

اثر تمرینات ترکیبی و مقاومتی بر میزان پپتید وابسته به ژن کلسی-تونین در عضلات کند و تند موش بالغ نژاد ویستار

عبدالحسین پرنو^۱، دکتر رضا قراخانلو^{۲*}، دکتر مهدی هدایتی^۳، دکتر رضا مهدیان^۴، زینب گرگین^۵

- ۱- دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی - دانشگاه تربیت مدرس
 - ۲- دانشیار - گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشگاه تربیت مدرس
 - ۳- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 - ۴- استادیار - گروه پزشکی مولکولی انستیتو پاستور ایران
 - ۵- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه الزهرا (س)
- *نویسنده مسئول: Email: ghara_re@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: پپتید وابسته به ژن کلسی-تونین (CGRP) یک نوروپپتید ۳۷ اسیدآمینهای است که تولید عمده آن در بافت‌های اعصاب مرکزی و محیطی گونه‌های مهره‌داران و غیرمهره-داران صورت می‌پذیرد. هدف از این تحقیق بررسی اثر تمرینات ترکیبی و مقاومتی بر میزان CGRP در عضلات کند و تند موش نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۳ سر موش نر ویستار (۱۰ ماه سن، خریداری شده از انستیتو پاستور) به‌طور تصادفی در سه گروه کنترل (n=۷)، تمرین مقاومتی (n=۸) و تمرین ترکیبی (مقاومتی - استقامتی) (n=۸) قرار گرفتند و برنامه تمرینی ۱۲ هفته‌ای را انجام دادند. در تمرین مقاومتی حیوانات مجبور بودند از یک فنس توری به ارتفاع ۲ متر بالا بروند که دو بطری آب در بالاترین نقطه آن قرار داده شده بود. گروه تمرین ترکیبی، ترکیبی از دو تمرین استقامتی (۵ روز در هفته، هر روز ۶۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه روی تردمیل) و مقاومتی را انجام می‌دادند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات بیهوش و عضلات نعلی (کند) و درشت نی قدامی (تند) جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۷۰- نگهداری شدند. اندازه‌گیری CGRP به روش الایزا انجام شد. آنالیز آماری داده با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه انجام شد.

نتایج: بین میزان CGRP عضله‌ی کند در گروه تمرین ترکیبی و گروه کنترل، همچنین بین میزان CGRP در گروه تمرینی مقاومتی و کنترل در هر دو نوع عضله تفاوت معنادار وجود داشت.

نتیجه‌گیری: تمرینات ترکیبی و مقاومتی موجب افزایش میزان CGRP عضلات شد. ظاهراً محتوای CGRP بیشتر به ماهیت فعالیت و احتمالاً شدت و مدت تمرین بستگی دارد تا نوع عضله، به‌طوری که تمرین مقاومتی موجب افزایش این نوروپپتید در عضلات کند و تند شده است. با توجه به نقش مهم CGRP در تجدید ساختار NMJ، این یافته‌ها از اهمیت زیادی برخوردارند.

واژگان کلیدی: CGRP، تمرین مقاومتی، تمرین ترکیبی، عضلات تند و کند

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال شانزدهم - شماره ۸۴
دی ۱۳۸۸

وصول: ۸۸/۷/۲۹

آخرین اصلاحات: ۸۸/۸/۹

پذیرش: ۸۸/۱۰/۹

مقدمه

پپتید وابسته به ژن کلسی تونین (CGRP) نوروپپتیدی است که در بیشتر نورون‌های حرکتی یافت می‌شود. این فاکتور با سرعتی بالغ بر یک میلی‌متر در ساعت از مناطق مرکزی عصب به سمت محیط حرکت کرده و در پایانه‌های عصبی آزاد می‌شود [۱]. فعالیت فزون یافته عصبی عضلانی در تنظیم مثبت CGRP نورون حرکتی نقش دارد. قطع طناب نخاعی نیز مقدار CGRP را بالا می‌برد [۲].

خانواده کلسی تونین شامل شش عضو شناخته شده: کلسی تونین^۱، پپتید وابسته به ژن کلسی تونین^۲ (CGRP) (نوع ۲ و ۱)، آمیلین^۳، آدرنومدولین^۴ [۳ و ۴] و ایترمدین^۵ [۵] است. این هورمون‌های پپتیدی در تکثیر، بقاء و انتقال سلولی درگیر هستند. این پپتیدها توالی آمینواسید و تشابهات ساختاری مشترک دارند، اما فعالیت‌های بیولوژیکی آنها متفاوت است [۳].

CGRP نوروپپتید ۳۷ اسید آمینه‌ای است که توسط فرایند ویژه بافتی از ژن کلسی تونین تولید می‌شود [۴ و ۶]. و تولید عمده آن در بافت‌های اعصاب مرکزی و محیطی است [۳، ۴ و ۷] که در سیستم‌های اعصاب مرکزی و محیطی انسان، خرگوش، موش، خوکچه هندی و دیگر گونه‌های پستانداران شناخته شده است [۷]. دو ژن برای CGRP وجود دارد: α -CGRP و β -CGRP [۶، ۷ و ۸]. پژوهش‌ها نشان می‌دهد، اشکال متفاوت CGRP، فعالیت-ها یا گیرنده‌های زیستی متفاوتی دارند [۷]؛ اما برخی از مطالعات اعتقاد دارند، CGRP آلفا و بتا، فعالیت‌های بیولوژیکی مشابهی دارند [۳]. در رت و انسان، توالی α -CGRP و β -CGRP به ترتیب در یک و سه اسید آمینه با هم تفاوت دارند [۱، ۳ و ۴].

