فیزیولوژی ورزشی شماره ۲۳، پاییز ۱۳۹۳، صص ۹۴-۸۳

اثر تخلیه گلیکوژنی و افزایش مجازی سطوح لاکتات بر پاسخ CGRP سرم به تمرین استقامتی

محمود خانی[۱]، روح الله نیکویی[۲]، حمید معرفتی[۳]

۱. کارشناس ارشد دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲. استادیار دانشگاه شهید باهنر کرمان*

۳. استادیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۶

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین تاثیر تخلیه گلیکوژنی بر پاسخ CGRP در حین تمرین استقامتی و اثر احتمالی لاکتات بر آزاد سازی آن در شرایط استراحت بود. ۱۰ نفر دانشجوی مرد فعال تربیت بدنی با میانگین سن ۱/۶۷±۲۲/۴، وزن ۵/۵۶ ± ۷۱/۲۸ و شاخص توده بدنی ۱/۰۷ ± ۲۳/۳۱ به صورت هدفمند انتخاب و در ۴ وهله مجزا با حداقل فاصله زمانی یک هفته ۴ آزمون جهت سنجش Pmax، انجام فعالیت استقامتی حاد پس از تخلیه گلیکوژن (کوشش تخلیه)، فعالیت استقامتی حاد (کوشش کنترل) و کلمپ لاکتات انجام دادند. قبل و بلافاصله پس از پایان سه کوشش اخیر، نمونه خونی جهت اندازه‌گیری غلظت لاکتات پلاسما، CGRP و تری‌گلیسریدسرم جمع‌آوری گردید. اندازه‌گیری لاکتات و CGRP به ترتیب با روش های RIA و ELISA انجام و جهت تعیین تفاوت متغیرها بین دو کوشش کنترل و تخلیه از آزمون آماری t وابسته استفاده گردید. نتایج پژوهش حاکی از افزایش معنادار غلظتCGRP بعد از انجام کوشش تخلیه (P<0.001)، کوشش کنترل (P<0.001) و کوشش کلمپ لاکتات (P<0.001) نسبت به مقادیر اولیه آن بود. هم‌چنین مقادیر CGRP سرم بلافاصله بعد از تمرین، بین کوشش های کنترل و تخلیه تفاوت معنادار داشت (P<0.01). ارتباط معناداری بین سطوح لاکتات پلاسما و غلظت های CGRP سرم یافت شد (P<0.01). ضمن این که مقادیر تری‌گلیسریدسرم بلافاصله بعد از تمرین، بین کوشش های کنترل و تخلیه تفاوت معنادار داشت(P <0.01). به طور خلاصه، نتایج پژوهش نشان داد تمرین استقامتی حاد موجب افزایش معنادار در غلظت CGRP سرم می‌شود و احتمالا دلیل این افزایش، شرکت CGRP در راه اندازی مسیر اکسیداسیون چربی است. هم‌چنین با توجه به نتایج کلمپ نیز می‌توان از لاکتات به عنوان عامل احتمالی افزایش CGRP در حین تمرین استقامتی نام برد.

واژگان کلیدی: CGRP، لاکتات، تخلیه گلیکوژنی، کلمپ لاکتات.

* نویسنده مسئول Email: r_nikooie@uk.ac.ir

مقدمه

خانواده پپتیدهای کلسی‌تونین شامل شش عضو به نام های کلسی‌تونین[1]،آمیلین[2]، آدرنومدولین[3]، پپتید مربوط به ژن کلسی‌تونین(CGRP)[4] که خود شامل دو نوع CGRPα و CGRPβ است(۱،۲) و اینتر مدین[5] (۴،۳) است که علیرغم داشتن توالی اسیدآمینه‌ای و ساختار مشابه تاثیرات بیولوژیکی متعددی از قبیل رگ‌گشایی، جذب مواد مغذی و ... را القاء می‌کنند (۱). پپتید مرتبط به ژن کلسی‌تونین (CGRP) که در بدن انسان به دو شکل CGRPα و CGRPβ وجود دارد، یک پپتید ۳۷ آمینو اسیدی است که طی فرآیند خاصی از ژن کلسی‌تونین تولید و به همراه استیل‌کولین در پاسخ به محرک های فیزیولوژیک از نورون حرکتی به درون پیوندگاه عصبی عضلانی[6] ترشح می‌شود (۵). گیرنده های این پپتید بر روی سارکولما و عمدتاً در صفحه محرکه انتهایی قرار دارند که CGRPبا اتصال به آن‌ها اثرات فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کند (۶،۷).

