www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 65, No.1, P: 192-200
Apr-May 2022

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۵، شماره ۱
فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۱، صفحه ۲۰۰-۱۹۱

مقاله اصلی

اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۰- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱

فیروزه خاموردی[۱]
احمد همت فر[۲*]
مانیا روزبیانی[۳]
ناصر بهپور[۴]

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
[۲] استادیار فیزیولوژی ورزش ، گروه تربیت بدنی ،واحد بروجرد ، دانشگاه آزاد اسلامی ، بروجرد ، ایران (نویسنده مسئول)
[۳] استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
[۴] دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

Email: hematfarahmad407@gmail.com

خلاصه

مقدمه: اتصال عصبی عضلانی و انتقال سیناپسی به انواع عضلات اسکلتی ممکن است تحت تأثیر تمرینات بدنی قرار گیرند. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر یک دوره تمرینات اینتروال با شدت بالا (HIIT) بر بیان پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین (CGRP) در عضله نعلی موش های صحرایی نر است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم، در دو گروه تمرین و کنترل، به صورت تصادفی قرار گرفتند. تمرین HIIT شامل ۶ تا ۱۲ تکرار تمرین تناوبی ۲ دقیقه‌ای بود که بین هر تکرار یک دقیقه استراحت وجود داشت. تمرین برای ۵ روز در هفته و ۶ هفته طراحی شده بود. شرایط گروه کنترل مشابه گروه تمرین بود، ولی تمرین ورزشی انجام نمی‌دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی توسط روش استاندارد بیهوش، قربانی و بافت عضله نعلی تمامی موش‌ها استخراج شد، سپس برای تعیین میزان بیان CGRP از روش وسترن‌بلات استفاده شد. از آزمون آماری تی مستقل برای بررسی اختلاف معناداری میانگین بین گروه‌های کنترل و (HIIT) استفاده شد. سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج: یافته‌های آماری برای مقادیر بیان پروتئین گیرنده CGRP نشان داد که اجرای ۶ هفته پروتکل تمرینی HIIT باعث افزایش در بیان پروتئین CGRP در مقایسه با گروه کنترل شد؛ که این مقدار از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=۰/۰۷۸$).

نتیجه‌گیری: علی‌رغم افزایش بیان CGRP عضله نعلی موش‌ها، به‌نظر می‌رسد که انجام ۶ هفته تمرین HIIT برای ایجاد تغییر معنی‌دار در بیان ژن CGRP عضله‌ی نعلی موش‌ها کافی نبوده و می‌بایست از پروتکل‌های طولانی‌تر استفاده گردد.

کلمات کلیدی: تمرینات تناوبی با شدت بالا، پپتید مرتبط با ژن کلسی‌تونین، عضله نعلی

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

اتصال عصبی عضلانی و انتقال سیناپسی[1]به انواع عضلات اسکلتی ممکن است تحت تأثیر تمرینات بدنی قرار گیرند (۱،۲). برای فرایند تشکیل و انتقال سیناپسی به چندین مرحله نیاز می‌باشد، انواع گیرنده‌ها و مولکول‌های پیام دهی، و به هماهنگی دقیق پروتئین‌های سیناپسی قبل و بعد بستگی دارد(۳). پپتید مرتبط با ژن کلسی‌تونین[2] (CGRP) و گیرنده‌های استیل‌کولین[3]اجزای ضروری برای تنظیم انتقال سیناپسی در محل اتصال عصبی عضلانی هستند (۴).

CGRP یک پپتید با ۳۷ اسید آمینه است که از بیان mRNA ژن CGRP در ژن کلسی‌تونین مشتق شده است (۵) و به‌عنوان یک گشادکننده‌ی عروق قوی شناخته می‌شود (۶). CGRP-α و CGRP-β دو نوع از ایزوفرم‌های CGRP هستند که CGRP-α عمدتاً در اتصال عصبی عضلانی بیان می‌شوند و شکل اصلی موجود در سیستم عصبی مرکزی و محیطی است. در مقابل CGRP-β در درجه‌ی اول در سیستم عصبی روده و غده‌ی هیپوفیز قرار دارد (7). مشخص شده است که عمل CGRP-α بیان، سنتز و عملکرد گیرنده‌های استیل کولین را توسط فعال‌سازی گیرنده‌های CGRP در صفحه‌ی انتهایی حرکتی افزایش می‌دهد (۴،۸) علاوه بر این، از آنجایی‌که، پروتئین جزء گیرنده (RCP)[17] CGRP در هسته‌ی نورون‌های حرکتی مشاهده شده است، یک نقش رونویسی اضافی برای پروتئین جزء گیرنده‌ی CGRP بیان شده است (۹).