در پستانداران، محل اصلی CGRP سیستم اعصاب مرکزی و محیطی است. این نوروپپتید در نورون‌های حرکتی مغز و سلول‌های شاخ قدامی طناب نخاعی

حضور دارد و اولین پپتیدی است که با استیل کولین در این مناطق شناخته شده است [۹]. مورا و همکاران (۱۹۸۹) برای اولین بار نشان دادند، CGRP در NMJ عضله بین دنده‌ای خارجی انسان حضور دارد [۱۰]. CGRP در صفحات انتهایی حرکتی^۱ [MEP] عضلات مخطط حضور داشته [۹] و در تکامل و عملکرد پیوندگاه عصبی عضلانی^۲ (NMJ) نیز دخالت دارد [۱]. علاوه بر این، CGRP در عملکردهای مختلف بیولوژیکی مانند ساختار و عملکرد عضله اسکلتی، پیوندگاه عصبی عضلانی [۱۲]، تنظیم فعالیت قلبی-عروقی [۴]، انبساط عضله صاف، تشکیل استخوان، افزایش کلسیم درون سلولی، سیستم ایمنی [۳، ۱۲ و ۱۳] در بافت‌های مختلفی شامل مغز، قلب، عضلات اسکلتی و صاف [۱۱] نقش دارد.

CGRP در مواقع عصب‌دهی مجدد در تنظیم رشد آکسونی دخالت دارد [۱] و در سطح حرکتی، می‌تواند فعالیت موتونورون‌های طناب نخاعی، تشکیل سیناپس عملکردی و Turn Over گیرنده‌های کولینرژیک وابسته به cAMP، در سطح NMJ را تعدیل کند [۱۰ و ۱۴].

مطالعات نشان داده‌اند، در سطح سلولی سازگاری به تمرین استقامتی متفاوت از سازگاری به تمرین مقاومتی است [۱۵ و ۱۶]. جدا از این دو نوع تمرین، سازگاری به تمرین همزمان (ترکیبی) نیز ممکن است متفاوت باشد. گلوواکی^۸ و همکاران (۲۰۰۴) که اثر تمرین ترکیبی را از بعد ساختاری مورد بررسی قرار دادند، نشان دادند، تمرین ترکیبی موجب افزایش وزن بدن همانند تمرین مقاومتی می‌شود [۱۵]. افزودن تمرین مقاومتی به برنامه‌های بدن‌سازی ورزشکاران استقامتی تمرین کرده یا افراد بی‌تحرک تهدیدی برای بهبود ظرفیت هوازی نیست. همچنین ترکیب این دو نوع تمرین، بهبود قدرت را به خطر نمی‌اندازد [۱۷]. علاوه بر این، گزارش شده است که افزایش فعالیت عصبی عضلانی بر ساختار NMJ تاثیر می‌گذارد. هر دو تمرین استقامتی (دویدن)

- 1- Calcitonin (CT)
- 2- Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP)
- 3- Amylin
- 4- Adrenomedullin (AM)
- 5- Intermedin

- 6- Motor End Plate (MEP)
- 7- Neuromuscular Junction (NMJ)
- 8- Glowacki. SH and et al (2004)

تمرینات اصلی آن‌ها شروع شد. این حیوانات به طور تصادفی به سه گروه کنترل، تمرین استقامتی و تمرین ترکیبی (مقاومتی - استقامتی) تقسیم شدند. حیوانات به صورت ۴ تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. آن‌ها در دمای اتاق ($22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند.

برنامه تمرین گروه مقاومتی: در این تحقیق، حیوانات به مدت ۱۲ هفته، براساس پروتکل استفاده شده در منابع قبلی، مجبور بودند از فنس سیمی اطراف قفسه بالا بروند [۲۲]. حیوانات این گروه در قفسه فلزی با تور سیمی که دو بطری آب در بالاترین ارتفاع آن قرار داده می‌شد، نگهداری شدند. به این ترتیب که، در روزهای ابتدایی بطری‌های آب در ارتفاع ۲۰ سانتیمتری قرار داده شد، اما به مرور زمان در طول ۱۰ روز، ارتفاع آن به دو متر (۲۰۰ سانتیمتر) رسانده شد. هدف از این کار، آشنا کردن حیوانات با پروتکل و بالا رفتن از فنس توری بود. به منظور اعمال اضافه بار در سه هفته پایانی، در وزنه‌ای معادل ۳۰ درصد وزن هر حیوان به دم آن‌ها بسته شد. جهت اطمینان از بالا رفتن حیوانات از قفس‌های مربوطه، هر دو هفته به مدت ۲۴ ساعت در خلال اجرای پروتکل، آنها با استفاده از دوربین ویدئویی کنترل می‌شدند.

برنامه تمرین گروه ترکیبی: در ارتباط با تمرین ترکیبی با حیوانات، پروتکلی در دسترس نیست، اما در مطالعات انسانی، پروتکل‌های مختلفی برای تمرین ترکیبی وجود دارد [۱۶]. بنابراین، با توجه به پروتکل‌های مختلف تمرین ترکیبی نمونه انسانی، محقق پروتکل زیر را طراحی کرد. با توجه به دوره تمرینی استقامتی (جدول ۱)، نمونه‌های حیوانی ۱۲ هفته و براساس پروتکل استقامتی ۵ روز در هفته تمرین استقامتی انجام می‌دادند و بعد از تمرین استقامتی در قفسه‌های توری قرار می‌گرفتند و براساس پروتکل مقاومتی، تمرین مقاومتی را نیز انجام دادند.

[۱۸] و تمرین مقاومتی (وزنه‌برداری) [۱۹] به گسترش معنادار مولفه‌های پیش و پس‌سیناپسی NMJ منجر می‌شوند. نتایج مطالعات نشان می‌دهد، افزایش و کاهش فعالیت به طور معناداری قادر به تغییرات ساختاری NMJ است [۲۰]. به عنوان مثال، اثرات ۱۰ هفته برنامه تمرینی که ویژگی‌های پیش‌سیناپسی محدود شده بود، به افزایش طول شاخه‌سازی پایانه عصبی و پیچیدگی الگوهای شاخه‌سازی آن‌ها منجر شد، اما اثرات تمرینات ترکیبی در این ناحیه بررسی نشده است. مطالب فوق اثر فعالیت‌های مختلف بر NMJ را بیان می‌کند و برخی مطالعات که مورفولوژی تار عضلانی و NMJ را بررسی کرده‌اند، بیان داشته‌اند، گسترش NMJ با نوع تار ارتباط دارد [۱۸، ۱۹ و ۲۰]. علاوه بر این، برخی مطالعات اثر فعالیت به شکل استقامتی و یا تمرین برون‌گرا را بر محتوای CGRP بررسی کرده‌اند [۲۱ و ۲۱]؛ هومونکو نشان داد که ۷۲ ساعت بعد از دویدن سرازیری، غلظت CGRP در نوروهای عضله دوقلو میانی افزایش می‌یابد. با وجود این، نوروپتیدهایی مانند CGRP و نوروپتید [NPY] Y در شرایط *in vivo* در عضله اسکلتی انسان کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۲۱] و در حال حاضر تحقیقی که اثر همزمان تمرین مقاومتی و استقامتی را بر میانجی‌هایی مانند CGRP عضله بررسی کرده باشد، در دسترس نیست. همچنین با توجه به اینکه نوع عضله (از بعد انقباض پذیری) در تغییرپذیری NMJ می‌تواند سهمیم باشد و از طرفی با توجه به نقش CGRP در NMJ، می‌توان تعامل نوع تار، نوع فعالیت و CGRP را در NMJ بررسی کرد. بنابراین، در این تحقیق دو نوع عضله‌ی کند و تند انقباض انتخاب شده‌است و اثر تمرینات متفاوت از نظر مقدار CGRP مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

