

## اثر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی بر میزان پپتید مرتبط با ژن کلسی‌تونین در عضلات کند انقباض و تند انقباض موش صحرایی

دکتر رضا قراخانلو<sup>۱</sup>، عبدالحسین پرنو<sup>۱</sup>، دکتر مهدی هدایتی<sup>۲</sup>، دکتر رضا مهدیان<sup>۳</sup>، سمیه رجبی<sup>۴</sup>

۱) گروه تربیت بدنی، دانشگاه تربیت مدرس، ۲) مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۳) گروه پزشکی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، ۴) دانشگاه الزهرا (س)، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده‌ی علوم انسانی، گروه تربیت بدنی، دکتر رضا قراخانلو، e-mail: ghara\_re@modares.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** پپتید مرتبط به ژن کلسی‌تونین (CGRP) یک نوروپپتید ۳۷ اسید آمینه‌ای است که توسط فرایند ویژه‌ی بافتی از ژن کلسی‌تونین تولید می‌شود و تولید عمده‌ی آن در بافت‌های اعصاب مرکزی و محیطی گونه‌های مهره‌داران و غیرمهره‌داران است. CGRP در سازگاری‌های پیوندگاه عصبی - عضلانی نقش مهمی دارد. در این پژوهش اثر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی بر میزان CGRP در عضلات تند انقباض (درشت نی قدامی) و کند انقباض (نعلی) بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** ۲۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (۱۰ ماهه و خریداری شده از انستیتو پاستور) به طور تصادفی در سه گروه شاهد (۷=تعداد)، تمرین استقامتی (۷=تعداد) و تمرین مقاومتی (۸=تعداد) قرار گرفتند. تمرین استقامتی شامل دویدن روی نوارگردان به مدت ۵ روز در هفته و هر روز ۶۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه و تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از فنس توری با ارتفاع ۲ متر به مدت ۱۲ هفته بود. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات بیهوش شدند و عضلات نعلی و درشت نی قدامی جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع، منجمد و بعد از آن در دمای ۷۰- درجه نگهداری شدند. اندازه‌گیری CGRP به روش الایزا انجام شد. یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه انجام شد. یافته‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در نتیجه‌ی تمرین استقامتی در عضلات تند انقباض و کند انقباض در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد، اما تمرین مقاومتی موجب افزایش محتوای CGRP در عضلات کند انقباض و تند انقباض نسبت به گروه شاهد شد. نتیجه‌گیری: تمرین می‌تواند عامل مهمی در ره‌ایش نوروپپتید CGRP باشد. علاوه بر این، احتمالاً نوع و شدت فعالیت در مقدار CGRP سهیم است، به طوری که تمرین مقاومتی موجب افزایش آن در هر دو نوع عضله شد. با توجه به نقش شناخته شده‌ی این نوروپپتید در NMJ و مطالعه‌های پیشین که حاکی از افزایش مقدار CGRP در پی تمرین در موتونورون‌ها بود، یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حائز اهمیت است.

**واژگان کلیدی:** پپتید مرتبط به ژن کلسی‌تونین (CGRP)، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، عضلات تند انقباض و کند انقباض،

موش صحرایی

دریافت مقاله: ۸۷/۱۱/۱۴ دریافت اصلاحیه: ۸۸/۲/۱۴ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۱۶

## مقدمه

مخطط حضور دارد<sup>۱۱</sup> و در تکامل و عملکرد NMJ نیز دخالت دارد.

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تمرین استقامتی موجب افزایش در دانسیته‌ی مویرگی، گلیکوژن درون عضلانی، آنزیم‌های چرخه‌ی کربس و زنجیره‌ی انتقال الکترون و ظرفیت هوازی بیشینه می‌شود. در مقابل، تمرین مقاومتی اثر متفاوتی دارد. بنابراین سازگاری به این دو نوع تمرین به‌طور معمول با هم تفاوت دارد.<sup>۱۲،۱۳</sup> دشین و همکاران (۲۰۰۶) اثر افزایش و کاهش فعالیت را بر سازگاری‌های ساختاری NMJ بررسی کردند. در مقایسه با گروه شاهد، در حیوانات تمرین کرده طول کلی شاخه‌های پیش‌سیناپسی بیشتر بود.<sup>۱۵</sup> گزارش شده است که افزایش فعالیت عصب عضلانی بر ساختار NMJ تأثیر می‌گذارد. قراخانلو و همکاران محتوای CGRP در اثر تمرین استقامتی را بررسی کردند.<sup>۱۶</sup> این پژوهشگران گزارش کردند که میزان این نوروپپتید در موتونورون‌های آلفا افزایش و در NMJ کاهش می‌یابد. هومونکو هم نشان داد که ۷۲ ساعت بعد از دویدن سرازیری برون‌گرا، غلظت CGRP در نورون‌های عضله‌ی دوقلوی میانی افزایش می‌یابد.<sup>۱۷</sup>