هم‌چنین برخی شواهد نشان داده‌اند که CGRP-α نقش اساسی در بازسازی و انعطاف‌پذیری نورون حرکتی ایفا می‌کند (۱۰). طبق بیان قراخانلو و دیگران، CGRP نورون‌های حرکتی و اعصاب محیطی، در پاسخ به تمرینات استقامتی افزایش می‌یابد، که ممکن است یک تنظیم مثبت سنتز، انتقال و انتشار نهایی این نوروپپتید را نشان دهد، در نتیجه قادر است یک نقش حیاتی در فرایندهای مورفولوژیکی و عملکردی در تنظیم اتصال عصبی عضلانی بازی کند (۱۱). در مقابل، اختلال در سنتز RCP باعث کاهش آدنوزین تری فسفات حلقوی(cAMP) شد. از دست دادن RCP منجر به از دست دادن پیام دهیcAMP با واسطه‌ی CGRP شد (۱۲،۱۳).

فعالیت بدنی ممکن است سازگاری‌های مولکولی و مورفولوژیکی متفاوتی را در اتصال عصبی عضلانی بسته به نوع محرک و عضله اسکلتی مورد تجزیه و تحلیل ایجاد کند (۱،۱۴). با این حال، مطابق با دانش ما، هیچ مطالعه‌ی قبلی تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا[4](HIIT) را بر بیان این ژن پپتیدی در عضله نعلی موش‌ها را بررسی نکرده است. HIIT، احتمالا به‌دلیل تأثیرات مثبت آن بر عملکرد و صرفه‌جویی در زمان در مقایسه با تمرینات سنتی طولانی مدت با شدت متوسط به یک روش تمرینی محبوب تبدیل شده است(۱۵،۱۶).

یکی از روش‌های تمرینی که در سال‌های اخیر مورد توجه متخصصین ورزشی قرار گرفته است و به‌طور وسیعی در حال فراگیر شدن می‌باشد، HIIT است. به‌طورکلی تعریف جامعی برای HIIT وجود ندارد و عموما به تکرار جلسات فعالیت‌های ورزشی تناوبی اطلاق می‌شود که نسبتا کوتاه است و اغلب با نهایت کوشش یا نزدیک به آن انجام می‌شود و کوشش‌های متعدد با چند دقیقه استراحت و یا فعالیت ورزشی با شدت پایین از هم جدا می‌شوند (۱۷). بسیاری از افراد از HIIT به‌دلیل خطرناک بودن، کاربردی نبودن و یا غیرقابل تحمل بودن معاف می‌شوند. اما، امروزه ارزش بالقوه HIIT در زمینه‌ی توسعه سلامت و آمادگی حتی در افرادی که شرایط بیماری گوناگونی دارند نیز درک شده است (۱۸،۱۹). به‌علاوه، برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که تمایل افراد برای اجرای تمرین با تکرار پایین و شدت بالا، بیشتر از برنامه تمرینی با تکرار بالا و شدت پایین است و حتی درک لذت بیشتری نیز دارند (۲۰). در مجموع به‌نظر می‌رسد که

[1] Synapse
[2] Calcitonin
[3] Acetylcholine
[4] High Intensity Interval Training

سازگاری‌های متابولیک به این نوع از فعالیت ورزشی می-تواند با وساطت مسیر پیام دهی سلولی صورت گیرد که در نهایت منجر به سازگاری‌های مشابه با سازگاری به تمرینات استقامتی با حجم بالا گردد (۲۱).

بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که HIIT منجر به سازگاری‌های بی‌شمار فیزیولوژیکی می‌شود که مشابه تمرینات استقامتی سنتی است با این تفاوت که دارای حجم کل فعالیت ورزشی پایین است (۲۲). کاظمی و دیگران (۱۳۹۸) (۲۳) نشان دادند، تمرینات تناوبی شدید بیان ژن‌های عامل نکروز تومور ۶(TRAF6) و انگشتی حلقوی عضلانی۱(MuRF1) در عضله‌ی بازکننده‌ی طویل انگشتان پای موش‌ها را کاهش داد. همچنین، اسفرجانی و دیگران (۲۰۱۹) (۲۴) نشان دادند بین شدت تمرین و نوع تار عضلانی بر میزان پروتئین‌های مهاری فسفولمبان و سارکولیپین اثر تعاملی معنی‌داری وجود دارد . از آنجایی که مطالعات اندکی بر روی اثر تمرینات تناوبی شدید بر پپتید وابسته به ژن کلسی تونین در عضله اسکلتی انجام شده است و گاها نتایج متناقضی داشته اند، این پژوهش به بررسی اثر این تمرینات بر میزان پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین در عضلات اسکلتی موش های صحرایی نر پرداخت.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع مطالعه تجربی و با رویکرد کاربردی، پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با شناسه اخلاق (IR.IAU.B.REC.1400.005) انجام شده است. تعداد ۱۵ سر موش صحرایی ۸ هفته نر نژاد ویستار با محدوده وزن ۱۶±۲۱۵/۴۶ گرم به عنوان نمونه پژوهش از مرکز نگهداری حیوانات موسسه انستیتو پاستور کرج خریداری شد، و پس از انتقال نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، در اتاقی مناسب و در شرایط کنترل شده به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدودا ۴۵ درصدی با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. در طول دوره تحقیق موش‌ها توسط یک نفر جابه‌جا و دستکاری شدند و برای آشناسازی با نوار گردان و انتخاب موش‌های تمرین‌پذیر (دونده) در ۱۰ روز متوالی موش‌ها با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و برای ۵ دقیقه روی تردمیل به تمرین می‌پرداختند. موش‌هایی که حداقل ۹ روز را با موفقیت پشت سر گذاشتند، به‌عنوان موش‌های دونده انتخاب شدند. در این دوره، سه موش به‌دلیل تمرین-پذیر نبودن از دور پروتکل پژوهش حذف شد. برای تحریک به دویدن و جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش در مرحله آشناسازی حیوانات با فعالیت روی نورگردان به روش شرطی‌سازی با صدا آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. پس از مراحل آشناسازی با محیط و نورگردان، ۱۲ سر موش ویستار به‌طور مساوی در دو گروه کنترل و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند.

ابزار پژوهش

پروتکل تمرین HIIT

تمرین HIIT شامل ۶ تا ۱۲ تکرار تمرین تناوبی ۲ دقیقه‌ای بود که بین هر تکرار یک دقیقه استراحت غیر فعال وجود داشت. تمرین برای ۵ روز در هفته و ۶ هفته طراحی شده بود. مطابق جدول شماره ۳-۱ سرعت و تکرار تمرین نوارگردان به‌تدریج افزایش یافت و با ۳۳ متر در دقیقه با ۶ تکرار در هفته اول، ۳۵ متر در دقیقه با ۷ تکرار در هفته دوم، ۳۷ متر در دقیقه با ۸ تکرار در هفته سوم، ۳۹ متر در دقیقه با ۹ تکرار در هفته چهارم، ۴۴ متر در دقیقه با ۱۰ تکرار در هفته پنجم و ۴۸ متر در دقیقه با ۱۲ تکرار در هفته ششم انجام شد (۲۵).

جدول۱. پروتکل تمرین HIIT

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
تکرار در هر جلسه	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۲
سرعت(m/min)	۳۳	۳۵	۳۷	۳۹	۴۴	۴۸

جراحی و استخراج بافت‌های مورد نظر

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها بی هوش و قربانی شدند . عضله تعلی هریک استخراج و مطابق پروتکل آزمایشگاهی بررسی شدند. بافت‌ها بلافاصله در دمای ۸۰- فریز شدند و در موعد مقرر تحت فرآیند آزمایشگاهی قرار گرفتند.