در این پژوهش ۲۳ سر موش نر ویستار (۵ هفته سن خریداری شده از انستیتو پاستور)، بعد از ۴ هفته نگهداری و یک هفته عادت دادن به پروتکل‌های تمرینی، از هفته دهم (با میانگین وزن 220 ± 15 گرم)

برنامه تمرین استقامتی: در این تحقیق حیوانات ۱۲ هفته، هفته‌ای ۵ روز و هر روز حداکثر ۶۰ دقیقه روی تردمیل جوندگان (ساخت ایران) و با سرعت حداکثر ۳۰ متر در دقیقه (معادل ۷۰ تا ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) دویدند، به طوری که شدت و مدت تمرینی افزایش یافت (جدول ۱) [۲۳].

جدول ۱- پروتکل تمرین استقامتی

| هفته‌های تمرین | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ |
|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| مدت تمرین (دقیقه / روز) | ۳۰ | ۴۰ | ۴۵ | ۵۰ | ۵۵ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ |
| سرعت تردمیل (متر / دقیقه) | ۱۰ | ۱۰ | ۱۲ | ۱۶ | ۲۰ | ۲۵ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ |

استفاده شد. تمام عملیات آماری تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ و سطح معناداری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

میانگین وزن (گرم) حیوانات در هفته‌های اول و دوازدهم تمرینات در جدول ۲ ارائه شده است. در جدول ۳ ویژگی‌های کمی CGRP در عضلات نعلی و درشت نی قدامی در گروه‌های مختلف ارائه شده است.

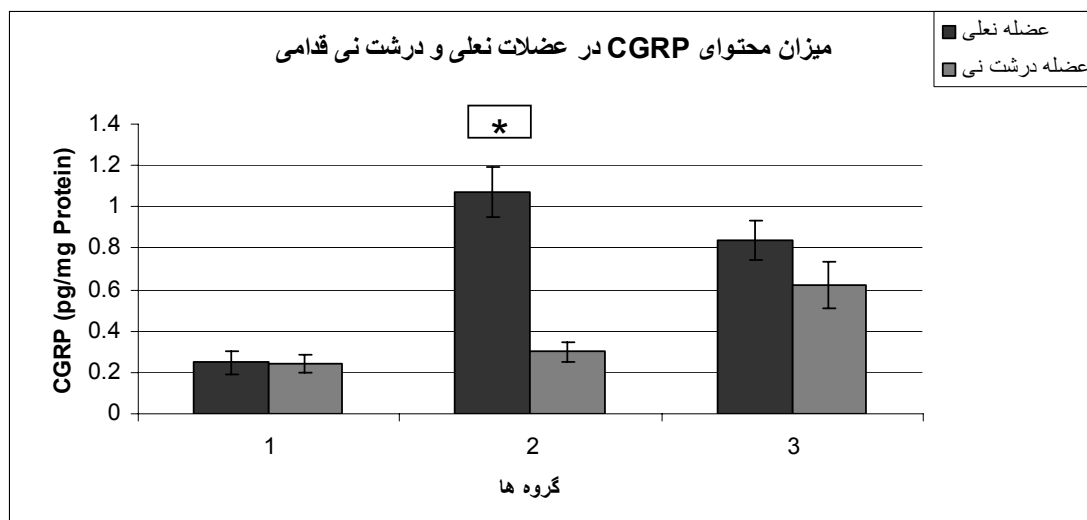
نتایج پژوهش نشان داد، در گروه کنترل (تمرین نکرده) بین میزان CGRP در عضلات تند و کند تفاوت معناداری وجود ندارد، اما در پی تمرینات مورد نظر، بین میزان CGRP در عضلات کند و تند گروه‌های تمرینی تفاوت وجود داشت که این تفاوت فقط در گروه تمرین ترکیبی معنادار بود ($p < 0/01$) (شکل ۱).

تحلیل واریانس یک‌طرفه در عضله نعلی نشان داد، تمرینات مختلف موجب افزایش این نوروپپتید در گروه‌های مختلف تمرینی شد ($p < 0/00$). به این ترتیب که آزمون تعقیبی توکی نشان داد، بین گروه‌های کنترل با تمرین ترکیبی ($p < 0/00$) و گروه‌های کنترل با تمرین مقاومتی تفاوت معنادار وجود دارد ($p < 0/02$)، اما بین گروه‌های تمرین ترکیبی و تمرین مقاومتی تفاوت معنادار مشاهده نشد ($p < 0/23$)، (شکل ۲).