بنابراین، با توجه به مطالب فوق و یافته‌های مطالعه‌های قبلی می‌توان بیان کرد، CGRP در نتیجه‌ی آسیب یا التهاب و یا هر عامل دیگری که بی‌ثباتی در NMJ را موجب می‌شود، تغییر می‌کند. در این بین نقش فعالیت بدنی و تمرین‌های مختلف که موجب تغییر شکل NMJ می‌شوند، از اهمیت خاصی برخوردار هستند. از طرف دیگر، هر شکلی از دخالت تجربی که ارتباط بین عصب حرکتی و NMJ را مختل کند، از نظر جراحی یا داروشناختی منجر به تنظیم مثبت پپتید CGRP و یا mRNA آن می‌شود. بنابراین، مطالب فوق بیان می‌کند که CGRP در نتیجه‌ی تغییر شکل NMJ حضور می‌یابد. علاوه بر این، در سطح حرکتی، CGRP می‌تواند تشکیل سیناپس عملکردی و turn over گیرنده‌های کولینرژیک را در حالت وابسته به cAMP، در سطح NMJ تعدیل کند.  $\alpha$ -CGRP یک عامل تغذیه‌ای<sup>viii</sup> پیش‌رونده‌ی درگیر در کنترل ساخت و عملکرد AchR و سایر مولکول‌های وابسته به Ach در NMJ است.<sup>۵،۹،۱۷،۱۸</sup>

با توجه به نقش CGRP در NMJ، می‌توان تعامل نوع تار، نوع فعالیت و CGRP را در NMJ بررسی کرد. تا کنون چنین

خانواده‌ی کلسی‌تونین شامل شش هورمون شناخته شده‌ی زیر است: کلسی‌تونین<sup>i</sup>، پپتید مربوط به ژن کلسی‌تونین (CGRP) (نوع ۱ و ۲)، آمیلین<sup>iii</sup>، آدرنومدولین<sup>iv</sup> و اینترمدین<sup>v</sup> (که اخیراً کشف شده است).<sup>۳،۴</sup> این هورمون‌های پپتیدی در تکثیر، بقا و انتقال سلولی درگیر هستند.<sup>۲</sup> این پپتیدها توالی آمینواسیدی و شباهت‌های ساختاری مشترک دارند، اما فعالیت‌های بیولوژیک متفاوتی ارائه می‌دهند.<sup>۲</sup>

CGRP یک نوروپپتید ۳۷ اسید آمینه‌ای است که توسط فرایند ویژه‌ی بافتی از ژن کلسی‌تونین تولید می‌شود.<sup>۱۵</sup> و تولید عمده‌ی آن در اعصاب مرکزی و محیطی است.<sup>۶-۸</sup> که در سیستم‌های عصبی مرکزی و محیطی انسان، خرگوش، موش و دیگر گونه‌های پستانداران شناخته شده است.<sup>۸</sup> دو ژن برای CGRP وجود دارد:  $\alpha$ -CGRP و  $\beta$ -CGRP.<sup>۵،۹</sup> پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اشکال متفاوت CGRP، فعالیت‌ها و گیرنده‌های زیستی متفاوتی دارند؛<sup>۵</sup> اما، برخی از مطالعه‌ها گزارش کرده‌اند که CGRP آلفا و بتا، فعالیت‌های بیولوژیک مشابهی دارند.<sup>۲</sup> در موش صحرائی و انسان، توالی  $\alpha$ -CGRP و  $\beta$ -CGRP به ترتیب در یک و سه اسید آمینه با هم تفاوت دارند.<sup>۱۲،۵</sup>

CGRP در عملکردهای مختلف بیولوژیک مانند ساختار و عملکرد عضله‌ی اسکلتی، پیوندگاه عصبی - عضلانی،<sup>۶</sup> تشکیل استخوان، افزایش کلسیم درون سلولی و فرایندهای ترشحی مختلف؛<sup>۳،۶،۱۰</sup> در بافت‌های مغز، قلب و عضلات اسکلتی<sup>v</sup> نقش دارد. بنابراین، محل اصلی CGRP سیستم اعصاب مرکزی و محیطی است و در نورون‌های حرکتی مغز و سلول‌های شاخ قدامی طناب نخاعی حضور دارد. پژوهشگران نشان داده‌اند که CGRP اولین پپتیدی است که با استیل‌کولین در این مناطق شناخته شده است.<sup>۱۱</sup> مورا و همکاران (۱۹۸۹) برای اولین بار نشان دادند که CGRP در پیوندگاه عصبی عضلانی (NMJ)<sup>vi</sup> عضله‌ی بین دنده‌های خارجی انسان حضور دارد.<sup>۱۲</sup> CGRP در صفحه‌های انتهایی حرکتی (MEP)<sup>vii</sup> عضلات

i - Calcitonin (CT)

ii - Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP)

iii - Amylin

iv - Adrenomedullin (AM)

v - Intermedin

vi - Neuromuscular Junction (NMJ)

vii - Motor End Plate (MEP)

viii - Trophic Factor

دو هفته به مدت ۲۴ ساعت در خلال اجرای پروتکل، حیوانات با استفاده از دوربین ویدئویی کنترل شدند.

