Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Effect of short-term beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on serum cortisol and testosterone levels in male wrestlers following an exhaustive exercise

Davoud Tavangar[1], Abbas Sadegi[2*], Hassan Pourrazi[2]

[1]Department of exercise physiology, Allame Gazvini Institute, Qazvin, Iran
[2]Department of Physical Education, Faculty of Social Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
*Corresponding author; E-mail: sadeghi@soc.ikiu.ac.ir

Received: 10 June 2019 Accepted: 14 July 2019 First Published online: 30 Dec 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(5):572-580

Abstract

Background: The use of HMB supplement is prevalence among athletes to reduce proteolysis and increase muscle mass. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of short-term beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on serum cortisol and testosterone levels in wrestling men following an exhaustive exercise.

Methods: Sixteen male wrestlers were randomly divided into two groups including: HMB supplementation (40 mg/kg body weight; n=8) and placebo (n=8). Both groups, after two weeks of supplementation, performed an exhaustive exercise. Blood was obtained before supplementation (Base), before exhaustive exercise, immediately after exhaustive exercise, one hour and 24 hours' after exhaustive exercise. Circulating concentrations of cortisol and testosterone were assayed.

Results: The results of this study indicated that there was no significant difference between the two groups at serum cortisol levels of resting state (before exhaustive exercise) and after exhaustive exercise (immediately, one hour and 24 hours later) ($p>0.05$). However, there was significant difference between the HMB and placebo groups at serum testosterone levels and testosterone/cortisol of resting state (before exhaustive exercise) and after exhaustive exercise ($p<0.05$).

Conclusion: In general, short-term beta-hydroxy beta-methyl butyrate (HMB) supplementation does not affect the serum cortisol in male wrestlers before and after an exhausting exercise. However, HMB supplementation can lead to a significant increase in serum testosterone and T/C before and after an exhausting exercise.

Keywords: Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, Cortisol, Testosterone, Exhaustive Exercise, Male Wrestlers

How to cite this article: Tavangar D, Sadegi A, Pourrazi H. [Effect of short-term beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on serum cortisol and testosterone levels in male wrestlers following an exhaustive exercise]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(5):572-580. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات (HMB) بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی گیر متعاقب یک فعالیت ورزشی وامانده ساز

داوود توانگر[۱]، عباس صادقی[۲*]، حسن پوررضی[۲]

[۱]گروه فیزیولوژی ورزشی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی علامه قزوینی، قزوین، ایران
[۲]گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)، قزوین، ایران
[*] نویسنده مسؤول؛ ایمیل: sadeghi@soc.ikiu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۰/۱۰
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۵):۵۷۲-۵۸۰

چکیده

زمینه: استفاده از مکمل HMB با رویکرد کاهش پروتئولیز و افزایش توده عضلانی از شیوع بالایی در بین ورزشکاران برخوردار است. لذا، مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات (HMB) بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی‌گیر، متعاقب یک فعالیت ورزشی واماندەساز انجام شد.

روش‌کار: ۱۶ مرد کشتی‌گیر به صورت تصادفی در دو گروه مکمل HMB (۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن؛ ۸ نفر) و دارونما (۸ نفر) جایگزین شدند. هر دو گروه، پس از دو هفته مکمل‌یاری، یک فعالیت ورزشی را تا سرحد واماندگی اجرا کردند. نمونه‌گیری خونی برای اندازه‌گیری کورتیزول و تستوسترون سرمی قبل از شروع مکمل‌یاری (حالت پایه)، قبل از شروع فعالیت واماندەساز، بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از اتمام فعالیت ورزشی واماندەساز انجام شد. داده‌های حاصل شده توسط آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر و تی مستقل، تجزیه و تحلیل شدند (P<۰/۰۵).

یافته‌ها: نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مکمل و دارونما در رابطه با کورتیزول سرمی حالت استراحت (قبل از اجرای فعالیت ورزشی) و متعاقب اجرای فعالیت واماندەساز (بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد) وجود ندارد (P>۰/۰۵). با این حال، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مکمل HMB و دارونما در مورد تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون به کورتیزول حالت استراحت (قبل از اجرای فعالیت ورزشی) و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز مشاهده شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: در کل، می‌توان عنوان کرد که مکمل‌دهی کوتاه‌مدت HMB بر کورتیزول سرمی مردان کشتی‌گیر، قبل و متعاقب یک فعالیت ورزشی واماندەساز تاثیری ندارد اما می‌تواند موجب افزایش قابل توجه تستوسترون سرمی در قبل و متعاقب یک فعالیت ورزشی واماندەساز گردد.

کلید واژه‌ها: بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات، تستوسترون، کورتیزول، فعالیت ورزشی واماندەساز، مردان کشتی‌گیر

نحوه استناد به این مقاله: توانگر د، صادقی ع، پوررضی ح. تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات (HMB) بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی گیر متعاقب یک فعالیت ورزشی وامانده ساز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۵):۵۷۲-۵۸۰