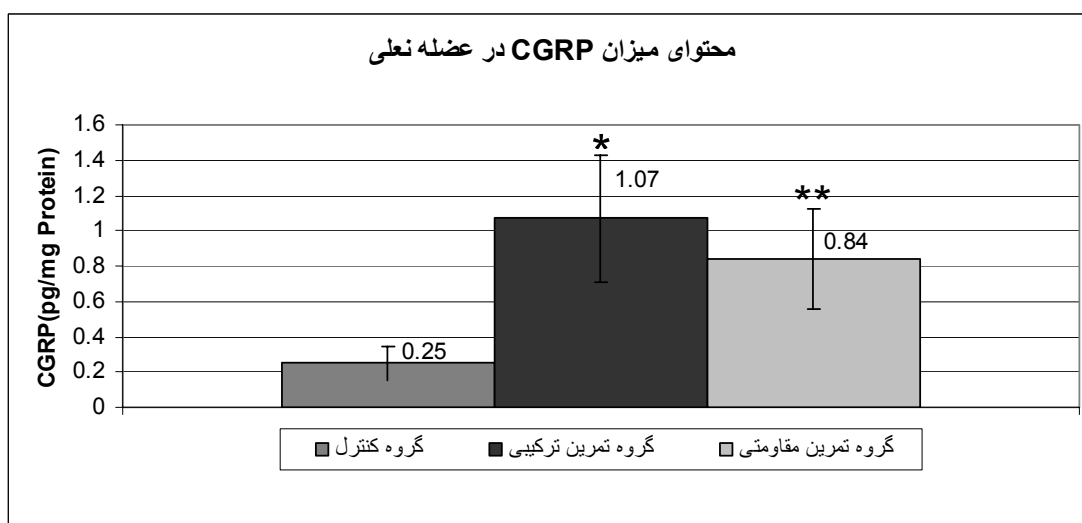
آماده‌سازی بافت: ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی حیوانات با ترکیبی از Ketamine [30-50 mg/kg w] و Xylazine 3-5mg/kg w بیهوش شدند [۲۴] و عضلات سولئوس (عضله کند) و درشت نی قدامی (AT، عضله تند) آن‌ها تحت شرایط استریل از طریق شکاف روی ناحیه پشتی جانبی اندام تحتانی جدا شدند. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و ضمن انتقال به آزمایشگاه در دمای -70°C تا زمان اجرای پروتکل مورد نظر (الایزا) نگهداری شد. بافت‌های مورد نظر با استفاده از هاون هموژن شدند و بافت هموژن شده در ویال‌های مربوطه و در دمای -70°C نگهداری شدند.

سنجش میزان CGRP: در این تحقیق میزان کمی پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین با روش سنجش ایمنی آنزیم دار (ELISA) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. کیت الایزای CGRP از کشور فرانسه (SPIbio, Massy Cedex, France) تهیه شد [۲۵]. حساسیت کیت مذکور 5 pg/ml و ضریب تغییر $7/9$ درصد بود. به منظور آماده‌سازی بافت مورد اندازه‌گیری، نخست 70 تا 100 میلی‌گرم از بافت مذکور با بافر فسفات سرد (اسیدیته $7/4$ و غلظت 10 میلی مولار) شست‌وشو و سپس در همان بافر با نسبت $1:10$ هموژنیزه شد. پس از 45 دقیقه سانتریفیوژ در دور $20,000$ میزان پپتید مورد نظر در محلول فوقانی اندازه‌گیری شد.

روش‌های آماری: برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. هر جا که لازم بود از آزمون تعقیبی توکی



شکل ۱- میزان CGRP در عضلات کند و تند: گروه کنترل [۱]، گروه ترکیبی [۲] و گروه مقاومتی [۳].
* بین میانگین میزان CGRP عضلات کند و تند گروه ترکیبی تفاوت معنادار وجود دارد ($p < 0.01$).



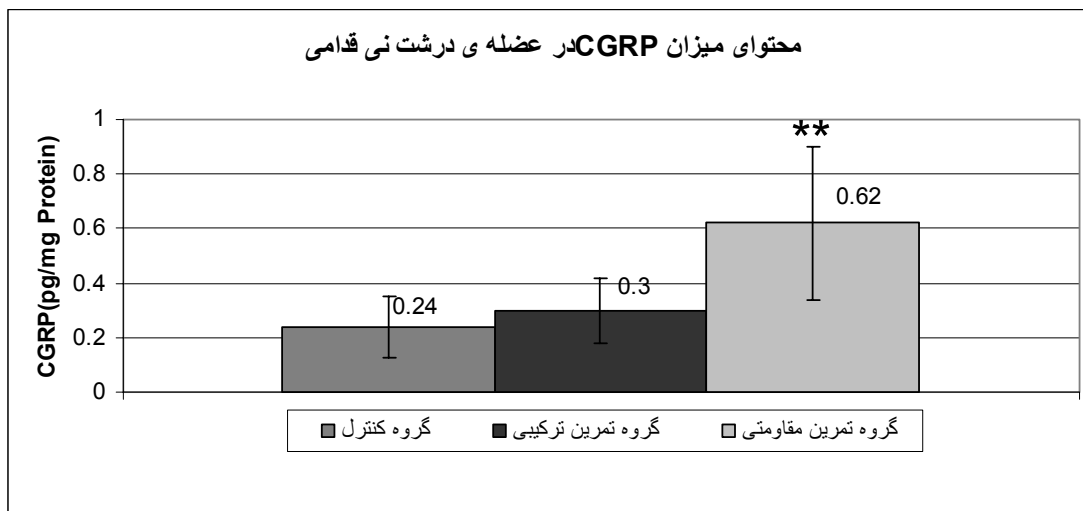
شکل ۲- میزان CGRP در عضلات نعلی در گروه‌های مختلف: گروه کنترل [چپ]، گروه تمرین ترکیبی (وسط) و گروه تمرین مقاومتی (راست).

* بین میانگین میزان CGRP عضله‌ی کند در دو گروه تمرین ترکیبی و کنترل تفاوت معنادار وجود دارد ($P < 0.02$).

** بین میانگین میزان CGRP عضلات کند در دو گروه تمرین مقاومتی و کنترل تفاوت معنادار وجود دارد ($P < 0.02$).

مقاومتی افزایش یافته و آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان CGRP در گروه تمرین مقاومتی با گروه کنترل ($p < 0.004$) و با گروه تمرین ترکیبی ($p < 0.018$) تفاوت معنادار وجود دارد (شکل ۳).

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد، تمرین ترکیبی موجب افزایش این نوروپپتید در عضله تند انقباض می‌شود؛ اما، این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود. این آنالیز نشان داد، میزان CGRP در گروه تمرین



شکل ۳- میزان CGRP در عضلات تند در گروه‌های مختلف: گروه کنترل [چپ]، گروه تمرین ترکیبی (وسط) و گروه تمرین مقاومتی (راست).