سنجش بیان پروتئین CGRP با روش وسترن بلات

برای تعیین بیان پروتئین CGRP در عضله نعلی از روش وسترن بلات استفاده شد. در این روش، پس از این‌که موش‌ها با استفاده از پنتوباربیتال سدیم بیهوش شدند، سریعا عضله نعلی آن‌ها استخراج شد، بافت با واکنشگر لیز و استخراج کننده، جدا شده و با مخلوط ضد پروتئاز ترکیب شد جداسازی عصاره بافتی به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت rpm ۱۰۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد توسط سانتریفیوژ انجام گرفت. همچنین تعیین غلظت پروتئین با استفاده از معرف بردفورد صورت گرفت، جهت حصول از اطمینان جداسازی با استفاده از الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید در حضور SDS-PAGESDS جداسازی پروتئین انجام گرفت و پس از آن در مسیری مجزا، به غشاء پلی وینیلیدین فلوراید (PVDF) منتقل گردید. پس از انتقال پروتئین به غشاء PVDF و انجام مراحل شستشو به بلاکینگ غشاء به‌وسیله شیر با ۵٪ چربی در محلول بافر TBS به‌مدت یک ساعت انجام شد. سپس غشاء در معرض آنتی‌بادی مخصوص پروتئین CGRP در تمام طول شب قرار گرفت و در نهایت با اضافه کردن آنتی‌بادی ثانویه و مراحل شستشو با استفاده از کیت ECL و تصویربرداری از نمونه باندهای پروتئینی رویت شد. در نهایت به‌وسیله نرم‌افزار ImageJ اندازه‌های کیفی به داده‌های کمی تبدیل شد. مراحل وسترن بلات پس از بهینه‌سازی با یک پروتئین شاهد بر روی غشاء نیتروسلولز حاوی گیرنده CGRP انجام شد. همین مراحل در خصوص پروتئین β-actin به‌عنوان پروتئین شاهد و با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی این پروتئین (خریداری شده از شرکت santacrouz انجام پذیرفت و مقایسه تغییرات بین گروه‌ها توسط پروتئین CGRP ممکن گردید (۲۶).

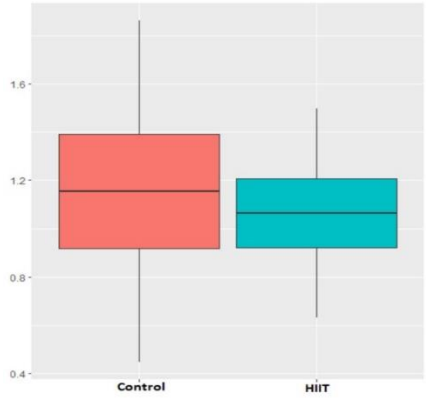
روش آماری

کلیه داده‌ها در بسته آماری در علوم اجتماعی (SPSS) نسخه بیست و دوم وارد شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. جهت نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. از آزمون آماری تی مستقل نیز برای بررسی اختلاف معناداری میانگین‌های بین گروه‌های کنترل و HITTاستفاده شد. مقادیر p<۰/۰۵از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

میزان میانگین و انحراف معیار نسبت بیان CGRP به بتا اکتین در گروههای مطالعه به ترتیب در گروه کنترل0.23 ±1.01 و در گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا(HIIT) 0.14 ±1.06 بدست آمد . (نمودار ۱)

نتایج آزمون آماری تی مستقل نشان داد که اجرای شش هفته پروتکل تمرینی HIIT سبب افزایش در بیان پروتئین CGRP در مقایسه با گروه کنترل شد، که این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. (P=۰/۰۷۸). این نتایج حاکی از آن است که اجرای تمرین HIIT تاثیر به‌سزایی بر بیان پروتئین CGRP در عضله نعلی موش‌هایی که شش هفته در این پروتکل شرکت داشتند، ندارد.



نمودار۱. میانگین و انحراف معیار میزان پپتید وابسته به ژن کلسی تونین نسبت به بتا اکتین در گروههای مورد مطالعه