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

عملکرد ورزشی بهینه و رسیدن به اوج اجرا ورزشی هدف اصلی ورزشکاران و مربیان است. در این بین، افزایش قدرت و توان عضلانی، بازیابی سریع و حفظ شرایط آنابولیکی بدن از اهمیت بسیار بالایی در عملکرد بهینه ورزشکاران رشته‌های مختلف ورزشی به ویژه کشتی‌گیران برخوردار است (۱). لذا، اغلب کشتی‌گیران برای دستیابی به هدف مذکور از روش‌های مختلف تمرینی و تغذیه‌ای استفاده می‌کنند. از جمله ملاحظات تغذیه‌ای که امروزه در دنیای ورزش کاربرد فراوانی دارد، استفاده از مکمل‌های غذایی به منظور بهینه‌سازی اجرای ورزشی و بهبود وضعیت فیزیولوژیکی است و کمتر ورزشکاری را می‌توان یافت که در عمر ورزشی خود یک یا چند مورد از مکمل‌های ورزشی را امتحان نکرده باشد (۲و۳). در بین مکمل‌های تغذیه‌ای رایج، مکمل بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیریک اسید (HMB) متابولیت یا همان محصول سوخت و سازی اسید آمینه ضروری لوسین، از جمله مکمل‌های ورزشی است که مصرف بالایی در بین ورزشکاران رشته‌های مختلف استقامتی و قدرتی به ویژه کشتی‌گیران دارد (۴–۶). بدن مقدار کمی HMB را از آلفا کتوایزوکاپرویت به عنوان محصول سوخت و سازی لوسین تولید می‌کند. در یک فرد ۷۰ کیلوگرمی، بسته به محتوای لوسین رژیم غذایی پرپروتئین، روزانه ۰/۲ تا ۰/۴ HMB در بدن تولید می‌شود (۷). ویلسون و همکاران گزارش کردند که برای تولید ۳ گرم HMB از لوسین در بدن – که دوز مصرفی در مطالعات مرتبط با HMB می‌باشد – حدود ۶۰ گرم لوسین نیاز است. دستیابی به این مقدار فقط از طریق رژیم غذایی، احتمالا ممکن باشد، اما با اطمینان، فراتر از اصول رژیم غذایی متعادل است (۸). تصور می‌شود که HMB در تنظیم تجزیه پروتئین در بدن نقش داشته باشد. این مکمل به کند شدن پروتئولیز کمک می‌کند (۹). پروتئولیز یک فرآیند طبیعی تجزیه عضلانی است که به طور ویژه پس از فعالیت شدید روی می‌دهد. این تصور در بین اغلب ورزشکاران و مربیان وجود دارد که HMB اجازه می‌دهد که بدن بیشتر در وضعیت آنابولیکی بماند. در واقع اجازه می‌دهد که عضلات بیشتری ساخته شوند. بنابراین، به لحاظ نظری، مکمل‌سازی HMB ممکن است تجزیه پروتئین را در بدن کند کرده و توده عضلانی و قدرت را افزایش دهد (۵ و ۱۰). با این حال، برخی از محققان عنوان داشتند که مصرف مکمل HMB تنها در افراد غیر ورزشکار مفید بوده و مکانیسم اثر آن نیز به طور دقیق مشخص نیست (۱۱). در این بین، بررسی پاسخ‌های هورمونی بدن به مصرف این مکمل می‌تواند تا حدودی به درک بهتر اثر این مکمل کمک نماید. کورتیزول و تستوسترون از جمله مهم‌ترین هورمون‌های بدن هستند که به طور کلی به عنوان نماینده هورمون‌های کاتابولیک و آنابولیک پذیرفته شده اند. از این رو سطوح سرمی کورتیزول و تستوسترون و به تبع آن نسبت این دو نشان دهنده فرآیند آنابولیسم یا کاتابولیسم در بدن می‌باشد (۱۲). در این بین، اغلب پژوهش‌ها تاثیر مکمل‌سازی HMB روی قدرت و تغییرات ترکیب بدنی افراد غیرورزشکار و ورزشکار را مورد ارزیابی قرار داده اند (۱۳). اما تاثیر این مکمل بر تغییرات هورمون‌های کورتیزول و تستوسترون ورزشکاران آن هم در دوره‌های زمانی مختلف پس از فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز چندان مشخص نیست. در این جهت، پیمنتل و همکاران اشاره داشتند که مصرف مکمل HMB باعث کاهش معنی‌دار کورتیزول و افزایش معنی‌دار نسبت تستوسترون به کورتیزول شد اما تغییر معنی‌داری در مورد تستوسترون گزارش نکرد (۱۴). همچنین ویلسون و همکاران نیز اشاره به کاهش معنی‌دار هورمون کورتیزول متعاقب تمرین‌های مقاومتی در گروه مکمل HMB داشتند (۱۵). با این حال و برخلاف مطالعات مذکور، تیکسیرا و همکاران عنوان داشتند که هشت هفته مکمل‌یاری متابولیت‌های مختلف لوسین (α-HICA HMB-FA و HMB-Ca) تاثیر معنی‌داری بر هایپرتروفی عضله و سطوح هورمون‌های کورتیزول و تستوسترون مردان تمرین کرده نداشت (۱۶). اسدی و همکاران نیز نتایج مشابهی در مورد تستوسترون سرمی متعاقب مکمل‌سازی با HMB گزارش کردند (۱۷). لذا با توجه به نتایج اندک، ناهمسو و متناقض بدست آمده در خصوص تاثیرات مختلف مکمل HMB بر هورمون‌های کورتیزول و تستوسترون به ویژه در ورزشکاران و افراد تمرین کرده و با در نظر گرفتن شیوع بالای مصرف مکمل HMB در بین ورزشکاران مختلف، هنوز پاسخ روشن و قطعی به این سوال داده نشده است که آیا دو هفته مکمل‌یاری HMB تاثیری بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی گیر قبل و بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز دارد؟ بنابراین، ضرورت دارد تا ضمن بررسی تاثیر مکمل‌یاری HMB بر سطوح کورتیزول و تستوسترون سرمی، رفع برخی از ابهامات موجود مرتبط با تناقض‌های علمی و حصول نتایج معتبر، بتوان به مربیان، ورزشکاران و دست‌اندرکاران رشته‌های مختلف ورزشی توصیه‌ها و پیشنهادهای کاربردی لازم را در این زمینه ارایه داد. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی گیر متعاقب یک فعالیت ورزشی وامانده ساز انجام شد.