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین حیوانات با ترکیبی از کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زیلازین (۳-۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند<sup>۲۱</sup> و عضلات سولئوس (عضله‌ی کندانقباض) و درشت‌نی قدامی<sup>ii</sup> (AT) (عضله‌ی تندانقباض) در شرایط استریل از طریق شکاف روی ناحیه‌ی پشتی - جانبی اندام پشتی - تحتانی جدا شدند. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه در دمای -۷۰ درجه تا زمان اجرای پروتکل مورد نظر نگهداری شد. بافت‌های مورد نظر با استفاده از هاون هموژن شدند و بافت هموژن شده در ویال‌های مربوط و در دمای -۷۰ درجه نگهداری شدند.

در این مطالعه میزان کمی پپتید مرتبط با ژن کلسی‌تونین (CGRP) با روش الایزا (ELISA) اندازه‌گیری شد. کیت مذکور از کشور فرانسه (SPIbio, Massy Cedex, France) تهیه شد.<sup>۲۲</sup> حساسیت کیت مذکور ۵ pg/mL و ضریب تغییرات درون آزمونی ۷/۹ درصد تعیین شد. خوانش یافته‌های کیت الایزا توسط دستگاه خوانشگر الایزا (مدل سان‌رایز، کمپانی تکن، اتریش، ELISA Reader, Sun Rise Model, TECAN Co, Austria) انجام شد. به منظور آماده‌سازی بافت مورد اندازه‌گیری، ابتدا ۷۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت مذکور با بافر فسفات سرد (اسیدیته ۷/۴ و غلظت ۱۰ میلی‌مولار) شستشو داده شد و سپس در همان بافر با نسبت ۱:۱۰ هموژنیزه گردید. پس از ۴۵ دقیقه سانتریفوژ در ۲۰/۱۰۰ دور میزان پپتید مورد نظر در محلول فوقانی اندازه‌گیری شد.

پس از کسب اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. هر جا که لازم بود از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۵ انجام و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

مطالعه‌ای انجام نشده است و مطالعه‌های کمتری به بررسی تمرین‌های مختلف بر میزان CGRP در عضله پرداخته‌اند. به این منظور، پژوهشگران در این مطالعه دو نوع عضله‌ی متفاوت را انتخاب و اثر تمرین‌های متفاوت را بر میزان CGRP بررسی کردند.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۲۲ سر موش نر از نژاد ویستار<sup>۱</sup> ۵ هفته سن با میانگین وزن  $20 \pm 220$  گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند که بعد از ۴ هفته نگهداری و یک هفته عادت کردن به پروتکل‌های تمرینی، از هفته‌ی دهم تمرین‌ها را آغاز کردند. این حیوانات به طور تصادفی به سه گروه شاهد، تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی تقسیم شدند. حیوانات در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. آن‌ها در دمای اتاق ( $22 \pm 1/4$  درجه‌ی سانتی‌گراد) و چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند.

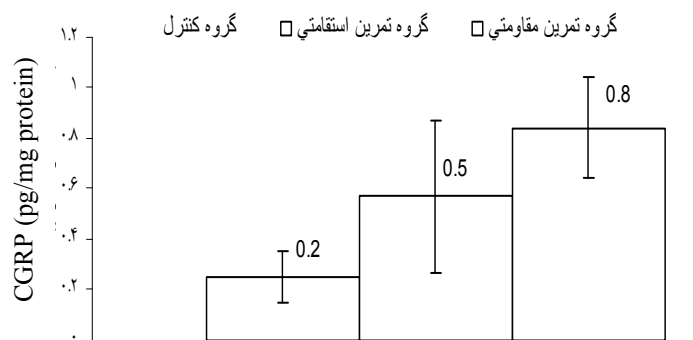
**برنامه‌ی تمرین استقامتی:** در این برنامه، حیوانات ۱۲ هفته، هفته‌ای ۵ روز و هر روز حداکثر ۶۰ دقیقه روی نوارگردان چونندگان (ساخت ایران) و با سرعت حداکثر ۳۰ متر در دقیقه (معادل ۷۰ تا ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) دویند، به‌طوری که شدت و مدت تمرین افزایش یافت.<sup>۱۹</sup>

**برنامه‌ی تمرین گروه مقاومتی:** در این برنامه حیوانات به مدت ۱۲ هفته، بر اساس پروتکل استفاده شده در منابع قبلی، مجبور بودند از فنس سیمی اطراف قفس‌شان بالا بروند.<sup>۲۰</sup> حیوانات این گروه در قفسه فلزی با تور سیمی که دو بطری آب در بالاترین ارتفاع آن قرار داشت، نگهداری شدند. به این ترتیب که در روزهای ابتدایی بطری‌های آب در ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری قرار داده شد، اما به مرور زمان و در طول ۱۰ روز ارتفاع آن به دو متر (۲۰۰ سانتی‌متر) رسید. هدف از این کار آشنا کردن حیوانات با پروتکل و بالا رفتن از فنس توری بود. به منظور اعمال اضافه بار در سه هفته‌ی پایانی، ۳۰ درصد وزن هر حیوان به دم آن‌ها وزنه بسته شد. برای اطمینان از بالا رفتن حیوانات از قفس‌های مربوطه، هر

ii - Anterior Tibialis (AT)