بحث و نتیجه گیری

اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان و محتوای این پپتید در عضله نعلی موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت. اجرای شش هفته پروتکل تمرینی HIIT سبب افزایش در بیان پروتئین CGRP در مقایسه با گروه کنترل شد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. به‌نظر می‌رسد که شدت تمرین باید یک فاکتور اولیه برای اثرگذاری بر بیان ژن در محل اتصال عصبی عضلانی باشد. همان‌گونه که در پژوهش گرزی و دیگران (۲۰۲۰) (۲۷) نشان داده شد، پروتکل HIIT به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر پروتکل‌های تمرینی بیان ژن در محل اتصال عصبی عضلانی را بهتر تنظیم کرد، جالب است بدانید که بعد از تمرین HIIT، CGRP-α و گیرنده‌ی CGRP در عضلات نعلی به‌طور افزایشی تنظیم شدند، اما در عضله‌ی دو قلو این‌گونه نبود (۲۷). در یک پژوهش نشان داده شد که رابطه‌ی بیان ژن CGRP بین انواع مختلف عضلات در شرایط کنترل متفاوت بود، بیان ژن CGRP گروه کنترل به‌طور معنی‌داری (بیش از ۷۰۰٪) در عضله تند انقباض (دوقلو) بالاتر از عضله کند انقباض (نعلی) بود (۲۸). این یک واقعیت جالب است، همان‌طور که بلانکو و دیگران گزارش دادند که عضلات کند انقباضی مانند soleus و تند انقباض مانند عضله‌ی بازکننده‌ی انگشتان پا دارای mRNA ژن CGPR مشابهی هستند (۲۹).

به‌نظر می‌رسد عضلات کند انقباض نیازمند کنترل مثبت CGRP-α برای جبران محتوای بازال پایین در مقایسه با عضلات تند انقباض هستند (۲۷). در پژوهش دیگری تنظیم کاهشی گیرنده استیل‌کولین بتا در عضله دوقلو تنظیم افزایشی در عضله نعلی پس از تمرین استقامتی نشان داده شد (۳۰)، به‌نظر می‌رسد ایده سازگاری‌های خاص وابسته به عضله در انعطاف‌پذیری اتصال عصبی عضلانی بعد از فعالیت بدنی را اثبات کند. نتایج مشابه CGRP و گیرنده‌ی CGRP (RCP) هم مخصوص نوع تمرین و هم مخصوص نوع عضله، از نقش RPC در سیگنالینگ CGRP در محل اتصال عصبی عضلانی، احتمالا توسط مسیرهای با واسطه‌ی cAMP حمایت می‌کند (اسفرجانی و دیگران، ۲۰۱۹). همان‌گونه که ایوانز و دیگران نشان دادند که بیان پروتئین RCP با اثربخشی بیولوژیکی CGRP همبستگی دارد (۱۲).

در این مطالعه، بررسی میزان پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین بر روی عضله نعلی موش صحرایی انجام شد؛ زیرا این عضله یکی از عضلات قوی و تاثیرگذار بدن است که در قسمت پشت ساق قرار دارد و به دلیل ویژگی‌های مکانیکی خاصی که در حرکات پایه مخصوصا ایستادن، دویدن و راه رفتن دارد از اهمیت بالایی در حرکت‌شناسی برخوردار است. همچنین، این عضله دارای درصد بسیار بالایی از تارهای عضلانی کند انقباض است و به عنوان یک عضله اکسایشی دارای ظرفیت‌های بالای استقامتی شناخته می‌شود. در برخی حیوانات مانند گربه‌ها نزدیک به ۱۰۰ درصد و در انسان‌ها بین ۶۰ تا ۹۰ درصد و حتی در برخی گزارشات تا۱۰۰ درصد تارهای عضله نعلی از نوع کند تشکیل شده‌اند و در موش‌های صحرایی موقعیت استثنایی قرارگیری این عضله، آن را به یک عضله حرکت‌دهنده مهم تبدیل نموده است (۲۹) با این حال وجود این نوروپپتید در عضلات نعلی موش‌های مورد مطالعه پس از تمرینات ورزشی تایید شد و بیانگر این موضوع بود که تمرین می‌تواند یک عامل مهم برای تحریک رهایی CGRP از پایانه‌های عصبی باشد. پپتید وابسته ژن کلسی‌تونین (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 ذخیره شده، در مواقع تحریک عصبی آزاد می‌شود (۲۶). این پپتید 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. در واقع، زمانی که CGRP به گیرنده‌اش متصل می‌شود، آدنیلات سیکلاز (AC) را فعال می‌کند و موجب افزایش cAMP درون سلولی می‌شود. (۲۷)

فاگرلوند و دیگران و قراخانلو و دیگران افزایش در محتوای CGRP را پس از فعالیت استقامتی گزارش کردند که در تضاد با