** بین میانگین میزان CGRP عضله ی تند در دو گروه تمرین مقاومتی و گروه کنترل تفاوت معنادار وجود دارد (0.04 < p) و بین میانگین میزان CGRP عضلات تند در دو گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرین ترکیبی تفاوت معنادار وجود دارد (0.018 < p).

بحث و نتیجه گیری

همکاران گزارش کردند، پایانه‌های عصبی پیش‌سیناپسی آن دسته از تارهای عضلانی که سطوح بالاتری از آنزیم‌های اکسایشی دارند و تارهایی که احتمالاً خیلی فعال هستند، محتوای CGRP پایین‌تری دارند [۶]، اما در تحقیق حاضر میزان CGRP در عضله تند انقباض کمتر از عضله کند انقباض گزارش شد. با توجه به عدم تفاوت در میزان CGRP دو عضله کند و تند در گروه کنترل، می‌توان احتمال داد که افزایش CGRP در نتیجه‌ی فعالیت بوده است و هر دو نوع عضله هم تقریباً بطور مشابه متاثر شده‌اند. در همین راستا، نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که با در نظر گرفتن تفاوت‌های نوع تار موجود در بین عضلات متنوع بدن؛ تظاهر CGRP مستقل از اندازه جسم سلولی، تعداد یا نوع تارهای عضلانی موجود در واحد حرکتی است. چنان‌که میزان تراکم مولکول‌های CGRP در عضله سولتوس کند تنش با CGRP موجود در عضلات کف پای، درشت نی قدامی و عضله دوقلویی که همگی واحد حرکتی تند تنش دارند، برابر می‌باشد [۸].

در این تحقیق که اثر تمرینات مقاومتی و ترکیبی (مقاومتی - استقامتی) بر میزان CGRP بررسی شد، مقدار این نوروپپتید در نتیجه تمرینات مقاومتی و ترکیبی در هر دو نوع عضله کند و تند انقباض افزایش یافت. نتایج این پژوهش، حضور CGRP در عضلات اسکلتی را نشان داد. مورا و همکاران (۱۹۸۹) برای اولین بار نشان دادند CGRP در NMJ عضله بین دنده‌ای خارجی انسان حضور دارد [۱۰]. مطالعات ایمونوسیتوشیمیایی و هیبریدشدگی^۱ در شرایط *in situ* که روی حیوانات انجام شد، نشان داد موتونورون‌های عضلات تند انقباض (FT) (مانند بازکننده طویل انگشتان) سطوح بالاتری از CGRP را نسبت به موتونورون‌های عصب‌دهنده عضلات کند انقباض (ST) (مانند عضله سولتوس) دارند. الگوی مشابه بیان CGRP در عضله مشاهده شد که در آن CGRP به‌طور برجسته در صفحات انتهایی حرکتی تارهای عضلانی FT یافت شد [۲۱ و ۲۷]. علاوه بر این، فرناندز و

بنابراین، تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد تمرین ترکیبی یک عامل تحریکی برای رهایش CGRP در عضله کند بیشتر از عضله تند بوده است، اما تمرین مقاومتی رهایش این نوروپپتید را هر دو عضله به‌طور معنادار افزایش داده است. یکی از دلایل این افزایش در گروه تمرین ترکیبی ممکن است به دلیل فشار تمرینی زیاد و آسیب احتمالی ناشی از این نوع فعالیت‌ها و نقش پررنگ‌تر بخش استقامتی از تمرین ترکیبی باشد، زیرا در این تحقیق، در برنامه تمرین ترکیبی حیوانات علاوه بر پروتکل استقامتی، در قفسه‌های فلزی مانند گروه مقاومتی قرار گرفتند و مجبور شدند از فنس توری بالا بروند. این نتایج همچنین نشان داد، میزان CGRP در گروه مقاومتی افزایش یافت و آزمون تعقیبی نشان داد، میزان CGRP در گروه تمرین مقاومتی با گروه کنترل ($p < 0/004$) و با گروه ترکیبی ($p < 0/018$) تفاوت دارد که از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۳). در برنامه تمرین مقاومتی نیز حیوانات بارها عمل رفت و برگشت را از فنس توری انجام دادند. به‌رغم این‌که تصور می‌شد، حیوانات گروه ترکیبی به دلیل تشنگی ناشی از فعالیت زیاد (انجام تمرینات استقامتی و مقاومتی) بیشتر از گروه مقاومتی از فنس توری بالا بروند، اما تجزیه و تحلیل ویدئویی نشان داد که گروه تمرین مقاومتی بیشتر از گروه تمرین ترکیبی صعود می‌کنند [به‌ترتیب؛ $47/33$ بار در مقابل $32/33$ بار رفت و برگشت برای هر گروه]. بنابراین، گروه مقاومتی اعمال مقاومتی بیشتری را نسبت به گروه ترکیبی انجام داده است. این موضوع نشان می‌دهد افزایش بار و شدت تمرین می‌تواند از عوامل تحریک‌کننده CGRP باشد. این توضیح لازم است، قراخانلو و همکاران به تازگی (۲۰۰۹) اثر تمرینات مقاومتی و استقامتی را بر میزان CGRP در عضلات کند و تند انقباض بررسی کردند (در دست چاپ). این محققان نشان دادند که تمرین استقامتی موجب افزایش CGRP در هر دو نوع عضله کند و تند انقباض می‌شود؛ برنامه تمرینی تحقیق قراخانلو و همکاران و عضلات مورد آزمایش مشابه تحقیق حاضر بود. با توجه به تحقیق