روش کار

تحقیق حاضر از نوع طرح‌های نیمه تجربی دو گروهی (کنترل و مکمل) و به شکل اندازه‌گیری مکرر اجرا شد. در این پژوهش سعی بر آن بود تا با توجه به اهداف تحقیق، تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت (دو هفته) HMB بر کورتیزول و تستوسترون سرمی مردان کشتی‌گیر در حالت پایه و بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد

از اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز تعیین گردد. جامعه آماری تحقیق حاضر، مردان کشتی‌گیر جوان ۲۷-۱۷ سال استان قزوین بودند که حداقل دارای سه سال سابقه تمرین و مسابقه کشتی در سطوح حرفه‌ای و نیمه حرفه‌ای باشند. پس از معرفی کامل موضوع، اهداف و روش اجرای تحقیق برای همه کشتی‌گیران، از بین کشتی‌گیران مرد با حداقل سه سال سابقه کشتی در سطوح حرفه‌ای و نیمه حرفه‌ای، ۱۶ نفر از مردانی که هم اکنون به طور مرتب و حداقل سه روز در هفته به تمرین کشتی می‌پرداختند، به صورت داوطلبانه انتخاب شدند. انتخاب تعداد نمونه براساس جامعه آماری با تعداد نامشخص و مطالعات قبلی صورت گرفت. سپس فرم‌های رضایت‌نامه، پرسشنامه سلامت، پرسشنامه غذایی ۲۴ ساعته و مصرف مکمل توسط آزمودنی‌های داوطلب تکمیل شد. در این راستا، تمامی اصول اخلاقی کار با آزمودنی‌های انسانی مدنظر قرار گرفته و آزمودنی‌ها از تمام جنبه‌های تحقیق آگاهی داشته و هر زمان که می‌خواستند، می‌توانستند از پروژه تحقیق خارج شوند. یک هفته قبل از شروع قرارداد مکمل‌یاری، برخی از مشخصات فردی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها مانند سن، قد، وزن، شاخص توده بدنی، درصد چربی و ضربان قلب استراحتی به منظور همگن‌سازی، اندازه‌گیری شدند. سپس آزمودنی‌ها به طور تصادفی در دو گروه مکمل HMB و دارونما جایگزین شدند. مکمل HMB به تناسب وزن افراد و به شرح زیر در اختیار گروه مکمل قرار داده شد. مکمل HMB محصول شرکت کارن (PNC) و با مجوز وزارت بهداشت و درمان بود که به صورت قرص عرضه شده بود. برنامه مصرف مکمل شامل مصرف روزانه ۴۰ میلی‌گرم HMB به ازای هر کیلوگرم وزن بدن آزمودنی در سه وعده ۳۰ الی ۶۰ دقیقه قبل از تمرین روزانه، بلافاصله پس از تمرین روزانه و قبل از خواب بود (۱۸). این برنامه به مدت دو هفته برای گروه مکمل ادامه داشت. بسته‌های شبه دارو (نشاسته برنج) نیز به طور مشابه تهیه و در اختیار گروه دارونما قرار داده می‌شد. قرارداد برنامه مکمل‌یاری به شکل دوسویه کور اجرا می‌شد. هر دو گروه، پس از دو هفته مکمل‌یاری، یک فعالیت ورزشی را تا سرحد واماندگی اجرا کردند. پروتکل فعالیت ورزشی واماندەساز شامل تست ۷ مرحله‌ای بروس بود که مدت هر مرحله ۳ دقیقه بوده و با شیب ۱۰ درصد و سرعت ۲/۷ مایل بر ساعت شروع می‌شد و در هر مرحله طبق پروتکل بروس به سرعت و شیب آن افزوده می‌شد و در پایان زمان آن ثبت می‌گردید. نمونه‌گیری خونی برای اندازه‌گیری کورتیزول و تستوسترون سرمی از ورید پیش‌آرنجی دست چپ و طی پنج مرحله در حالت پایه (۱۲ ساعت ناشتایی) و قبل از شروع مکمل‌یاری، دو هفته بعد از مصرف مکمل و قبل از شروع فعالیت ورزشی واماندەساز، بلافاصله بعد از اتمام فعالیت ورزشی واماندەساز، یک ساعت بعد از اتمام فعالیت ورزشی واماندەساز و ۲۴ ساعت بعد از اتمام فعالیت ورزشی واماندەساز انجام شد. کورتیزول سرمی با روش الایزا و با استفاده از دستگاه stat fax 2100 و کیت ساخت شرکت ایده‌آل تشخیص آتیه ایران با میزان حساسیت ۰/۲۵ میکروگرم بر دسی‌لیتر و دقت ۹۸ درصد اندازه‌گیری شد. تستوسترون سرمی نیز با روش الایزا و با استفاده از دستگاه stat fax 2100 و کیت ساخت شرکت ایده‌آل تشخیص آتیه ایران با میزان حساسیت ۳۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و دقت ۹۳/۷ درصد اندازه‌گیری گردید. تکرار آزمایش‌ها برای داده‌های خیلی بالا و پایین توسط دستگاه TOSOH مدل AIA-360 به روش اندازه‌گیری ایمونوفلورسانس (IFA) انجام شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، ابتدا توزیع توام و هنجار داده ها توسط آزمون شاپیرو – ویلک مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر و پس‌تعقیبی بونفرونی و در صورت نیاز برای تجزیه و تحلیل بیشتر از آزمون تی مستقل استفاده شد. تمامی محاسبات آماری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد.