نتایج فعلی است (۳۱). برخی عوامل مانند مدت زمان تمرین (۱۲ و ۱۶ هفته)، سرعت دویدن، جنسیت و به‌ویژه بافت‌های متفاوت ارزیابی شده (به‌ترتیب نورون حرکتی در نخاع و عصب سیاتیک) ممکن است در این واگرایی‌ها نقش حیاتی داشته باشند. هومونکو و دیگران گزارش دادند که بعد از تمرینات سراشیبی در موش‌ها، بیان CGRP در واحدهای حرکتی افزایش یافته بود. آن‌ها گزارش دادند که این افزایش CGRP احتمالا به‌علت فاکتورهایی مانند آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی در عضلات باشد (۳۲). هر گونه فعالیت و تمرین ورزشی که شدت و مدت آن بالا برود، باعث ایجاد کوفتگی عضلانی خواهد شد. این فرایند باعث رهایش عوامل ضد دردی از جمله CGRP می‌شود. هم‌چنین قراخانلو و دیگران محتوای پپتید CGRP را ارزیابی کردند در حالی که ما بیان ژن آن را مورد ارزیابی قرار دادیم (۱۱). بنابراین، از آن‌جایی- که تغییرات در سطوح mRNA مستقیما سطوح این پپتید را منعکس نمی‌کند و سطوح این پپتید می‌تواند عملکرد فیزیولوژیکی را در پاسخ به فعالیت بدنی تغییر دهد.

تحت شرایط این مطالعه، علی‌رغم افزایش بیان ژن CGRP عضله نعلی موش‌ها، به‌نظر می‌رسد که انجام ۶ هفته تمرین HIIT برای ایجاد تغییر معنی‌دار در بیان ژن CGRP عضله‌ی نعلی موش‌ها کافی نبوده و می‌بایست از پروتکل‌های طولانی‌تر استفاده گردد. برای اظهار نظر قطعی باید جانب احتیاط را در نظر داشت، چراکه تحقیقات در این زمینه اندک می‌باشد که نیاز به انجام تحقیقات بیشتر و انجام پروتکل‌های مختلف با دوره‌های طولانی‌تر می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد واحد بروجرد می‌باشد، از همکاری صمیمانه کلیه افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Deschenes, M. R., Tufts, H. L., Noronha, A. L., & Li, S. (2019). Both aging and exercise training alter the rate of recovery of neuromuscular performance of male soleus muscles. *Biogerontology, 20*(2), 213-223. doi: 10.1007/s10522-018-9788-y
2. Wilson, R. J., Drake, J. C., Cui, D., Ritger, M. L., Guan, Y., Call, J. A., . . . Yan, Z. (2019). Voluntary running protects against neuromuscular dysfunction following hindlimb ischemia-reperfusion in mice. *Journal of applied physiology, 126*(1), 193-201. doi: 10.1152/japplphysiol.00358.2018
3. Guarino, S. R., Canciani, A., & Forneris, F. (2019). Dissecting the Extracellular Complexity of Neuromuscular Junction Organizers. *Frontiers in molecular biosciences, 6*, 156. doi: 10.3389/fmolb.2019.00156
4. Popper, P., & Micevych, P. E. (1989). Localization of calcitonin gene-related peptide and its receptors in a striated muscle. *Brain Research, 496*(1-2), 180-186. doi: 10.1016/0006-8993(89)91064-0
5. Amara, S. G., Jonas, V., Rosenfeld, M. G., Ong, E. S., & Evans, R. M. (1982). Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature, 298(*5871), 240-244. doi: 10.1038/298240a0
6. Brain, S. D., Williams, T. J., Tippins, J. R., Morris, H. R., & MacIntyre, I. (1985). Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature, 313*(5997), 54-56. doi: 10.1038/313054a0
7. Russell, F. A., King, R., Smillie, S. J., Kodji, X., & Brain, S. D. (2014). Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews, 94*(4), 1099-1142. doi: 10.1152/physrev.00034.2013
8. Fernandez, H. L., Ross, G. S., & Nadelhaft, I. (1999). Neurogenic calcitonin gene-related peptide: a neurotrophic factor in the maintenance of acetylcholinesterase molecular forms in adult skeletal muscles. *Brain research, 844*(1-2), 83-97. doi: 10.1016/s0006-8993(99)01891-0
9. Dickerson, I. M. (2013). Role of CGRP-receptor component protein (RCP) in CLR/RAMP function. *Current protein & peptide science, 14*(5), 407-415. doi: 10.2174/13892037113149990057
10. Calderó, J., Casanovas, A., Sorribas, A., & Esquerda, J. E. (1992). Calcitonin gene-related peptide in rat spinal cord motoneurons: subcellular distribution and changes induced by axotomy. *Neuroscience, 48*(2), 449-461. doi: 10.1016/0306-4522(92)90504-u
11. Gharakhanlou, R., Chadan, S., & Gardiner, P. (1999). Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related