تحلیل داده‌های عضله کند (نعلی) نشان داد، بین گروه کنترل با گروه تمرین ترکیبی ($p < 0/00$) و گروه کنترل با گروه تمرین مقاومتی تفاوت معنادار وجود دارد ($p < 0/02$). نتایج نشان داد که هر دو تمرین مقاومتی و ترکیبی موجب افزایش CGRP در عضله‌ی کند می‌شوند، اما بین میزان CGRP در این دو گروه تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p < 0/23$). یکسان بودن میزان CGRP در عضلات کند و تند در حیوانات تمرین نکرده، کاهش یا ثبات سطوح این ماده در بزرگسالی، افزایش معنادار آن به دنبال قطع آکسونی، فلج عصبی [۹]، تغییر شکل NMJ و در مواقعی که تشکیل سیناپس ارجحیت پیدا می‌کند [۱]، عواملی هستند که به مؤثر بودن تمرین و فعالیت بدنی به‌عنوان یک عامل تحریکی برای رهایش CGRP از پایانه‌های عصبی اشاره می‌کند. بنابراین، هر عامل تحریکی که وضعیت عادی تارهای عضلانی، واحدهای حرکتی و سازمان NMJ را به هم بریزد، موجب افزایش این نوروپپتید می‌شود. تمام این حالات را می‌توان به بی‌ثباتی یا بهم خوردن وضعیت عادی عضله نسبت داد. تارابال و همکاران (۱۹۹۶) در تحقیقی به دنبال فلج کردن مشاهده کردند، CGRP در نخاع و در صفحات انتهایی حرکتی افزایش می‌یابد [۲۶]، اما قراخانلو و همکاران (۱۹۹۹) مشاهده کردند که مقدار CGRP به دنبال تمرین در سطح نخاع بالا می‌رود و در NMJ تا حدودی کم می‌شود [۱]. آن‌ها بیان کردند، کاهش و عدم کاهش CGRP در NMJ به فعالیت وابسته است و در حالت فلجی و تمرین، CGRP در نخاع افزایش می‌یابد. این افزایش در فلجی شاید به دلیل نبود NGF باشد، زیرا NGF تولید CGRP را کنترل می‌کند، اما افزایش ناشی از تمرین شاید به دلیل افزایش نیاز است و مکانیزم‌ها کاملاً جدا هستند [۲۶].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، تمرینات متفاوت اثرات متفاوتی بر میزان CGRP دارند. به‌عنوان مثال، تمرین ترکیبی موجب افزایش بیشتر CGRP در عضله نعلی نسبت به عضله درشت نی قداشت اما افزایش میزان CGRP در عضله تند از لحاظ آماری معنادار نبود.

فراخانلو و همکاران و نتایج تحقیق حاضر، می‌توان بیان کرد که تمرین ممکن است از عوامل تحریک کننده رهایش این نوروپپتید در عضله باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، افزایش CGRP در عضله کند همواره در گروه‌های تمرینی بالاتر از عضله تند است؛ اما، تفاوت این افزایش CGRP دو عضله در گروه تمرین ترکیبی از لحاظ آماری معنادار بود و در گروه تمرین مقاومتی معنادار نبود. این‌که چرا تغییرات CGRP در عضله کند بیشتر از عضله تند بوده است را می‌توان احتمالاً چنین توجیه کرد: ۱- عضله نعلی از عنصر استقامتی بیشتر متاثر شده است؛ ۲- احتمالاً در گروه تمرینی ترکیبی بخش تمرین استقامتی موثرتر از بخش تمرین مقاومتی بوده است، در نتیجه عضله کند تاثیر بیشتری را پذیرفته و تغییرات مقدار CGRP در این عضله نیز بیشتر بوده است؛ و ۳- ممکن است به دلیل مقاومتی بودن تمرین (نه قدرتی) گروه مقاومتی، شدت تمرین مقاومتی تا آن حد بالا نبوده که عضله درشت نی قدامی را (که درصد بالایی از عضلات IIb دارد) متاثر کند.

مطالعات نشان داده‌اند، CGRP در نتیجه آسیب عضلانی افزایش می‌یابد. به خوبی نشان داده شده است، تمرین برون‌گرا، اگر غیرمعمولی باشد، به دردناکی عضله [DOMS]^۱ بعد از سه روز منجر می‌شود [۲۷]. کشف CGRP بعد از فعالیت برون‌گرا که به دلیل شکست پروتئین‌های انقباضی آشکار شده است، می‌تواند برای انعکاس نقش این فاکتور تروفیکی در بازسازی بافت تصور شود. با توجه به این که افزایش در غلظت CGRP بعد از تمرین برون‌گرا همزمان با افزایش تجربه درد مشاهده شده، بنابراین ممکن است CGRP در تنظیم DOMS بعد از تمرین سنگین درگیر باشد که به نظر می‌رسد این عمل همزمان با فرایندهای انطباقی درگیر در ساخت دوباره پروتئین‌های عضله اتفاق افتد [۲۷]. هومونکو نیز نشان داد که ۷۲ ساعت بعد از دویدن سرازیری برون‌گرا، غلظت CGRP در نوروهای عضله

دوقلو میانی افزایش می‌یابد [۲۱]. مطالعه جان‌هاگن [۲۰۰۶] نشان داد CGRP را می‌توان در عضله اسکلتی انسان بعد از تمرین برون‌گرا و با استفاده از تکنیک میکرودیالیز همراه با رادیوایمنوآسای، آنالیز کرد. غلظت قابل کشف CGRP عضله اسکلتی در اغلب نمونه‌ها یافت شد. افزایش قابل تشخیص CGRP مشاهده شده بعد از تمرین برون‌گرا، با افزایش تجربه درد ارتباط داشت. افزایش سطوح درد (DOMS) به دریافت غلظت-های افزایش یافته CGRP ارتباط دارد.

علاوه بر این، CGRP دارای فعالیت نوروتروفیکی و نوروتروپیکی^۲ است [۲۸]. به این معنا که CGRP یک سیگنال تروفیکی مهم برای تکامل، تمایز و حفظ سلول-های عضلانی و اتصالات عصبی عضلانی و برای تنظیم رشد عصبی درون عضلانی است. می‌توان بیان کرد که اصولاً این پپتید یکی از عناصر اصلی برای حفظ ساختار و عملکرد هر دو نوع تار به شمار می‌رود. تاربال^۳ و همکاران (۱۹۹۶) بیان کردند، تغییرات CGRP موتونورونی با رشد آکسونی و شکل‌پذیری سیناپس عصبی عضلانی ارتباط نزدیک دارد [۲۶]. بنابراین، افزایش میزان CGRP در نتیجه تمرینات ممکن است به دلیل نقش تروفیکی آن در شکل‌پذیری سیناپسی و سنتز عناصر موجود در منطقه سیناپس باشد زیرا یکی از نقش‌هایی که برای CGRP در نظر گرفته‌اند، افزایش سنتز گیرنده‌های استیل‌کولینی در این ناحیه است. مطالعه گرگین و همکاران و رجیبی و همکاران در نتیجه تمرینات مشابه با تحقیق حاضر، افزایش معنادار این گیرنده‌ها را گزارش کرد [داده‌ها بعداً منتشر خواهد شد]. به‌طور خلاصه، می‌توان بیان کرد، فعالیت و تحریک مهم‌ترین عامل تولید CGRP در موتونورن‌های وابسته به این عضلات و سپس تحریک رهایش CGRP از پایایانه-های عصبی در تارهای عضلانی است که وضعیت عادی آن‌ها را برهم زده است. فعالیت بدنی، میزان رهایش CGRP را افزایش می‌دهد، اما میزان این افزایش به

1- Nerutrophic and Neurotropic

2- Tarabal et al, 1996.

1- Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS)

تغذیه‌ای را از عناصر ضروری برای تمامی واحدهای حرکتی به شمار آورد و البته با توجه به ابهامات موجود، لازم است که تحقیقات بیشتری صورت پذیرد تا نتایج آنها می‌تواند افق‌های جدیدی را در مداخلات درمانی برای اصلاح اثرات ناشی از انواع بی‌ثباتی‌ها در عملکرد عصب و عضله پیش روی ما بگشاید.

ماهیت فعالیت و شدت آن ارتباط دارد. برخلاف برخی مطالعات قبلی که میزان CGRP را در عضلات تند بیشتر گزارش کردند، در این تحقیق میزان CGRP در عضلات کند بیش‌تر از عضلات تند بود. این افزایش حتی در گروه تمرین مقاومتی نیز مشاهده شد. اما، به دلیل تغییر فراوان در میزان این نوروپپتید و حضور آن در بافت‌های مختلف، احتمالاً باید این فاکتور

جدول ۲- میانگین وزن [گرم] در هفته‌های اول و دوازدهم در گروه‌های مختلف

| مقاومتی | ترکیبی | کنترل | گروه‌ها / هفته |
|---------|--------|--------|----------------|
| ۲۵۲/۴ | ۲۳۹/۷ | ۲۴۵/۳۷ | هفته اول |
| ۳۳۹/۶۶ | ۲۹۹/۶۲ | ۳۳۶/۸۷ | هفته دوازدهم |

جدول ۳- میزان CGRP در عضلات مختلف و گروه‌های مختلف بر حسب pg/mg پروتئین

| انحراف معیار | میانگین | بیشترین | کمترین | تعداد | عضله- گروه |
|--------------|---------|---------|--------|-------|-------------------|
| ۰/۱۳ | ۰/۲۵ | ۰/۴۳ | ۰/۰۷ | ۷ | نعلی - کنترل |
| ۰/۳۶ | ۱/۰۷ | ۱/۷۹ | ۰/۵۵ | ۸ | نعلی - ترکیبی |
| ۰/۲۷ | ۰/۸۴ | ۱/۲۶ | ۰/۴۹ | ۸ | نعلی - مقاومتی |
| ۰/۱۲ | ۰/۲۳ | ۰/۴۴ | ۰/۱۴ | ۸ | درشت‌نی - کنترل |
| ۰/۱۲ | ۰/۳۰ | ۰/۴۲ | ۰/۱۵ | ۷ | درشت‌نی - ترکیبی |
| ۰/۲۹ | ۰/۶۲ | ۱/۰۱ | ۰/۲۳ | ۷ | درشت‌نی - مقاومتی |