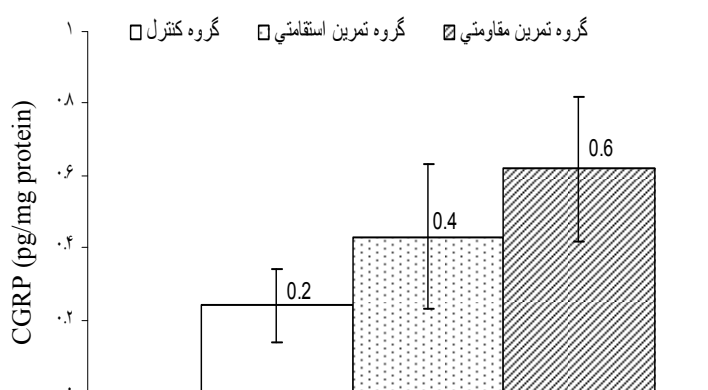
i - Wistar

## یافته‌ها



نمودار ۲- مقدار CGRP در عضله‌ی کند انقباض در گروه‌های مختلف. \* بین گروه تمرین مقاومتی با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $P < 0.04$ ) (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد می‌باشد).

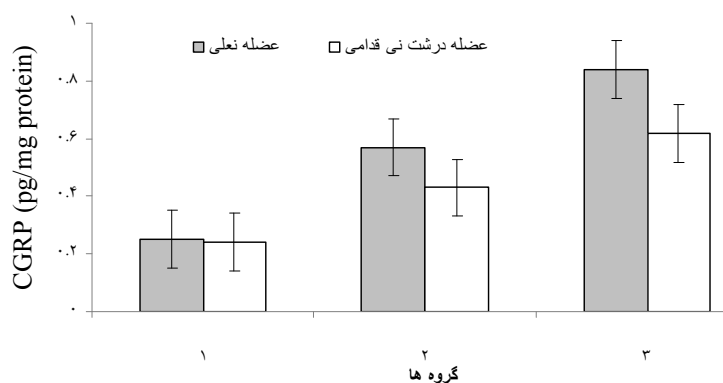
تحلیل واریانس یک‌طرفه‌ی میزان CGRP در عضله‌ی تند انقباض نشان داد که تمرین مقاومتی موجب افزایش این نوروپپتید می‌شود ( $p < 0.01$ )، به طوری‌که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار دیده شد ( $p < 0.09$ )، اما، بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۳). به این معنی که، تمرین استقامتی موجب افزایش مقدار CGRP در عضله‌ی تند انقباض شد، اما این افزایش در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود.



نمودار ۳- مقدار CGRP در عضله‌ی تند انقباض در گروه‌های مختلف. \* بین گروه تمرین مقاومتی با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $P < 0.09$ ) (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد می‌باشد).

این پژوهش نشان داد که میزان CGRP در عضلات نعلی و درشت‌نی قدامی در گروه شاهد با هم تفاوتی ندارد (۰/۲) در مقابل ۰/۲ پیکوگرم به ازای هر گرم پروتئین). میزان CGRP در عضلات نعلی و درشت‌نی قدامی در گروه تمرین استقامتی به ترتیب ۰/۵ و ۰/۴ پیکوگرم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود که در نتیجه‌ی تمرین افزایش یافته است. در گروه تمرین مقاومتی میزان این نوروپپتید در عضله‌ی نعلی ۰/۸ و در عضله درشت‌نی قدامی ۰/۶ پیکوگرم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود.

یافته‌ها نشان داد که در گروه شاهد (حیوانات تمرین نکرده) بین میزان CGRP عضله‌های تند و کند تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. مقایسه‌ی میزان CGRP در عضلات کند و تند انقباض گروه‌های تمرین استقامتی و مقاومتی نیز با وجود افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقدار CGRP در عضلات نعلی و درشت‌نی قدامی: گروه شاهد (۱)، گروه تمرین استقامتی (۲) گروه تمرین مقاومتی (۳).

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان CGRP در عضله‌ی نعلی در اثر تمرین‌های مختلف در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0.00$ ). به این ترتیب که آزمون تعقیبی توکی نشان داد بین گروه‌های شاهد و تمرین مقاومتی تفاوت معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0.04$ )؛ اما، بین گروه‌های شاهد و تمرین استقامتی تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ( $p < 0.20$ ) (نمودار ۲).

