ثانیه در هموژنایزر با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه هموزن شد. سپس، بافت‌های هموزن شده با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و مایع رویی (سوپرناتانت) که حاوی پروتئین‌های بافتی بود، در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آن غلظت پروتئین‌های موجود در آن با استفاده از کیت BCA^۵ ساخت کشور آمریکا تعیین شد. در ادامه ۵۰ میکروگرم از عصاره پروتئین در ژل آکریل امید ۱۰ درصد قرار داده شد و توسط کاغذ SDS در ۲۰۰۷ برای دو ساعت جدا شد. پس از آنکوباسیون ژل‌ها در بافر انتقال‌دهنده برای مدت ۳۰ دقیقه، پروتئین‌ها به غشای PVDF با استفاده از جریان ثابت ۳۰۰ میلی‌آمپری برای مدت سه ساعت، روی یخ در اتاقی سرد در دمای چهار درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. سپس، کاغذ در محلول بلاکینگ^۶ حاوی پنج درصد شیر خشک بدون چربی به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد، غشا با آنتی‌بادی اولیه بتا‌اکتین به مدت یک ساعت آنکوبه شد. پس از چهار بار شست‌وشوی پنج دقیقه‌ای بافر TBST، غشا

1. Clear Muscle
2. Rabbi Anti Human p70s6k (s6k1) (Phospho T229) ab (ab 5231)
3. rabbit anti huma MuRF1 ab (ab 96857)
4. (RIPA lysis buffer) (Biotechnology Santa Cruz) (USA, California)
5. BCA (Thermo, Pierce, USA)
6. (Tris-Buffered Saline; 10 mM Tris pH 7.6, 100 mM NaCl -TBS-)

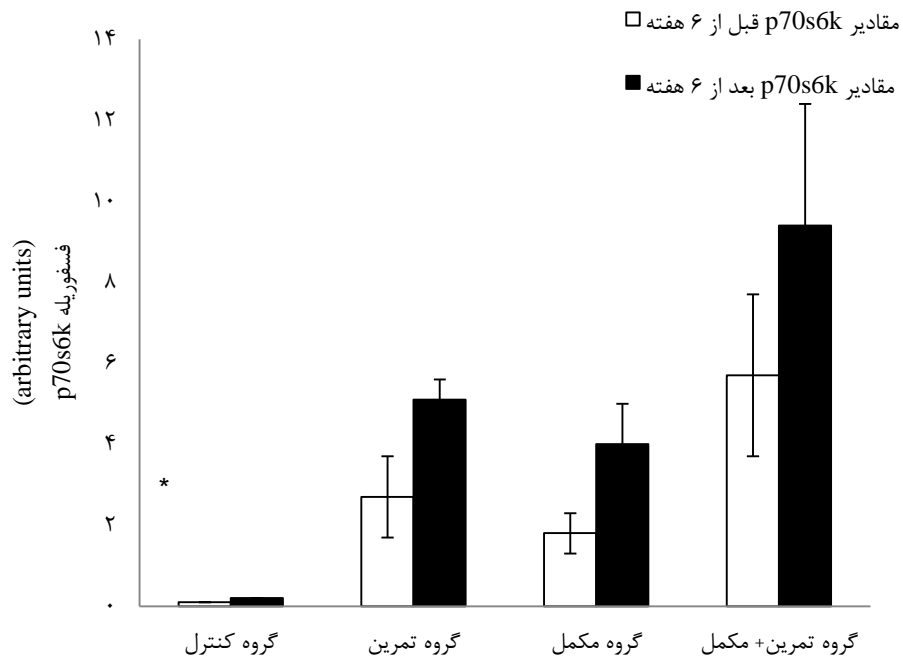
به مدت یک ساعت با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با HRP انکوبه شد. سپس، چهار بار شست‌وشوی پنج دقیقه‌ای انجام شد و غشا با سوبسترای کمی لومینوسانس ECL به مدت یک تا دو دقیقه انکوبه شد و پس از آن با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شد و در نهایت، باندها توسط برنامه ایمجی^۱ نسخه ۱/۴ باندهای به دست آمد.