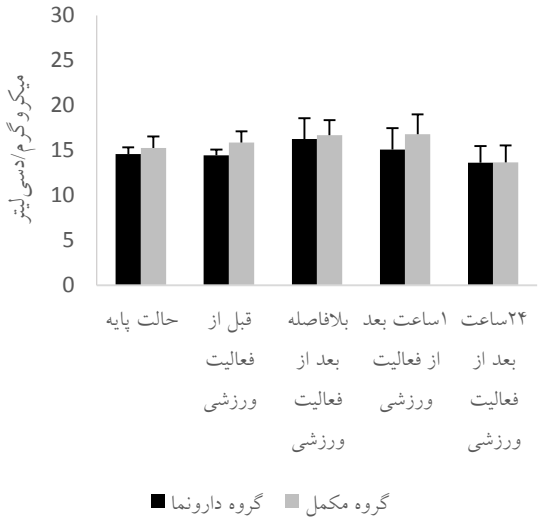
یافته‌ها

در این بخش، ابتدا از آزمون شاپیرو–ویلک برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها در گروه‌های مختلف استفاده شد. نتایج حاکی از آن بود که داده‌های جمع‌آوری شده طبیعی بوده و منحنی مربوط به این نمونه طبیعی فرض شد (P>۰/۰۵). برخی از ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است (جدول ۱).

جدول ۱: ویژگی‌های آزمودنی‌ها در دو گروه مکمل (n=۸) و دارونما (n=۸)

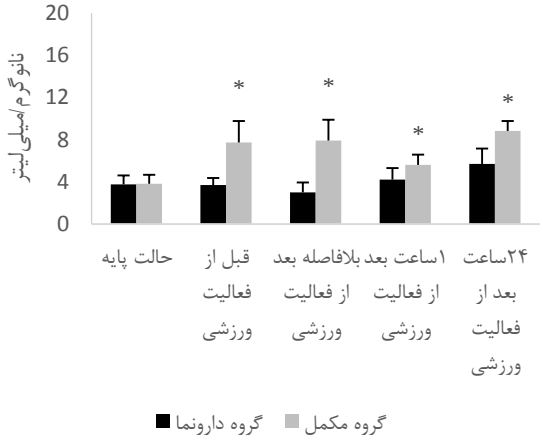
شاخص	گروه	میانگین	انحراف معیار
سن (ضربان در دقیقه)	مکمل	۱۸/۳۸	۱/۳
	دارونما	۱۹/۲۵	۱/۴۸
قد (سانتی‌متر)	مکمل	۱۷۱/۲۵	۵/۹
	دارونما	۱۷۳	۴/۳۴
وزن (کیلوگرم)	مکمل	۷۰/۸۳	۵/۹۷
	دارونما	۷۴/۴۶	۸/۳۵
شاخص توده بدن (کیلوگرم بر مجذور قد)	مکمل	۲۴/۱۴	۱/۴۷
	دارونما	۲۴/۸۳	۲/۰۸
درصد چربی (درصد)	مکمل	۱۷/۶	۴/۲۲
	دارونما	۱۵/۳۳	۲/۹
زمان رسیدن به واماندگی (دقیقه)	مکمل	۱۲/۹۸	۱/۱۹
	دارونما	۱۲/۶۷	۰/۵۳

نتایج مطالعه حاضر در مورد سطوح کورتیزول سرمی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های اندازه‌گیری پنجگانه (پایه، قبل از اجرای فعالیت ورزشی و بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از اجرای فعالیت ورزشی) در هر دو گروه مکمل و دارونما وجود ندارد (P>۰/۰۵). همچنین، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مکمل و دارونما در رابطه با کورتیزول سرمی مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (نمودار ۱).



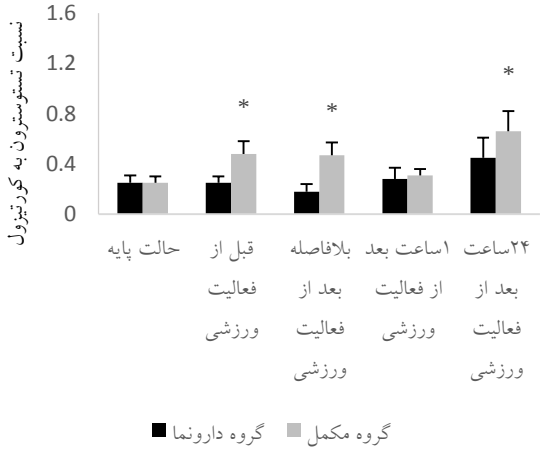
نمودار۱: تغییرات کورتیزول سرمی طی مراحل مختلف اندازه‌گیری در دو گروه مکمل و دارونما

با این حال، در رابطه با تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون به کورتیزول نتایج حاکی از آن بود که مصرف دو هفته مکمل HMB موجب افزایش معنی‌دار تستوسترون سرمی (P=۰/۰۲۶) و نسبت تستوسترون به کورتیزول شد (P=۰/۰۲۷)، به طوری که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مکمل و دارونما قبل از اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز وجود داشت (به ترتیب برای تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول P=۰/۰۰۰۰۱، P=۰۰۰۰۰۶). در ادامه نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در رابطه با تستوسترون سرمی بین دو گروه مکمل و دارونما در بلافاصله (P=۰/۰۰۰۰۰۱)، یک ساعت (P=۰/۰۱۹) و ۲۴ ساعت بعد از اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز (P=۰/۰۰۰۰۳) وجود دارد به طوری که مقدار تستوسترون سرمی در گروه مکمل بیشتر بود (نمودار ۲).