20. Bartlett, J. D., Close, G. L., MacLaren, D. P., Gregson, W., Drust, B., & Morton, J. P. (2011). High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. *Journal of sports sciences, 29*(6), 547-553. doi: 10.1080/02640414.2010.545427

21. Volek, J. S., Kraemer, W. J., Bush, J. A., Boetes, M., Incledon, T., Clark, K. L., & Lynch, J. M. (1997). Creatine supplementation enhances muscular performance during high-intensity resistance exercise. *Journal of the American Dietetic Association, 97*(7), 765-770. doi: 10.1016/s0002-8223(97)00189-2

22. Babraj, J. A., Vollaard, N. B. J., Keast, C., Guppy, F. M., Cottrell, G., & Timmons, J. A. (2009). Extremely short duration high intensity interval training substantially improves insulin action in young healthy males. *BMC Endocrine Disorders, 9*(1), 3. doi: 10.1186/1472-6823-9-3

23. Kazemi, A., & Barbat, S. (2019). The Effect of High Intensity Interval Training on Gene Expression of MuRF1 and TRAF6 in Extensor Digitorum Longus (EDL) Muscle of Aged Mice. *Journal of Sport Biosciences, 11*(2), 225-237. doi: 10.22059/jsb.2019.262132.1297 [Persian]

24. Esfarjani, F., marandi, M., & Moradi, H. a. (2019). The effect of different training intensities and consequent detraining on levels of sarcolipin and phospholamban in fast-twitch and slow-twitch muscles of male wistar rats. *Studies in Medical Sciences, 30*(8), 609-620. [Persian]

25. Thomas, C., Bishop, D., Moore-Morris, T., & Mercier, J. (2007). Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism, 293*(4), E916-922. doi: 10.1152/ajpendo.00164.2007

26. khorshidvand, m., Ghara khanlou, R., & hassan sajedi, r. (2019). The Effect of Moderate Continuous Training on TRPV1 Protein Expression in Slow-Contraction Muscles of Wistar Rats. *Journal of Sport Biosciences, 11*(1), 83-96. doi: 10.22059/jsb.2019.269023.1319 [Persian]

27. Gorzi, A., Rajabi, H., Gharakhanlou, R., & azad, A. (2013). Effects of Endurance Training on A12 Acetyl Cholinesterase Activity in Fast and Slow-Twitch Skeletal Muscles of Male Wistar Rats. Zahedan journal of research in medical sciences, *15*(10), e92827. [Persian]

28. Nishimune, H., Stanford, J. A., & Mori, Y. (2014). Role of exercise in maintaining the integrity of the neuromuscular junction. *Muscle & nerve, 49*(3), 315-324. doi: 10.1002/mus.24095

29. Blanco, C. E., Popper, P., & Micevych, P. (1997). α-CGRP mRNA levels in motoneurons innervating specific peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience, 89*(4), 1229-1239. doi: 10.1016/s0306-4522(98)00406-0

12. Evans, B. N., Rosenblatt, M. I., Mnayer, L. O., Oliver, K. R., & Dickerson, I. M. (2000). CGRP-RCP, a Novel Protein Required for Signal Transduction at Calcitonin Gene-related Peptide and Adrenomedullin Receptors*. *Journal of Biological Chemistry, 275*(40), 31438-31443. doi: https://doi.org/10.1074/jbc.M005604200

13. Prado, M. A., Evans-Bain, B., Oliver, K. R., & Dickerson, I. M. (2001). The role of the CGRP-receptor component protein (RCP) in adrenomedullin receptor signal transduction. *Peptides, 22*(11), 1773-1781. doi: 10.1016/s0196-9781(01)00517-4