نتایج

نتایج آزمون آنوای یک طرفه نشان داد که تفاوت معناداری ($F_{(39)} = 128.7, P = 0.001$) بین تغییرات یک تکرار بیشینه حرکت پرس پا در گروه‌های پژوهش در قبل از تمرین (کنترل 20 ± 185 ، تمرین 21 ± 183 ، تمرین + مکمل 20 ± 184 و مکمل 21 ± 185) و بعد از تمرین (کنترل 21 ± 187 ، تمرین 26 ± 211 ، تمرین + مکمل 27 ± 216 و مکمل 23 ± 193) وجود دارد. برای تعیین محل معناداری از آزمون تعقیبی بانرونی استفاده شد. نتیجه این آزمون نشان داد که بین تغییرات یک تکرار بیشینه حرکت پرس پا در بعد نسبت به قبل از شش هفته تفاوت معناداری بین گروه کنترل با گروه‌های تمرین ($P = 0.001$)، تمرین + مکمل ($P = 0.001$) و مکمل ($P = 0.008$) وجود دارد. همچنین، تفاوت معناداری بین گروه مکمل با گروه تمرین ($P = 0.009$) و تمرین + مکمل ($P = 0.02$) وجود دارد (شکل شماره دو).



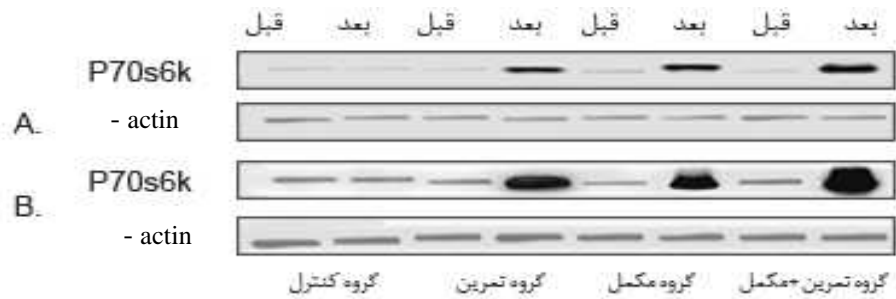
همچنین، تعامل زمان‌های اندازه‌گیری در گروه‌های پژوهش با استفاده از آزمون تحلیل واریانس مکرر با عامل بین‌گروهی تفاوت معناداری را ($F_{(1,36)} = 66.5, P = 0.001$) در مقادیر p70s6k نشان داد. بررسی نتایج با استفاده از آزمون تعقیبی بانفرونی تفاوت معنی‌داری را بین گروه کنترل با گروه‌های تمرین ($P = 0.016$)، تمرین + مکمل ($P = 0.001$) و مکمل ($P = 0.012$) نشان داد. آزمون تعقیبی بانفرونی نیز نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه تمرین + مکمل با گروه‌های مکمل ($P = 0.033$) و تمرین ($P = 0.021$) وجود دارد؛ درحالی‌که این تفاوت بین گروه‌های تمرین و مکمل وجود ندارد ($P = 0.59$) در شکل‌های شماره سه و شماره چهار، تصاویر مقادیر P70S6K مربوط به هر چهار گروه در قبل و بعد از شش هفته تمرین نشان داده شده است.



شکل ۳- میانگین \pm انحراف معیار تغییرات مقادیر p70s6k فسفوریله قبل و بعد از شش هفته در گروه‌های

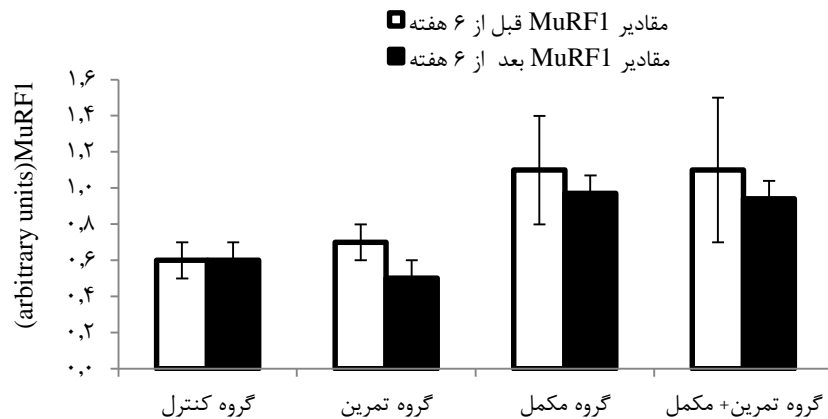
پژوهش

*: تفاوت معنادار بین هر چهار گروه با یکدیگر ($P < 0.05$)