## بحث

بزرگسالی، افزایش معنی‌دار آن به دنبال قطع آکسونی، فلج عصبی،<sup>۲۳</sup> تغییر شکل NMJ و در مواقعی که تشکیل سیناپس ارجحیت پیدا می‌کند،<sup>۱۶</sup> از یک طرف، و افزایش میزان CGRP در نتیجه‌ی تمرین‌های مختلف این پژوهش از طرف دیگر، عواملی هستند که به مؤثر بودن تمرین و فعالیت بدنی به عنوان عامل محرک برای رهایش CGRP از پایانه‌های عصبی اشاره می‌کند؛ زیرا، NMJ در پاسخ به تغییر نیازهای عملکردی، تغییر شکل می‌دهد. پس می‌توان بیان کرد که هر عامل محرکی که وضعیت عادی تارهای عضلانی، واحدهای حرکتی و سازمان NMJ را به هم بریزد، موجب افزایش این نوروپپتید می‌شود. تمام این حالت‌ها را می‌توان به بی‌ثباتی یا به هم خوردن وضعیت عادی عضله نسبت داد.<sup>۲۴</sup>

مطالعه‌ی قراخانلو و همکاران (۱۹۹۹) تنها مطالعه‌ای است که اثر تمرین استقامتی را بر محتوای CGRP بررسی کرده است. این پژوهشگران مشاهده کردند که CGRP به دنبال تمرین در نخاع بالا می‌رود و در صفحه‌های انتهایی تا حدودی کم می‌شود.<sup>۱۶</sup> اما، مطالعه‌ی حاضر که اثر تمرین‌های متفاوت را بررسی کرد، نشان داد که فعالیت به ویژه تمرین مقاومتی موجب افزایش CGRP در عضله‌های کند و تند انقباض می‌شود (نمودارهای ۲ و ۳ تمرین مقاومتی) در مطالعه‌ی حاضر، تمرین استقامتی نیز موجب افزایش CGRP شد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودارهای ۲ و ۳ تمرین استقامتی). بنابراین، دشن بیان کرد که برای ذخیره‌ی نوروترانسمیترهای بیشتر، باید شاخه‌سازی برای انتقال ایمپالس‌های عصبی به وزیکول‌های اضافه را افزایش داد.<sup>۱۵</sup> همچنین، مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تمرین مقاومتی در یک دوره چند هفته می‌تواند متغیرهای مربوط به پیوند عصبی - عضلانی شامل طول، پراکندگی وزیکول‌های سیناپسی، گیرنده‌های آن‌ها و شاخه‌های پایانه‌ی عصبی را در پستانداران بالغ افزایش دهد و به گسترش معنی‌دار مؤلفه‌های پیش و پس سیناپسی NMJ منجر شود.<sup>۲۰،۲۵</sup> از طرفی، برخی مطالعه‌ها که مورفولوژی تار عضلانی و NMJ را بررسی کرده‌اند، نشان دادند که گسترش NMJ با نوع تار ارتباط دارد.<sup>۱۵،۲۴،۲۵</sup> با در نظر گرفتن مطالب فوق، یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد بر خلاف تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی موجب افزایش CGRP در عضله‌های کند و تند انقباض به‌طور معنی‌دار شد. این افزایش می‌تواند به دلیل فراخوانی عضله‌های و تأثیر تمرین مقاومتی بر ساختار NMJ باشد که موجب تغییر شکل NMJ در عضله‌های

CGRP در جسم سلولی سلول‌های عصبی تولید می‌شود و توسط انتقال آکسونی به پایانه‌های عصبی تحویل داده می‌شود. در این محل CGRP در قالب وزیکول‌های کروی پرچگال ذخیره شده، در مواقع تحریک عصبی آزاد می‌شود.<sup>۱۶،۱۷</sup> در پاسخ به تحریک الکتریکی از پایانه‌های عصبی - عضله اسکلتی رها می‌شود که آزاد شدن آن همراه با کاتکولامین‌ها موجب افزایش محتوای cAMP در تارهای عضلانی می‌شود،<sup>۷</sup> در واقع، زمانی که CGRP به گیرنده‌اش متصل می‌شود، آدنیلات سیکلاز (AC) را فعال می‌کند که موجب افزایش cAMP درون سلولی می‌شود.<sup>۱۸</sup>