نمودار۲: تغییرات تستوسترون سرمی طی مراحل مختلف اندازه‌گیری در دو گروه مکمل و دارونما؛ گروه مکمل در مقابل گروه دارونما: ۰/۰۵

همچنین، تفاوت معنی‌داری در رابطه با نسبت تستوسترون به کورتیزول بین دو گروه مکمل و دارونما در بلافاصله (P=۰/۰۰۰۰۰۱) و ۲۴ ساعت بعد از اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز (P=۰/۰۲۲) مشاهده شد به طوری که گروه مکمل نسبت تستوسترون به کورتیزول بالاتری داشت (نمودار ۳). در نهایت، تفاوت معنی داری بین دو گروه مکمل و دارونما در رابطه با زمان رسیدن به واماندگی مشاهده نشد (P=۰/۵۲۵).



نمودار۳: تغییرات نسبت تستوسترون به کورتیزول سرمی طی مراحل مختلف اندازه‌گیری در دو گروه مکمل و دارونما؛گروه مکمل در مقابل گروه دارونما: ۰/۰۵

بحث

هدف اصلی در مطالعه حاضر آن بود که تاثیر دو هفته مکمل‌یاری HMB بر کورتیزول و تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون بر کورتیزول مردان کشتی‌گیر در حالت پایه و بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز تعیین گردد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت معنی داری بین دو گروه مکمل HMB و دارونما در رابطه با سطوح کورتیزول سرمی حالت استراحت (قبل از اجرای فعالیت ورزشی) و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز (بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد) وجود ندارد. به عبارتی، مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB تغییر معنی‌داری در کورتیزول سرمی در حالت استراحت و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز ایجاد نمی‌کند. با این حال و برخلاف نتیجه ذکر شده، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مکمل HMB و دارونما در رابطه با سطوح تستوسترون سرمی حالت استراحت (قبل از اجرای فعالیت ورزشی) و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز (بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد) مشاهده شد. این موضوع در مورد نسبت تستوسترون به کورتیزول در حالت استراحت (قبل از اجرای فعالیت ورزشی) و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی واماندەساز (بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد) نیز مشاهده شد. به عبارتی

مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB موجب افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول در حالت استراحت و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز می‌گردد. این موضوع ممکن است به ایجاد یک شرایط آنابولیکی بدن در کشتی‌گیران جوان کمک نماید. نتایج مطالعات قبلی در این زمینه ضد و نقیض است و همگرایی مشخصی در مورد تاثیر مکمل‌یاری HMB بر پاسخ هورمون‌های آنابولیکی و کاتابولیکی وجود ندارد. در مورد هورمون کورتیزول و هم‌راستا با مطالعه حاضر، تیکسیرا و همکاران عنوان داشتند که هشت هفته مکمل‌یاری HMB-FA تاثیر معنی‌داری بر سطوح هورمون کورتیزول مردان تمرین کرده نداشت (۱۶). همچنین، ویلسون و همکاران گزارش دادند که مصرف کوتاه مدت مکمل HMB تاثیر معنی‌داری بر هورمون کورتیزول مردان تمرین کرده متعاقب یک جلسه فعالیت مقاومتی با حجم بالا ندارد (۸). با این حال و برخلاف نتایج مطالعه حاضر، اسدی و همکاران اشاره داشتند که گروه مکمل‌یاری شده با HMB کاهش بزرگتری را در پاسخ هورمون کورتیزول و آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) به فعالیت مقاومتی در مقایسه با گروه دارونما نشان دادند (۱۷). در این راستا، پیمنتل و همکاران نیز عنوان داشتند که مصرف مکمل HMB باعث کاهش معنی‌دار کورتیزول و افزایش معنی‌دار نسبت تستوسترون به کورتیزول شد (۱۴). به نظر می‌رسد که دلیل اصلی این تناقض ناشی از عوامل متعددی همچون طول دوره مصرف مکمل، غلظت مصرفی و آزمودنی‌های مورد استفاده باشد. در مطالعه اسدی و همکاران از شش هفته مکمل‌یاری HMB همراه با تمرین‌های مقاومتی آن هم در افراد غیرورزشکار استفاده شده بود و این طول دوره بلندمدت مصرف شاید بتواند بر تقلیل پاسخ فزاینده هورمون کورتیزول به فعالیت مقاومتی موثر باشد (۱۷). از طرفی در پژوهش پیمنتل و همکاران نیز از یک غلظت مصرفی بالا (۳۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) طی دوره یک ماهه، آن هم در موش‌های صحرایی تمرین نکرده استفاده شده بود که مصرف غلظت بسیار بالا در این نوع از آزمودنی ممکن است نتیجه فوق را رقم زده باشد (۱۴). با این حال سازوکار اثرگذاری مکمل HMB بر ترشح هورمون کاتابولیکی کورتیزول چندان مشخص نیست. کورتیزول هورمون استروئیدی است که در وضعیت فشار و استرس از بخش قشری غده فوق کلیوی ترشح می‌گردد. فعالیت‌های ورزشی شدید و بلندمدت می‌تواند باعث افزایش کورتیزول سرمی گردد و ارتباط مستقیمی با شدت و سازگاری فردی با استرس فعالیت ورزشی دارد (۱۹). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در کورتیزول سرمی طی مراحل مختلف اندازه‌گیری در قبل و بعد از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در هر دو گروه مکمل و دارونما وجود نداشت. به عبارتی با توجه به اینکه آزمودنی‌های پژوهش حاضر، کشتی‌گیران جوان و باشگاهی با سازگاری به نسبت بالایی بودند، می‌تواند عدم تغییرات معنی‌دار کورتیزول را تا حدودی توجیه نماید. همچنین، براساس نتایج پژوهش حاضر، مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB موجب افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول در حالت استراحت و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز می‌گردد. در این خصوص نیز یافته‌های ضدونقیض بسیاری در مطالعات قبلی به چشم می‌خورد و سازوکار تاثیر مکمل‌یاری HMB بر تغییرات هورمون تستوسترون چندان مشخص نیست. هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، کرامر و همکاران گزارش کردند که ۱۲ هفته مکمل‌یاری HMB سطوح هورمون تستوسترون را به طور قابل توجهی قبل و بلافاصله پس از فعالیت ورزشی افزایش داد (۱۹). تستوسترون یک هورمون آنابولیکی مهم می‌باشد که به عنوان افزاینده تولید پروتئین عضله شناخته شده است. اشاره به این نکته ضروری است که همه تستوسترون در خون قابل دسترسی نیست بلکه بیشتر آن به شکل اتصالات پروتئینی مانند گلوبولین متصل به هورمون جنسی (SHBG) یا سایر پروتئین‌های حامل است. تستوسترونی که به شکل غیرپیوندی است، به نام تستوسترون آزاد یا قابل دسترس نامیده می‌شود و قادر است تا با اتصال به گیرنده آندروژنی، پیام‌های آنابولیکی را اجرا کند (۲۰). این موضوع برای فردی که اصرار به افزایش مقدار تستوسترون بدن دارد (از طریق مکمل‌های افزایش‌دهنده تستوسترون) بسیار مهم است زیرا تنها تستوسترون آزاد فعالیت آنابولیکی دارد. در مطالعه حاضر، اگرچه مقدار تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون به کورتیزول در گروه مکمل HMB در قبل و بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی وامانده‌ساز به طور قابل توجهی افزایش یافته است، اما مقدار هر دو متغیر حدود یک ساعت بعد از فعالیت ورزشی کاهش پیدا کرده است که در مورد نسبت تستوسترون به کورتیزول یک ساعت پس از فعالیت ورزشی تفاوت معنی‌داری بین گروه مکمل و دارونما مشاهده نمی‌شود، اگرچه ۲۴ ساعت پس از فعالیت ورزشی دوباره مقدار تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون به کورتیزول در گروه مکمل HMB نسبت به گروه دارونما افزایش بیشتری داشت. این کاهش در مقدار تستوسترون سرم حدود یک ساعت پس از فعالیت ورزشی در گروه مکمل HMB در یک دوره زمانی نزدیک به فعالیت ورزشی ممکن است به علت افزایش پاک‌سازی متابولیکی این هورمون، مانند افزایش جذب به وسیله عضله، باشد. حداقل یک تحقیق از این فرضیه حمایت کرده است. چندلر و همکاران نشان دادند که کاهش در تستوسترون گردش خون در پاسخ به زمان‌بندی مصرف مواد مغذی بعد از تمرین، رابطه‌ای با کاهش تولید هورمون لوتئینی نداشت (۲۱). بنابراین افت تستوسترون گردش خون می‌تواند به دلیل افزایش جذب آن به وسیله عضلات برای تسهیل سنتز پروتئین عضله در ساعات اولیه بعد از فعالیت ورزشی باشد. برای اثبات بیشتر این قضیه، ولک