شکل ۴- A: ورزش مقاومتی قبل از شش هفته و مقایسهٔ مقادیر p70s6k قبل و بعد از ورزش
 B: ورزش مقاومتی بعد از شش هفته و مقایسهٔ مقادیر p70s6k قبل و بعد از ورزش در هر چهار گروه

افزون‌براین، تعامل زمان‌های اندازه‌گیری در گروه‌های پژوهش با استفاده از آزمون تحلیل واریانس مکرر با عامل بین‌گروهی تفاوت معناداری را ($F_{(1,36)} = 1.55, P = 0.221$) در مقادیر MuRF1 نشان نداد (شکل شمارهٔ پنج). تصویر مربوط به باندها در شکل شمارهٔ شش نشان داده شده است.



شکل ۵- میانگین \pm انحراف معیار تغییرات مقادیر MuRF1 قبل و بعد از شش هفته در گروه‌های پژوهش
 **: تفاوت معنادار بین هر چهار گروه با یکدیگر ($P < 0.05$)



شکل ۶- A: ورزش مقاومتی قبل از شش هفته و مقایسه مقادیر MuRF1 قبل و بعد از ورزش
 B: ورزش مقاومتی بعد از شش هفته و مقایسه مقادیر MuRF1 قبل و بعد از ورزش در هر چهار گروه

بحث و نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف مکمل HMB و شش هفته تمرین مقاومتی با افزایش پروتئین P70S6K در مردان غیرفعال همراه است. در هر سه گروه تمرین مقاومتی به همراه مصرف مکمل HMB، تمرین مقاومتی به تنهایی و مکمل HMB تفاوت معناداری را در مقدار P70S6K با گروه کنترل مشاهده شد.

مشابه با پژوهش حاضر، کاروج^۱ و همکاران (۲۹) در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که تمرین مقاومتی موجب افزایش مقادیر P70S6K می شود؛ به طوری که مقدار آن ۴۲ درصد بعد از تمرین افزایش پیدا می کند. همچنین، کائو^۲ و همکاران (۱۸) در پژوهش خود نشان دادند که HMB صرف نظر از تمرین موجب افزایش P70S6K می شود. از طرفی، برخلاف پژوهش حاضر، مونر^۳ و همکاران (۳۰) در سال ۲۰۱۷ در پژوهش خود نشان دادند که مصرف HMB بدون محرک های بیرونی مثل ورزش تأثیری بر افزایش پروتئین P70S6K در حالت پایه و فسفوریله در موش های پیر و جوان ندارد؛ با وجود این، نتایج پژوهش آن ها افزایش در قدرت را با مصرف مکمل HMB نشان داد و بیان کرد که احتمالاً HMB تأثیرات خود را از طریق تأثیر بر اعصاب محیطی اعمال می کند. این پژوهش روی موش های سالمند و جوان انجام گرفته بود و دوز مصرفی HMB نیز با پژوهش حاضر متفاوت بود؛ بنابراین، به نظر می رسد علت تفاوت بین پژوهش آن ها با پژوهش حاضر نوع آزمودنی و دوز مصرفی مکمل باشد. علاوه بر این، نتایج این پژوهش نشان داد که HMB همراه با ورزش و به تنهایی تأثیری بر کاهش مقدار MuRF1 ندارد. ناهمسو با پژوهش حاضر، کیونگ و همکاران (۱۷) نشان دادند که مقادیر MuRF1

1. Krug
 2. Kao
 3. Munroe

مصرف مکمل HMB کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد علت اصلی این تفاوت دوز مصرفی مکمل، نوع آزمودنی و الگوهای تمرینی باشد؛ به طوری که سو^۱ و همکاران (۳۱) در سال ۲۰۱۴ در بررسی پاسخ الگوهای متفاوت تمرین به فاکتورهای آتروفی بیان کردند که مقادیر MuRF1 و FOXO به شدت به نوع تمرین وابسته است. در پژوهش آن‌ها، گروه تمرین استقامتی و گروه تعلیق اندام، کاهش معناداری را در وزن عضله دوقلو و افزایش در بیان ژن‌های MuRF1 و FOXO نشان دادند؛ در حالی که در گروه تمرین اکسنتریک کاهشی در وزن عضله و تغییر در بیان ژن‌های MuRF1 و FOXO مشاهده نشد؛ بنابراین، احتمالاً شدت تمرین در پژوهش حاضر با توجه به اینکه آزمودنی‌ها غیرفعال بودند، برای تحریک فاکتور MuRF1 کافی نبوده است.

نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده است که HMB موجب تحریک مسیر سیگنالی mTOR می‌شود (۵، ۱۱). بر اساس نظریه گرلینگر-رومر^۲ و همکاران (۳۲)، HMB با تأثیر مستقیم خود بر مسیر AKT می‌تواند دو مسیر را فعال کند: مسیر اول افزایش سنتز پروتئین و بهبود متابولیسم عضلانی است و مسیر دوم افزایش فسفوریلاسیون FOXO است که باعث کاهش بیان Fbxo32 و Trim63- از عوامل مؤثر در آتروفی عضلانی- می‌شود. فعال شدن مسیر اول به واسطه تأثیر HMB بر افزایش p70S6K1 و فسفوریلاسیون 4EBP1 است که موجب افزایش در سنتز پروتئین می‌شود (۳۳). مطالعات نشان دادند که HMB از یک سو هایپرفسفوریلاسیون 4E-BP1³ را تسهیل می‌کند و در نتیجه، فاکتورهای شروع کننده هایپرتروفی فعال می‌شود. از طرف دیگر، این مکمل با مهار فعالیت PKR⁴ فسفوریلاسیون زیر واحد α ، eIF را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه، P70S6K فعال می‌شود و سنتز پروتئین و به دنبال آن، هایپرتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد (۳۴، ۳۵). از طرفی، مصرف مکمل HMB بدون فعالیت بدنی به افزایش پروتئین‌های ساختاری عضله به وسیله تحریک سنتز پروتئین (p70s6k) و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای منجر می‌شود (۳۶، ۱۸). با توجه به رابطه مستقیم بین هایپرتروفی و افزایش پروتئین‌های ریبوزومی و P70s6k، افزایش این پروتئین می‌تواند یکی از فاکتورهای شروع هایپرتروفی باشد (۳۷). همچنین، نتایج پژوهش نشان داد که مصرف شش هفته مکمل HMB با و بدون تمرین موجب افزایش در میانگین IRM در پرس پا می‌شود. در این راستا، اسدی و همکاران (۳۸) در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که مصرف مکمل HMB موجب افزایش در قدرت، پرس عمودی و پرس پا می‌شود. مصرف مکمل HMB از یک سو با افزایش بیشتر در مقادیر هورمون‌های GH و IGF1 نسبت به تمرین‌های مقاومتی به تنهایی همراه است (۳۸) و از سوی دیگر موجب افزایش سطح مقطع در تارهای عضلانی می‌شود که

1. Su
2. Gerlinger-Romero
3. Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E-Binding Protein 1
4. Double Strand RNA-Dependent Protein Kinase

احتمالاً به واسطه افزایش فاکتورهای هایپرتروفی است. بنابراین، به نظر می‌رسد که مصرف مکمل HMB صرف نظر از انجام تمرین‌های مقاومتی می‌تواند موجب افزایش قدرت شود (۳۹). از طرفی، مصرف مکمل HMB در طول تمرین موجب جلوگیری از افزایش بیش از حد کراتین کیناز در سرم می‌شود و نیز موجب کاهش شاخص‌های آسیب عضلانی در حین تمرین می‌شود؛ به طوری که ویلسون^۱ و همکاران (۴۰) در تمرین‌های مقاومتی با شدت زیاد، افزایش مقادیر کراتین کیناز را در گروه پلاسیبو (۳۲۹ درصد) و در گروه مصرف مکمل HMB (۱۰۴ درصد) نشان دادند که به نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش در قدرت عضلانی صرف نظر از انجام تمرین مقاومتی است. ناهمسو با پژوهش حاضر، شانچز-مارتینز^۲ و همکاران (۴۱) در سال ۲۰۱۷ در مقاله مروری خود نشان دادند که مصرف مکمل HMB تأثیر معناداری بر قدرت و ترکیب بدن ندارد. آن‌ها در پژوهش خود از آزمودنی‌های تمرین کرده ورزشکاران حرفه‌ای استفاده کرده بودند. همچنین، دوز مصرفی مکمل HMB، کنترل‌های تغذیه‌ای، مدت و شدت تمرین نیز متفاوت بود.