در این مطالعه که در آن اثر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی بر میزان CGRP بررسی شد، این نوروپپتید در نتیجه‌ی تمرین‌های استقامتی و مقاومتی در هر دو نوع ماهیچه‌ی کند انقباض و تند انقباض افزایش داشت. اگر چه یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که افزایش CGRP در عضله‌ی کند انقباض همواره در گروه‌های تمرینی بالاتر از عضله تند انقباض است، این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. میزان CGRP در گروه شاهد بین دو عضله تفاوتی نداشت (نمودار ۱). در همین راستا، مطالعه‌های ایمونوسیتوشیمیایی و هیبریدشدگی<sup>۱</sup> در شرایط آزمایشگاهی بر روی حیوانات انجام شد، نشان داد که موتونورون‌های عضله‌های تند انقباض (FT) سطح بالاتری از CGRP را نسبت به موتونورون‌های عصب‌دهنده‌ی عضلات کند انقباض (ST) دارند. الگوی مشابه بیان CGRP در عضله مشاهده شد که در آن CGRP به طور برجسته در صفحه‌های حرکتی انتهایی تارهای عضلانی FT یافت می‌شود.<sup>۵،۱۷،۱۸</sup> مطالعه‌ی حاضر نیز حضور CGRP را در عضله‌ها تأیید کرد. با توجه به عدم تفاوت در میزان CGRP دو عضله‌ی کند انقباض و تند انقباض در گروه شاهد، می‌توان بیان کرد که افزایش CGRP در نتیجه‌ی فعالیت بوده و هر دو نوع عضله هم تقریباً به طور مشابه متأثر شده‌اند.

یافته‌های دیگر پژوهش حاضر نشان داد که تمرین می‌واند یک عامل مهم برای تحریک رهایش CGRP از پایانه‌های عصبی باشد. یکسان بودن میزان CGRP در عضله‌های کند انقباض و تند انقباض در حیوانات تمرین نکرده در مطالعه‌ی حاضر، کاهش یا ثبات سطح این ماده در

مختلف می‌شود.<sup>۲۵</sup> با توجه به افزایش مقدار CGRP در هر دو نوع عضله‌ی کند انقباض و تند انقباض در گروه تمرین مقاومتی و معنی‌دار بودن این تفاوت با گروه شاهد، می‌توان بیان کرد که تمرین مقاومتی هر دو نوع عضله را درگیر می‌کند.

در پروتکل تمرین مقاومتی مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر، یکی از انقباضاتی که در فعالیت‌ها وجود داشت، انقباض برون‌گرا بود. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تمرین برون‌گرا، اگر غیرمعمولی باشد منجر به دردناک شدن عضله (DOMS)<sup>۱</sup> بعد از سه روز می‌شود.<sup>۲۶</sup> کشف CGRP بعد از فعالیت تمرین برون‌گرا که به دلیل شکست پروتئین‌های انقباضی آشکار شده است، می‌تواند برای انعکاس بازسازی بافت تصور شود. با توجه به این که افزایش در غلظت CGRP بعد از تمرین برون‌گرا همزمان با افزایش تجربه درد دیده می‌شود، ممکن است CGRP در تنظیم DOMS بعد از تمرین سنگین درگیر باشد. همچنین، هومونکو نشان داد که ۷۲ ساعت بعد از دویدن سرازیری برون‌گرا، غلظت CGRP در نوروهای عضله‌ی دوقلوی میانی افزایش می‌یابد.<sup>۱۷</sup> غلظت قابل کشف CGRP عضله‌ی اسکلتی در اغلب نمونه‌ها در مطالعه‌ی جان‌هاگن (۲۰۰۶) نیز نشان داده شده است. با توجه به مطالب فوق می‌توان بیان کرد که DOMS ناشی از تمرین برون‌گرا ممکن است از دلایل افزایش CGRP در مطالعه‌ی تحقیق حاضر باشد.

برخی مطالعه‌ها نیز بیان کرده‌اند که CGRP دارای فعالیت نوروتروفیکی و نوروتروپیکی<sup>ii</sup> است<sup>۲۷</sup> و یکی از عوامل شناخته شده‌ی نوروتروفیکی درگیر در حفظ یا سازگاری و ویژگی‌های NMJ یا تار عضله است؛ یعنی، CGRP یک سیگنال تروفیکی مهم برای تکامل، تمایز و حفظ سلول‌های عضلانی و اتصالات عصبی عضلانی و برای تنظیم رشد عصبی درون عضلانی است. تارابال و همکاران (۱۹۹۶) بیان کردند که تغییرات CGRP موتونورونی با رشد آکسونی و شکل‌پذیری سیناپس عصبی عضلانی ارتباط نزدیک دارد.<sup>۲۳</sup> بنابراین، افزایش میزان CGRP در نتیجه‌ی تمرین‌ها ممکن است به دلیل نقش تروفیکی آن در شکل‌پذیری سیناپسی و سنتز عناصر موجود در منطقه‌ی سیناپس باشد؛ زیرا، پیشنهاد شده که CGRP مسؤول ساخت گیرنده‌ی استیل‌کولینی است.<sup>۱۶،۱۸</sup> پژوهش‌ها نشان داده‌اند که این پپتید در پیوندگاه