14. Parnow, A., Gharakhanlou, R., Gorginkaraji, Z., Rajabi, S., Eslami, R., Hedayati, M., & Mahdian, R. (2012). Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related Peptide and acetylcholine receptor at slow and fast twitch skeletal muscles and sciatic nerve in male wistar rats. *International journal of peptides, 2012*, 962651. doi: 10.1155/2012/962651

15. Milanović, Z., Sporiš, G., & Weston, M. (2015). Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO2max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Sports medicine, 45*(10), 1469-1481. doi: 10.1007/s40279-015-0365-0

16. Polomoshnov, D. (2017). *Acute HIT session induced changes and recovery in muscle activation level, voluntary force production and jump performance during 8 weeks of HIT training in recreationally endurance trained men.* University of Jyväskylä, JYX Digital Repository. Retrieved from http://urn.fi/URN:NBN:fi:jyu-201701101120

17. Gibala, M. J., & McGee, S. L. (2008). Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise and sport sciences reviews, 36*(2), 58-63. doi: 10.1097/JES.0b013e318168ec1f

18. Rognmo, Ø., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., & Slørdahl, S. A. (2004). High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation, 11*(3), 216-222. doi: 10.1097/01.hjr.0000131677.96762.0c

19. Warburton, D. E., McKenzie, D. C., Haykowsky, M. J., Taylor, A., Shoemaker, P., Ignaszewski, A. P., & Chan, S. Y. (2005). Effectiveness of high-intensity interval training for the rehabilitation of patients with coronary artery disease. *The American journal of cardiology, 95*(9), 1080-1084. doi: 10.1016/j.amjcard.2004.12.063

30. Rosenfeld, M. G., Mermod, J. J., Amara, S. G., Swanson, L. W., Sawchenko, P. E., Rivier, J., . . . Evans, R. M. (1983). Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature, 304*(5922), 129-135. doi: 10.1038/304129a0

31. Fagerlund, M. J., & Eriksson, L. I. (2009). Current concepts in neuromuscular transmission. *British Journal of Anaesthesia, 103*(1), 108-114. doi: 10.1093/bja/aep150

32. Homonko, D. A., & Theriault, E. (1997). Calcitonin gene-related peptide is increased in hindlimb motoneurons after exercise. *International journal of sports medicine, 18*(7), 503-509. doi: 10.1055/s-2007-972672

rat muscles. *Molecular Brain Research, 44*(2), 253-261. doi: https://doi.org/10.1016/S0169-328X(96)00227-6

Original Article

Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) on Calcitonin Gene-Related Peptide in Soleus Muscle of Male Rats

Received: 01/03/2023 - Accepted: 23/08/2022

Firuzeh Khamourdi[1]
Ahmad Hemat Far[*2]
Mani Rozbayani[3]
Nasser Behpour[4]

[1] PhD student in exercise physiology, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran
[2] Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran. (Responsible author)
[3] Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran.
[4] Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Razi University, Kermanshah, Iran

Email:
hematfarahmad407@gmail.com

Abstract

Introduction: Neuromuscular connection and synaptic transmission to all types of skeletal muscles may be affected by physical training. The purpose of this research is to investigate the effect of a period of high intensity interval training (HIIT) on the expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the soleus muscle of male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 12 male Wistar rats weighing 200-220 grams were randomly placed into two training and control groups. HIIT training consisted of 6 to 12 repetitions of 2-minute interval training, with a one-minute rest between each repetition. Training was designed for 5 days a week and 6 weeks. The conditions of the control group were similar to the training group, but they did not exercise. 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized by the standard method, sacrificed and the soleus muscle tissue of all the rats was extracted, then Western blotting was used to determine the level of CGRP expression. The independent t-test was used to check the significant difference between the control and HIIT groups. A significance level of $p<0.05$ was considered.

Results: Statistical findings for CGRP receptor protein expression values showed that the implementation of 6 weeks of HIIT training protocol increased the expression of CGRP protein compared to the control group; This value was not statistically significant ($p=0.078$).

Conclusion: Despite the increase in the expression of CGRP in the soleus muscle of rats, it seems that doing 6 weeks of HIIT training is not enough to cause a significant change in the expression of the CGRP gene in the soleus muscle of rats, and it should be Longer protocols should be used.

Key words: high-intensity interval training, calcitonin gene-related peptide, soleus muscle

Acknowledgement: There is no conflict of interest