امروزه گرایش به انجام تمرین‌های مقاومتی و مصرف مکمل‌های ورزش افزایش یافته است. مکمل‌های ورزشی با هدف افزایش کارایی و کسب بهترین نتیجه در کنار تمرین‌های مقاومتی مصرف می‌شوند و موجب افزایش سازگاری‌های تمرین می‌شوند. سازگاری و پاسخ به تمرین مقاومتی در راستای کسب هایپرتروفی، از یک سو به دلیل افزایش ترشح هورمون‌هایی همچون هورمون رشد، کاتکولامین، MGF، IGF و تستوسترون است و از سوی دیگر به دلیل ایجاد ریزآسیب‌های عضلانی است. این تغییرات در پاسخ به تمرین، موجب تحریک مسیر هایپرتروفی mTOR و در نهایت سنتز پروتئین می‌شود. از طرفی، فعال شدن مسیر mTOR به شدت به دردسترس قرارگرفتن سیدآمینئ لوسین وابسته است. لوسین توسط آنزیم KLC³ دی اکسی ژناز به KLC تبدیل می‌شود. KLC در سیتوزل توسط آنزیم آلفا کتوایزوکاپورات داکسیژناز به HMB تبدیل می‌شود. HMB متابولیت لوسین است که به صورت مستقیم موجب تحریک مسیر سیگنالی mTOR می‌شود.

پیام مقاله: با توجه به افزایش پروتئین S6K در گروه تمرین مقاومتی به همراه مکمل HMB، به نظر می‌رسد این مکمل بتواند در کنار این الگوی تمرین نقش مهمی در سنتز پروتئین کلیدی هایپرتروفی و همچنین افزایش قدرت عضلانی داشته باشد. با توجه به محدودیت این پژوهش برای اندازه‌گیری سایر پروتئین‌های مسیر هایپرتروفی و مسیر آتروفی به دلیل وجود محدودیت مالی، پیشنهاد می‌شود سایر پروتئین‌های مهم در این مسیرهای سیگنالی برای گزارش قوی‌تر در این زمینه سنجیده شوند.

-
1. Wilson
 2. Sanchez-Martinez
 3. A_Ketosiscaproat

همچنین، با توجه به نتایج پژوهش پیشنهاد می‌شود برای بررسی دقیق‌تر در دو گروه ورزشکار مقاومتی در فازهای متفاوت تمرین، با توجه به کنترل‌های تغذیه‌ای این فاکتورها سنجیده شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله از رساله مقطع دکتری در دانشگاه شهید بهشتی برگرفته شده است. بدین وسیله از پژوهشگاه دغد و متابولیسم ایران و همهٔ آزمودنی‌هایی که برای انجام‌دادن بیوپسی با اینجانب همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی فراوان می‌کنم.

منابع

1. Spinetti J, de Salles BF, Rhea MR, Lavigne D, Matta T, Miranda F, et al. Influence of exercise order on maximum strength and muscle volume in nonlinear periodized resistance training. *Journal of strength and conditioning research/National Strength & Conditioning Association*. 2010;24(11):2962-9.
2. Paulo CA, Roschel H, Ugrinowitsch C, Kobal R, Tricoli V. Influence of different resistance exercise loading schemes on mechanical power output in work to rest ratio-equitated and-nonequitated conditions. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2012;26(5):1308-12.
3. Damas F, Phillips S, Vechin FC, Ugrinowitsch C. A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Medicine*. 2015;45(6):701-8.
4. Cheema BS, Chan D, Fahey P, Atlantis E. Effect of progressive resistance training on measures of skeletal muscle hypertrophy, muscular strength and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*. 2014;44(8):1125-38.
5. Wu H, Xia Y, Jiang J, Du H, Guo X, Liu X, et al. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2015;61(2):168-75.
6. Molfino A, Gioia G, Rossi Fanelli F, Muscaritoli M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in health and disease: A systematic review of randomized trials. *Amino Acids*. 2013;45(6):1273-92.
7. Fitschen PJ, Wilson GJ, Wilson JM, Wilund KR. Efficacy of -hydroxy- -methylbutyrate supplementation in elderly and clinical populations. *Nutrition*. 2013 Jan 1;29(1):29-36.
8. 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 Dec;5(1):1-7.
9. Portal S, Zadik Z, Rabinowitz J, Pilz-Burstein R, Adler-Portal D, Meckel Y, et al. The effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal and inflammatory mediators in elite adolescent volleyball players: a prospective