گزارش کرد که مصرف کربوهیدرات–پروتئین بعد از فعالیت ورزشی، مقدار تستوسترون گردش خون را کاهش داد که با افزایش ظرفیت گیرنده آندروژنی عضله همخوانی داشت (۲۲). با این حال و برخلاف نتایج مطالعه حاضر، برخی از مطالعات قبلی اشاره‌ای به تاثیر مکمل‌یاری کوتاه مدت یا بلند مدت HMB بر تستوسترون سرمی و نسبت تستوسترون به کورتیزول نداشتند. دورکالک – میچالسکی و ژسکا در مطالعه خود عنوان داشتند که مکمل‌یاری HMB اگرچه ظرفیت هوازی و توده چربی را در قایقرانان حرفه‌ای بهبود بخشید اما تاثیری بر سطوح تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول سرمی این ورزشکاران نداشت (۲۳). در این راستا، نوع آزمودنی و سطح آمادگی جسمانی آن‌ها و برخی از عوامل فیزیولوژیکی و روانشناختی دیگر می‌توانند بر نتایج اثرگذار باشند. آنچه در اختلاف نتایج پژوهش حاضر با مطالعه یاد شده بیشتر نمود دارد، نوع آزمودنی و رشته ورزشی این آزمودنی‌ها است به طوری که آزمودنی‌های مطالعه میچالسکی و ژسکا، ورزشکاران استقامتی بودند اما آزمودنی‌های مطالعه حاضر کشتی‌گیران جوانی بودند که ماهیت رشته ورزشی آنها علاوه بر توجه به آمادگی هوازی، اغلب مبتنی بر تمرین‌های بی‌هوازی و قدرتی است. در این رابطه، آلبرت و همکاران در یک مقاله مروری اشاره داشتند که تاثیر مکمل‌یاری HMB در فعالیت‌های ورزشی قدرتی در ایجاد یک شرایط آنابولیکی بدن بیشتر است (۴). همچنین، تاونسند و همکاران اشاره داشتند که مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB تاثیر معنی‌داری بر تستوسترون سرمی مردان تمرین کرده متعاقب یک جلسه تمرین مقاومتی نداشت. اگرچه مقدار تستوسترون بلافاصله و ۳۰ دقیقه پس از فعالیت مقاومتی در گروه مکمل نسبت به گروه دارونما به طور غیرمعنی‌داری بیشتر بود (۲۴). به نظر می‌رسد دلایل اصلی تناقض نتایج مطالعه تاونسند و همکاران با پژوهش حاضر، بی ارتباط با غلظت مصرف و طول دوره مصرف مکمل نباشد. به طوری که آزمودنی‌های مطالعه تاونسند، مکمل HMB را به مقدار یک گرم آن هم به شکل حاد و تنها یک بار قبل از جلسه تمرین مقاومتی مصرف کردند که این غلظت پایین و طول بسیار کوتاه دوره مصرف، قادر به ایجاد تغییر معنی‌دار در تستوسترون سرم نشده است. در حالی که، آزمودنی‌های مطالعه حاضر مقدار تقریبی ۴-۳ گرم مکمل HMB را برای مدت دو هفته مصرف کرده بودند که همراه با افزایش معنی‌دار تستوسترون سرم نیز بود. با این حال، مطالعه حاضر دارای محدودیت‌هایی بود که باید مدنظر قرار گیرد، از جمله اینکه زمان مداخله مکمل‌یاری کوتاه بود و امکان کنترل دقیق فعالیت و تغذیه روزمره آزمودنی‌ها وجود نداشت و تنها به پرسشنامه یادآوری ۲۴ ساعته اکتفا شد. البته از تمامی آزمودنی‌ها درخواست شده بود که طی دو هفته دوره پژوهش به فعالیت تمرینات ورزشی و تغذیه معمولی و روزمره خود ادامه دهند. از طرفی، تعداد پایین آزمودنی‌های داوطلب نیز از مهم‌ترین محدودیت‌های پژوهش حاضر بود که در این راستا پیشنهاد می‌شود تا مطالعات با آزمودنی‌های بیشتر و طرح‌های پژوهشی بزرگتر برای تایید نتایج این پژوهش اجرا شوند. به علاوه، با توجه به محدودیت‌های موجود، امکان ارزیابی شاخص‌های مهم دیگر در این زمینه مانند انسولین و IGF-1 میسر نشد.

نتیجه‌گیری

در کل و با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB تغییر معنی‌داری در کورتیزول سرمی در حالت استراحت و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز ایجاد نمی‌کند. با این حال، مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB موجب افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول در حالت استراحت و متعاقب اجرای فعالیت ورزشی وامانده‌ساز در کشتی‌گیران جوان می‌گردد. این موضوع ممکن است به ایجاد یک شرایط آنابولیکی بدن در کشتی‌گیران جوان جهت حفظ توده عضلانی به ویژه پس از تمرین‌ها و فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز کمک نماید. لذا به نظر می‌رسد کشتی‌گیران جوان که اغلب به دلیل حفظ رده وزنی با دوره‌های کاهش وزن مکرر و فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز مواجه هستند، بتوانند از مکمل‌یاری کوتاه مدت HMB (۴۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن) برای ایجاد شرایط آنابولیکی و حفظ توده عضلانی استفاده کنند. با این حال، اظهار نظر قطعی در این زمینه، وابسته به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر می‌باشد.

قدردانی

مقاله حاضر استخراج شده از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی آقای داوود توانگر به شماره ۹۷/۱۰/پ/۳۰/۱۰۰۱ می‌باشد. لذا از مساعدت و همکاری صمیمانه مسئولین موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی علامه قزوینی و دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) و تمام افرادی که موجب تسهیل اجرای پایان‌نامه شدند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

ملاحظات اخلاقی

تحقیق حاضر با نظارت و تصویب معاونت پژوهشی موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی علامه قزوینی و زیر نظر اساتید محترم دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) و با کسب رضایت‌نامه کامل از آزمودنی‌ها و رعایت کامل اصول اخلاقی (با شماره کد اخلاق ۹۴۱/ ک ا /۱۳۹۷) انجام شد. در این راستا،

آزمودنی‌ها از کلیه جنبه‌های تحقیق آگاهی داشته و هر زمان که می‌خواستند، می‌توانستند از پروژه تحقیق خارج شوند.