عصبی - عضلانی اثر تغذیه‌ای یا تعدیل‌کنندگی دارد که ساخت و عملکرد گیرنده‌های استیل‌کولین و AchE را در عضله‌ی اسکلتی از طریق مسیر میانجی cAMP کنترل می‌کند.<sup>۹،۱۶،۱۸</sup> مورا و همکاران (۱۹۸۹) بیان کردند که CGRP سنتز AchRهای سطحی را تا ۷ برابر در سلول‌های عضلانی جوجه در شرایط کشت افزایش می‌دهد. این پژوهشگران بیان کردند که در شرایط طبیعی برای turn over گیرنده‌های استیل‌کولینی به سطح پایین CGRP نیاز است؛ اما صفحه‌های انتهایی حرکتی که remodel یا renewed می‌شوند، به سطح بالاتری از CGRP نیاز دارند.<sup>۱۲</sup> بنابراین، اثر پیشنهادی CGRP در پیوندگاه عصبی - عضلانی شامل موارد زیر است: در کوتاه مدت، حساسیت گیرنده‌های استیل‌کولین را از طریق سازوکار فسفوریلاسیون کاهش می‌دهد و در بلند مدت، ساخت گیرنده‌ی استیل‌کولینی را توسط مسیر مرتبط با cAMP افزایش می‌دهد.<sup>۱۶</sup> در همین راستا، مطالعه‌ی گرگین و همکاران، رجبی و همکاران در نتیجه‌ی تمرین‌های مشابه با مطالعه‌ی حاضر، افزایش معنی‌دار این گیرنده‌ها را گزارش کرده‌اند (داده‌ها در آینده منتشر خواهد شد). این پژوهشگران نشان دادند که میزان رسپتورهای استیل‌کولین (AChR) در هر دو نوع عضله در نتیجه‌ی تمرین مقاومتی افزایش می‌یابد. فونتاین و همکاران (۱۹۸۷) در مطالعه‌ای نشان دادند که CGRP مقدار mRNA گیرنده‌های استیل‌کولین را تا ۲ برابر افزایش می‌دهد. این پژوهشگران بیان کردند که موجب تولید AchR می‌شود. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که فعالیت عضلانی موجب افزایش CGRP می‌شود و در نتیجه، گیرنده‌های استیل‌کولینی افزایش می‌یابند<sup>۲۸</sup> و سنتز، فسفوریلاسیون، میزان حساسیت‌زدایی و میانگین طولانی شدن زمان باز بودن کانال‌های AchR هم متأثر می‌شود.<sup>۵،۱۷</sup> با توجه به این‌که میزان CGRP در عضله‌های کند و تند انقباض گروه شاهد با هم تفاوتی ندارد، می‌توان بیان کرد که احتمالاً تحریک و به‌طور ویژه تحریک ناشی از فعالیت عضلانی، مهم‌ترین عامل در تولید و رهایش این نوروپپتید است؛ اما، میزان این افزایش به ماهیت فعالیت و احتمالاً شدت و مدت تمرین بستگی دارد. همچنین، افزایش CGRP می‌تواند یکی از دلایل افزایش گیرنده‌های استیل‌کولین باشد که با توجه به یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان بیان کرد که تمرین و تحریک عضلات موجب افزایش CGRP شده و در صورت جفت شدن CGRP با گیرنده‌هایش، cAMP فعال می‌شود که می‌تواند موجب ساخت گیرنده‌های استیل‌کولین

i - Delayed Onset Muscle Soreness

ii - Nerutrophic and Neurotropic

شود. با وجود این، بررسی نقش این نوروپپتید نیازمند مطالعه‌های بیشتری است.