منابع

- 1- Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P., Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience.*, 1999, 89[4]: 1229-39.
- 2-Roya Yaraee, Massoumeh Ebtekar, Abolhassan Ahmadiani, and Farzaneh Sabah, Effect of Neuropeptides [SP and CGRP] on Antigen Presentation by Macrophages *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2005, 27:395-404.
- 3- David R. Poyner, Patrick M. Sexton, Ian Marshall, David M. Smith, Remi Q, Walter Born, Roman Muff, Jan A. Fischer, and Steven M. Foord, International Union of Pharmacology. XXXII. The Mammalian Calcitonin Gene-Related Peptides, Adrenomedullin, Amylin, and Calcitonin Receptors, *Pharmacol Rev*, 2002, 54:233-246.
- 4-Esfandiyari Tuba, Wallace K. Macnaughton, Remi Q., Serge ST. Pierre, Jean-Louis J, and Keith A. Sharkey, A novel receptor for calcitonin gene-related peptide [CGRP] mediates secretion in the rat colon: implications for secretory function in colitis, *FASEB J.*, 2000, 14, 1439-1446.
- 5- Meghan M. Taylor, Sara L. Bagley, and Willis K, Intermedin/ Adrenomedullin-2 Inhibits Growth Hormone Release from Cultured, Primary Anterior Pituitary Cells, *Endocrinology*, 2006, 147[2]:859-864.
- 6- Fernandez HL, Chen M, Nadelhaft I, Durr JA., Calcitonin gene-related peptides: their binding sites and receptor accessory proteins in adult mammalian skeletal muscles. *Neuroscience*, 2003, 119[2]: 335-45.
- 7- Susan D. Brain & Helen M. Cox, Neuropeptides and their receptors: innovative science providing novel therapeutic targets, *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147, S202-S211.
- 8-Pan-Yue Deng, Yuan-Jian Li, Calcitonin gene-related peptide and hypertension, *Peptides*, 2005, 26, 1676-1685.
- 9- Ohhashi. T, Effects of calcitonin gene related peptide on neuromuscular transmission in Isolated rat diaphragm, *Peptides*, 1988, 9, 613-617.
- 10- Mora. M, Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity at the human neuromuscular junction, *Brain Res*, 1989, 492, 404-407.
- 11- Ole Bøkggaard Nielsen, Linda Hilsted and Torben Clausen, Excitation-induced force recovery in potassium-inhibited rat soleus muscle, *Journal of Physiology*, 1998, 512.3, pp. 819- 829.
- 12- Andrew F. Russo, Differential Regulation of the Coexpressed Calcitoninla-CGRP and 8-CGRP Neuroendocrine Genes, *The Journal of Biological Chemistry*, 1988, Vol. 263, No. 1, Issue of Janua 5, pp. 543, Yrinted in U.S.A.
- 13- Douglas M. Burns, Lisa Stehno-Bittel, and Tomoyuki Kawase, Calcitonin gene-related peptide elevates calcium and polarizes membrane potential in MG-63 cells by both cAMP-independent and -dependent mechanisms, *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287: C457-C467.
- 14- Fernandez HL, Ross GS, Nadelhaft, Neurogenic calcitonin gene-related peptide: a neurotrophic factor in the maintenance of acetylcholinesterase molecular forms in adult skeletal muscles. *Brain Res*, 1999, 844:83-97.
- 15- Glowacki. S.P., Martine S. E., Maurer A., Effects of resistance, endurance, and concurrent exercise on training outcomes in men, *Med. Sci. Sport Exerc*, 2004, vol. 36, 12, 2119- 2127.
- 16- Michael leveritt, Peter J. Abernethy, Benjamin K. Barry and peter A. Logan, Concurrent strength and endurance training, *Sport med*, 1999, Dec; 28[6]: 413-427.
- 17- Haffman, J., Physical aspects of sport training and performance, *Human Kinetics*, 2002, Translated by Aghaalienejad H., and Sori Rahman., 2003, Donyaie harakat Publication.
- 18- Mohamed A. Fahim, Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/ 6NNia aging mice, *J Appl Physiol*, 1997, 83:59-66.
- 19-Michael R. Deschenes et al, Effects of Resistance Training on Neuromuscular Junction Morphology, *Muscle Nerve*, 2000, 23: 1576-1581.
- 20- Deschenes M. R., Tenny K. A. and Wilson M. H., Increased and Decreased activity elicits specific morphological adaptations of the neuromuscular junction, *Neuroscience*, 2006, 37,1277-1283.
- 21- Homonko DA, Theriault., Downhill running preferentially increases CGRP in fast glycolytic muscle fibers. *J Appl Physiol*, 2000, 89[5]: 1928-36.
- 22- Takuya Notomi, Yuichi O, Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in orchidectomized growing rats, *J Appl Physiol*, 2002, 93: 1152-1158.
- 23- Joo Y.-I., a Sone T, Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats, *Bone*, 2003, 33 , 485-493.
- 24- Ghanbari-Niaki Abbass, Khabazian Behzad Mehdi, Hossaini-Kakhak Seyed Alireza, Rahbarizadeh Fatehmeh, Hedayati Mehdi, Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 361, 841-846.
- 25-Kamiya Hideki, Zhang Weixian, Ekberg Karin, Wahren John, and Sima1 Anders A.F, C-Peptide Reverses Nociceptive Neuropathy in Type 1 Diabetes, *Diabetes*, 2006, 55:3581-3587.
- 26- Tarabal. O, Regulation of Motoneuronal calcitonin gene related peptide [CGRP] during Axonal growth and neuromuscular synaptic plasticity induced by botulinum toxin in rats, *European Journal of Neuroscience*, 1996, 8, 829-836.
- 27- Jonhagen S, Ackermann P, Saartok T, P Renstrom A, Calcitonin gene related peptide and neuropeptide Y in skeletal muscle after eccentric exercise: a microdialysis study, *Br J Sports Med*, 2006, 40:264-267.
- 28- Tasatsaris. V, Calcitonin gene-related peptide [CGRP] and CGRP receptor expression at the huoman implantation site, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2002, 87[9], 4383-4390.
- 29- Leonid L, Nikitenko, Nicola Bluche, Adrenomedullin and CGRP interact with endogenous calcitonin-receptor-like receptor in endothelial cells and induce its desensitization by different mechanisms, *Journal of Cell Science*, 2006, 119, 910-922.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Sixteenth Year, No.84
December, January
2009-2010*

Received: 2009/10/21

Last revised: 2009/11/29

Accepted: 2009/12/30

Effects of Concurrent and Resistance Training on Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Content in Slow and Fast Muscles of Adult Wistar Rats

Parnow A.¹, Gharakhanlou,^{*2} R, Hedayati, M.³, Mahdian,R.⁴ and Gorgin⁵, Z.

1. M.S. of sports physiology-Tarbiat Modares University, Tehran
2. Associate Professor- Sports Dept, Humanities Faculty. Tarbiat Modares University, Tehran
3. Assistant Professor. Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran
4. Assistan Profosser. Molicule Medicine. Iran Pastor Institute
5. M.S. of Sports Physiology. Alzahra University, Tehran

Email: ghara_re@modares.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), a 37-amino acid peptide, is broadly distributed in the peripheral and central nervous systems of vertebrate and invertebrate species. The purpose of the present study was to investigation the effects of Concurrent (Resistance and Endurance) and Resistance Training on the content of CGRP in Slow and Fast Muscles of Adult Wistar Rats.

Materials and Methods: Twenty -three male Wistar rats (10 mo of age, 220 ± 15 gr, Iran Pasteur Institute) were randomly divided in to three groups (control (n=7), concurrent training (n=8), and resistance training (n=8)). They completed 12 weeks of training according to protocols. Animals of the resistance group were placed in metal cage with a wire-mesh tower, with two water bottles set at the top. Concurrent group completed a combination of both resistance and endurance trainings (5 days a week, 60 min/day, 30 m/min speed). Forty-eight hours after the last session of protocols, animals were anaesthetized. The right Soleus (as slow muscle) and Anterior Tibialis (as fast muscle) were removed under sterile condition via an incision on dorsolateral of the hindlimb. The tissues were removed quickly and freezed in liquid Nitrogen and were kept at -70 ° C for later usage. For CGRP assay, ELISA kit was used. One-way ANOVA was used to analyze the data.

Results: There was a significant difference between the control and concurrent training groups in slow muscle CGRP content. Moreover, the content of CGRP in both fast and slow muscles was significantly different when resistance training group was compared with the control group.

Conclusion: Both resistance and concurrent training increased the content of CGRP in the fast and slow muscles. Therefore, CGRP increase depends on the nature of activity and probably its duration and intensity, more than muscle type. The results should be considered, in the role of CGRP in NMJ remodeling.

Key words: CGRP, Concurrent Training, Resistance Training, Fast and Slow Muscles.