- randomized, double-blind, placebo-controlled study. *European journal of applied physiology*. 2011;111(9):2261-9.
10. Pinheiro CH, Gerlinger-Romero F, Guimaraes-Ferreira L, de Souza-Jr AL, Vitzel KF, Nachbar RT, et al. Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *European journal of applied physiology*. 2012;112(7):2531-7.
 11. Zanchi NE, Gerlinger-Romero F, Guimaraes-Ferreira L, de Siqueira Filho MA, Felitti V, Lira FS, et al. HMB supplementation: clinical and athletic performance-related effects and mechanisms of action. *Amino Acids*. 2011;40(4):1015-25.
 12. Sunami T, Byrne N, Diehl RE, Funabashi K, Hall DL, Ikuta M, et al. Structural basis of human p70 ribosomal S6 kinase-1 regulation by activation loop phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(7):4587-94.
 13. Basualto-Alarcon 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.
 14. Durkalec-Michalski K, Jeszka J. The efficacy of a -hydroxy- -methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: a randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2015 Dec 1;12(1):31.
 15. Centner T, Yano J, Kimura E, McElhinny AS, Pelin K, Witt CC, et al. Identification of muscle specific ring finger proteins as potential regulators of the titin kinase domain. *Journal of Molecular Biology*. 2001;306(4):717-26.
 16. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 2014;307(6):469-84.
 17. Noh KK, Chung KW, Choi YJ, Park MH, Jang EJ, Park CH, et al. Beta-hydroxy beta-methylbutyrate improves dexamethasone-induced muscle atrophy by modulating the muscle degradation pathway in SD rat. *PloS one*. 2014;9(7):102947.
 18. Kao M, Columbus DA, Suryawan A, Steinhoff-Wagner J, Hernandez-Garcia A, Nguyen HV, et al. Enteral beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation increases protein synthesis in skeletal muscle of neonatal pigs. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 2016;310(11):1072-84.
 19. Riebe D, Ehrman JK, Liguori G, Magal M, American College of Sports Medicine, editors. *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. Wolters Kluwer; 2018.
 20. Asadi A, Arazi H, Suzuki K. Effects of -hydroxy- -methylbutyrate-free acid supplementation on strength, power and hormonal adaptations following resistance training. *Nutrients*. 2017 Dec;9(12):1316.
 21. 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.
 22. Kraemer WJ, Ratamess NA. Fundamentals of resistance training: Progression and exercise prescription. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2004;36(4):674-88.

23. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2002;34(2):364-80.
24. Kraemer WJ, Hatfield DL, Volek JS, Fragala MS, Vingren JL, Anderson JM, et al. Effects of amino acids supplement on physiological adaptations to resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2009;41(5):1111-21.
25. 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 (Doctoral dissertation)
26. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Medicine*. 2005;35(4):339-61.
27. Routhier DD, Stacy JJ. HMB use and its relationship to exercise-induced muscle damage and performance during exercise. *International SportMed Journal*. 2007;8(2):68-77.
28. Szczeniak K, Ostaszewski P, Fuller Jr J, Ciecierska A, Sadkowski T. Dietary supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate in animals: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015;99(3):405-17.
29. Krug AL, Macedo AG, Zago AS, Rush JW, Santos CF, Amaral SL. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle & Nerve*. 2016;53(5):779-83.
30. Munroe M, Pincu Y, Merritt J, Cobert A, Brander R, Jensen T, et al. Impact of beta-hydroxy beta-methylbutyrate (HMB) on age-related functional deficits in mice. *Experimental Gerontology*. 2017;87(Pt A):57-66.
31. Su YH, Su Z, Zhang K, Yuan QK, Liu Q, Lv S, et al. [The changes of p-Akt/MuRF1/FoxO1 proteins expressions in the conditions of training and immobilization in rats' gastrocnemius muscle]. *Sheng li xue bao* :[Acta physiologica Sinica]. 2014;66(5):589-96.
32. Gerlinger-Romero F, Guimaraes-Ferreira L, Yonamine CY, Salgueiro RB, Nunes MT. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on the expression of ubiquitin ligases, protein synthesis pathways and contractile function in extensor digitorum longus (EDL) of fed and fasting rats. *The Journal of Physiological Sciences*. 2018 Mar 1;68(2):165-74.
33. Kornasio R, Riederer I, Butler-Browne G, Mouly V, Uni Z, Halevy O. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009;1793(5):755-63.
34. Hawley JA, Hargreaves M, Joyner MJ, Zierath JR. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014;159(4):738-49.
35. 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.
36. Eley HL, Russell ST, Baxter JH, Mukerji P, Tisdale MJ. Signaling pathways initiated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis

- in skeletal muscle in response to cachectic stimuli. American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism. 2007;293(4):923-31.
37. Nakada S, Ogasawara R, Kawada S, Maekawa T, Ishii N. Correlation between ribosome biogenesis and the magnitude of hypertrophy in overloaded skeletal muscle. PloS one. 2016;11(1):0147284.
 38. Arazi H, Asadi A, Suzuki K. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate-free acid supplementation and resistance training on oxidative stress markers: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. Antioxidants. 2018 Jun;7(6):76.
 39. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Andersen JC, 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.
 40. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Walters JA, Baier SM, Fuller JC Jr., et al. beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. The British Journal of Nutrition. 2013;110(3):538-44.
 41. Sanchez-Martinez J, Santos-Lozano A, Garcia-Hermoso A, Sadarangani KP, Cristi-Montero C. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in trained and competitive athletes: A meta-analysis of randomized controlled trials. Journal of Science and Medicine in Sport. 2018 Jul 1;21(7):727-35.

ارجاع دهی

موسوی مظفر سیدمصطفی، نورشاهی مریم، اکبرنژاد علی. تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر پاسخ به میزان MuRF1 و P70S6K عضلانی قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل HMB در مردان غیرفعال. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۵): ۷۹-۹۴. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2018.5770.1761

Mousavi Mozafar S.M, Nourshahi M, Akbarnejad A. Effect of One Session of Resistance Exercise on Response to Muscle MuRF1 and P70S6K before and after 6 Weeks of Resistance Training and HMB Supplementation in Inactive Men. Sport Physiology. Spring 2020; 12(45): 79-94. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2018.5770.1761

Effect of One Session of Resistance Exercise on Response to Muscle MuRF1 and P70S6K Before and After 6 Weeks of Resistance Training and HMB Supplementation in Inactive Men

S. M. Mousavi Mozafar¹, M. Nourshahi², A. Akbarnejad³

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Shahid Beheshti University, Tehran
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Shahid Beheshti University, Tehran (Corresponding Author)
3. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Tehran

Received: 2018/07/02

Accepted: 2018/12/28

Abstract

Resistance training with HMB supplement helps preserving the body mass and, that is why, it is extensively practiced by athletes. However, there are contradictory results about the effect of the pathway of this supplement on increasing factors related to hypertrophy or reduction of atrophy. The present study investigates the effect of HMB and resistance training on response to Muscle MuRF1 and P70S6K in inactive men. To this end, 40 inactive men with the average age (25.5 ± 5 years) and a BMI of (21.2 ± 2 kg/m²) were divided into the following four training categories: training, training+HMB, HMB and control. The subjects did bodybuilding exercises (3set/10-12repetitions/75%-80% 1RM) for four days a week over a six-week time period. The control group did not do any kinds of exercise. The vastus lateralis muscle biopsy and 1RM amounts of each subject in leg press movement were conducted and measured before and after six weeks of training and consuming the supplement. The results of one-way ANOVA and repeated variance analysis test with inter-group factor showed that there is a difference ($P= 0.001$) between the increase of 1RM before and after six weeks of training and the amounts of P70S6K ($P= 0.001$) in all three groups in comparison with the control group. However, this difference was not significant ($P= 0.22$) in MuRF1 amounts. As a result, consuming HMB supplement in the course of training can lead to the increase of P70S6K response as a marker of hypertrophy and an increase of strength in the leg press after six weeks.

Keywords: Resistance Training, HMB Supplement, P70s6k, MuRF.

1. Email: S.koneshlou@yahoo.com
2. Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir
3. Email: aakabarnejad@ut.ac.ir