## References

- Esfandyari T, Macnaughton WK, Quirion R, St Pierre S, Junien JL, Sharkey KA. 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: 1439-46.
- Poyner DR, Sexton PM, Marshall I, Smith DM, Quirion R, Born W, Muff R, Fischer JA, Foord SM. International Union of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 233-46.
- Leonid L. Nikitenko, Nicola Blucher, Stephen B. Fox, Roy Bicknell, David M. Smith, Margaret C. P. Rees. Adrenomedullin and CGRP interact with endogenous calcitonin-receptor-like receptor in endothelial cells and induce its desensitization by different mechanisms. *J Cell Sci* 2006; 119, 910-22.
- Taylor MM, Bagley SL, Samson WK. Intermedin/Adrenomedullin-2 inhibits growth hormone release from cultured, primary anterior pituitary cells. *Endocrinology* 2006; 147: 859-64.
- 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: 335-45.
- AF Russo, C Nelson, BA Roos, MG Rosenfeld. Differential regulation of the coexpressed calcitonin/alpha-CGRP and beta-CGRP neuroendocrine genes. *J. Biol. Chem* 1988; 263: 5 – 8.
- Nielsen OB, Hilsted L, Clausen T. Excitation-induced force recovery in potassium-inhibited rat soleus muscle. *J Physiol* 1998; 512 ( Pt 3): 819-29.
- Brain SD, Cox HM. Neuropeptides and their receptors: innovative science providing novel therapeutic targets. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1: S202-11.
- Deng PY, Li YJ. Calcitonin gene-related peptide and hypertension. *Peptides* 2005; 26: 1676-85.
- Burns DM, Stehno-Bittel L, Kawase T. 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: C457-67.
- Ohhashi T, Jacobowitz DM. Effects of calcitonin gene-related peptide on neuromuscular transmission in the isolated rat diaphragm. *Peptides* 1988; 9: 613-7.
- Mora M, Marchi M, Polak JM, Gibson SJ, Cornelio F. Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity at the human neuromuscular junction. *Brain Res* 1989; 492: 404-7.
- Glowacki SP, Martin SE, Maurer A, Baek W, Green JS, Crouse SF. Effects of resistance, endurance, and concurrent exercise on training outcomes in men. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 2119-27.
- Leveritt M, Abernethy PJ, Barry B, Logan PA. Concurrent strength and endurance training: the influence of dependent variable selection. *J Strength Cond Res* 2003; 17: 503-8.
- Deschenes MR, Tenny KA, Wilson MH. Increased and decreased activity elicits specific morphological adaptations of the neuromuscular junction. *Neuroscience* 2006; 137: 1277-83.
- 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: 1229-39.
- Homonko DA, Theriault E. Downhill running preferentially increases CGRP in fast glycolytic muscle fibers. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1928-36.
- Fernandez HL, Ross GS, Nadelhaft I. 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.
- Joo YI, Sone T, Fukunaga M, Lim SG, Onodera S. Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats. *Bone* 2003; 33: 485-93.
- Notomi T, Okazaki Y, Okimoto N, Tanaka Y, Nakamura T, Suzuki M. Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in orchidectomized growing rats. *J Appl Physiol* 2002; 93: 1152-8.
- Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 361: 841-6.
- Kamiya H, Zhang W, Ekberg K, Wahren J, Sima AA. C-Peptide reverses nociceptive neuropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 3581-7.
- Tarabal O, Calderó J, Ribera J, Sorribas A, López R, Molgó J, Esquerda JE. Regulation of motoneuronal calcitonin gene-related peptide (CGRP) during axonal growth and neuromuscular synaptic plasticity induced by botulinum toxin in rats. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 829-36.
- Fahim MA. Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/6N mice aging mice. *J Appl Physiol* 1997; 83: 59-66.
- Deschenes MR, Judelson DA, Kraemer WJ, Meskaitis VJ, Volek JS, Nindl BC, et al. Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. *Muscle Nerve* 2000; 23: 1576-81.
- Jonhagen S, Ackermann P, Saartok T, Renstrom PA. Calcitonin gene related peptide and neuropeptide Y in skeletal muscle after eccentric exercise: a microdialysis study. *Br J Sports Med* 2006; 40: 264-7.
- Tsatsaris V, Tarrade A, Merviel P, Garel JM, Segond N, Jullienne A, et al. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and CGRP receptor expression at the human implantation site. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4383-90.
- Fontaine B, A Klarsfeld, and JP Changeux., Calcitonin gene-related peptide and muscle activity regulate Acetylcholine receptor alpha-subunit mRNA levels distinct intracellular pathways, *J Cell Biol* 1987; 105: 1337-42.

Original Article

## Effects of Endurance and Resistance training on Calcitonin Gene-Related Peptide Content in Slow and Fast Twitch Rat Muscles

Gharakhanlou R<sup>1</sup>, Parnow AH<sup>1</sup>, Hedayati M<sup>2</sup>, Mahdian R<sup>3</sup>, Rajabi S<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Physical Education, Faculty of Humanity, Tarbiat, Modares University; <sup>2</sup>Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, <sup>3</sup>Department of Molecular Medicine, Pasteur Institute of Iran; <sup>4</sup>Faculty of Physical Education, Al Zahra University, Tehran, I.R.Iran.  
e-mail:ahmp2004@gmail.com

### Abstract

**Introduction:** Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), a 37-amino acid peptide generated by alternative processing of primary transcripts from calcitonin gene, is broadly distributed in the peripheral and central nervous systems of vertebrate and invertebrate species. CGRP plays a main role in the neuromuscular junction. This paper investigates the effects of endurance and resistance training on the content of CGRP in the slow and fast twitch muscles. **Materials and Methods:** Twenty-two male Wistar rats, (age 10 mo, weight 220± 20 gr, Pasteur Institute) were randomly divided to three groups. (Control (n=7), Endurance training (n=7), and Resistance training (n=8)) and underwent 12 weeks training according to protocols. Animals of the resistance training group were housed in a metal cage with a wire-mesh tower; endurance training included treadmill running), 5 days a week, 60 min/day, 30 m/min speed, for animals in this group. Forty-eight hours after last session of protocols, animals were anaesthetized. The right soleus and anterior tibialis were removed, and, tissues were immediately frozen in liquid nitrogen and kept at -70 ° C for use later. CGRP content was measured by the ELISA method. **Results:** For data analyses, one-way ANOVA was used. There was no significant difference between control and endurance training groups in the CGRP of slow and fast twitch muscles. However, the content of CGRP in both fast and slow twitch muscles was significantly different in the resistance training group as compared to the control group. **Conclusion:** That training can be a main factor for CGRP release in muscles. In addition, the type and intensity of activity probably contribute to increase in CGRP content.

**Keywords:** Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), Endurance Training, Resistance Training, Fast Twitch and Slow Twitch Muscles, Rat