منابع مالی

تمامی هزینه‌های پایان‌نامه به صورت شخصی بوده و هیچ سازمانی حمایت مالی نکرده است.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

د ت، ع ص، ح پ طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند و همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

1. Taipale RS, Kyröläinen H, Gagnon SS, Nindl B, Ahtiainen J, Häkkinen K. Active and passive recovery influence responses of luteinizing hormone and testosterone to a fatiguing strength loading. Eur J Appl Physiol. 2018 Jan;118(1):123-131. doi: 10.1007/s00421-017-3753-3.
2. 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. Nutr Res. 2017 Sep;45:1-9. doi: 10.1016/j.nutres.2017.07.008.
3. Salami A, Ghaddar A, Aboumrad E, Joumaa WH. Dietary Supplement Use in Sport Gyms in Lebanon: Are They Necessary and are There Side-Effects? Int J High Risk Behav Addict. 2017 March;6(1):e33318. doi:10.5812/ijhrba.33318.
4. Albert FJ, Morente-Sánchez J, Ortega FB, Castillo MJ, Gutiérrez Á. Usefulness Of B-Hydroxy-B-Methylbutyrate (Hmb) Supplementation in Different Sports: An Update and Practical Implications. Nutr Hosp. 2015 Jul 1;32(1):20-33. doi: 10.3305/Nh.2015.32.1.9101.
5. Durkalec-Michalski K, Jeszka J, Podgórski T. The Effect of a 12-Week Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) Supplementation on Highly-Trained Combat Sports Athletes: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Study. Nutrients. 2017 Jul 14; 9(7):753. doi: 10.3390/nu9070753.
6. McIntosh ND, Love TD, Haszard JJ, Osborne HR, Black KE. Response to Effects of Reactiv "Maximum Beta-Hydroxy Beta-Methylbutyrate" on Body Mass and Performance in Elite Male Rugby Players. J Strength Cond Res. 2018 Dec;32(12):e59. doi: 10.1519/JSC.0000000000002921.
7. Zanchi NE, Gerlinger-Romero F, Guimarães-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 Apr;40(4):1015-25. doi: 10.1007/s00726-010-0678-0.
8. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Walters JA, Baier SM, Fuller JC Jr, et al. β-Hydroxy-β-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. Br J Nutr. 2013 Aug 28;110(3):538-44. doi: 10.1017/S0007114512005387.
9. Tinsley GM, Givan AH, Graybeal AJ, Villarreal MI, Cross AG. β-Hydroxy β-methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. Br J Nutr. 2018 Mar;119(5):517-26. doi: 10.1017/S0007114517003907.
10. Gerlinger-Romero F, Guimarães-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. J Physiol Sci. 2018 Mar;68(2):165-74. doi: 10.1007/s12576-016-0520-x.
11. Gepner Y, Varanoske AN, Boffey D, Hoffman JR. Benefits of β-hydroxy-β-methylbutyrate supplementation in trained and untrained individuals. Res Sports Med. 2019 Apr-Jun;27(2):204-18. doi: 10.1080/15438627.2018.1533470.
12. Gray PB, Vuong J, Zava D, McHale T. Testing Men's Hormone Responses to Playing League of Legends: No Changes in Testosterone, Cortisol, DHEA or Androstenedione but Decreases in Aldosterone. Computers in Human Behavior. 2018;83:230-4. doi: 10.1016/j.chb.2018.02.004.
13. 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. J Sci Med Sport. 2018 Jul;21(7):727-35. doi: 10.1016/j.jsams.2017.11.003.
14. Pimentel GD, Rosa JC, Lira FS, Zanchi NE, Ropelle ER, Oyama LM, et al. β-Hydroxy-β-methylbutyrate (HMβ) supplementation stimulates skeletal muscle hypertrophy in rats via the mTOR pathway. Nutr Metab (Lond). 2011 Feb 23;8(1):11. doi: 10.1186/1743-7075-8-11.
15. 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. Eur J Appl Physiol. 2014 Jun;114(6):1217-27. doi: 10.1007/ s00421-014-2854-5.

16. Teixeira F, Matias C, Monteiro C, Valamatos M, Reis J, Tavares F, et al. Leucine Metabolites Do Not Enhance Training-induced Performance or Muscle Thickness. Medicine and Science in Sports and Exercise. 2019;51(1):56-64. doi: 10.1249/MSS.0000000000001754.
17. 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 Dec 2;9(12):1316. doi: 10.3390/ nu9121316.
18. Correia ALM, de Lima FD, Bottaro M, Vieira A, da Fonseca AC, Lima RM. Pre-exercise β-hydroxy-β-methylbutyrate free-acid supplementation improves work capacity recovery: a randomized, double-blinded, placebo-controlled study. Appl Physiol Nutr Metab. 2018 Jul;43(7):691-696. doi: 10.1139/apnm-2017-0867.
19. 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. doi: 10.1249/MSS.0b013e318194cc75.
20. Coradini D, Orenti A, Venturelli E, Cavalleri A, Biganzoli E, Oriana S. Serum levels of testosterone and SHBG in association with body mass index improve the predictive capability of consolidate tumor biomarkers in pre-and postmenopausal breast cancer patients. Japanese Journal of Clinical Oncology. 2018;48(4):308-16. doi: 10.1093/jjco/ hyy012.
21. Chandler R, Byrne H, Patterson J, Ivy J. Dietary supplements affect the anabolic hormones after weight-training exercise. Journal of Applied Physiology. 1994;76(2):839-45. doi: 10.1152/jappl.1994.76.2.839
22. Volek JS. Influence of nutrition on responses to resistance training. Med Sci Sports Exerc. 2004 Apr;36(4):689-96. doi: 10.1249/01.mss.0000121944.19275.c4.
23. Durkalec-Michalski K, Jeszka J. The efficacy of a β-hydroxy-β-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;12(1):31. doi: 10.1186/s 12970-015-0092-9.
24. 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. Int J Endocrinol. 2015;2015:856708. doi: 10.1155/2015/856708.