CGRP در فعالیت های بیولوژیک چندگانه‌ای مانند فرآیند رگ گشایی (۸)، درد حاد و مزمن (۹)، محافظت قلبی (۱۰،۱۱) و تاثیرات متابولیکی مانند ایجاد مقاومت انسولین در عضله اسکلتی و کبد شرکت می‌کند (۱۲،۱۳). بنابراین از این پپتید به عنوان یک تنظیم‌کننده گردش خون و یک نوروترانسمیتر نیز یاد شده است. در عین حال نقوش فیزیولوژیکی CGRP در انسان به طور کامل شناخته نشده است. اخیراً علاوه بر نقش های فوق الذکر شرکت در متابولیسم لیپید نیز به اعمال CGRP اضافه گردیده است (۱۴،۱۵). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد CGRP، دسترسی به اسید چرب و استفاده از آن در بافت های کلیدی مانند عضله اسکلتی را افزایش و تامین نیاز های انرژتیک مورد نیاز انقباض عضله را تسهیل می‌کند (۱۴). نشان داده شده است که با تزریق CGRP در عضله، محتوای FFA عضله بعد از یک ساعت، افزایش می‌یابد. هم‌چنین محتوای TG عضله اسکلتی حیواناتی کهCGRP به آن‌ها تزریق شده بود بعد از یک ساعت تا ۵۰٪ کاهش نشان می‌دهد، در حالی که محتوای FFA افزایش می‌یابد (۱۴). استفاده از رژیم های غذایی پر چرب در رت‌ها باعث افزایش پاسخ CGRP در عضله می‌شود که با افزایش محتوای cAMP[7] در عضلات رت همراه است که این عمل وابسته به دوز، در مقادیر پایین‌تر CGRP اثرات کمتری به همراه دارد (۱۴). در مطالعات in vitro

1. Calcitonin
2. Amylin
3. Adrenomedullin
4. Calcitonin gene-relate peptide
5. Intermedin
6. Neuromascular junction
7. cyclic adenosine monophosphate

تزریق ۱ میکرو مول CGRP بعد از یک ساعت اکسیداسیون اسید چرب سلول را تحریک و باعث افزایش AMPK[1] که محرکی قوی در اکسیداسیون چربی است، می‌گردد (۱۴).
در پاسخ به یک جلسه تمرین حاد سطوح CGRP چه در سطح سرم و چه در سطح عضله اسکلتی به روش وابسته به نوع تار افزایش می‌یابد که این افزایش در تارهای نوع II نسبت به نوع I بیشتر است (۱۶). علیرغم مشخص شدن نقش های متعدد CGRP در حین استراحت، نقوش فیزیولوژیک آن در حین تمرین هنوز به طور کامل شناخته نشده است. با توجه به موارد فوق الذکر و با در نظر گرفتن اثرات تثبیت شده CGRP در اکسیداسیون لیپید در شرایط استراحت، این امکان وجود دارد که یکی از دلایل افزایش CGRP در حین تمرین استقامتی به دلیل تسهیل راه اندازی اکسیداسیون اسید چرب به وقوع بپیوندد. با این وجود تاکنون مطالعه‌ای این نقش احتمالی در حین تمرین را مورد مطالعه قرار نداده است. لذا هدف اول از مطالعه حاضر تعیین نقش CGRP بر اکسیداسیون لیپید در حین تمرین استقامتی است. این هدف در پژوهش حاضر با مطالعه پاسخ CGRP سرم در حین تمرین استقامتی بعد از اعمال تخلیه گلیکوژن (با این دیدگاه که بعد از تخلیه گلیکوژنی اکسیداسیون لیپید با نرخ بیشتری انجام می‌شود) و مقایسه آن با شرایط کنترل عملی شد. هم‌چنین تمامی تغییرات ناشی از تمرین در عضله اسکلتی دارای یک منشا سیگنالینگ مشخص هستند. در مطالعه‌ای که در آن اثر تمرین در ارتفاع و هیپوکسی بر رهایش CGRP بررسی شده است همبستگی نسبتاً بالایی ($r = ۰/۶۳$) بین سطوح CGRP و لاکتات پلاسما گزارش گردیده است (۱۷). به علاوه در مطالعه دیگر در پاسخ به تمرین حاد، بیان CGRP در تارهای تند انقباض بیشتر از تارهای کند انقباض بوده است (۱۶). با توجه به همبستگی گزارش شده و این که تارهایFT در حین تمرین محتوای لاکتات بیشتری نسبت به تارهای ST دارند، می‌توان این فرضیه را بسط داد که احتمالاً افزایش سطوح لاکتات به عنوان یک عامل سیگنالینگ در افزایش بیان CGRP در عضله اسکلتی عمل می‌کند. لذا هدف دوم از پژوهش حاضر بررسی اثر افزایش لاکتات بر سطوح CGRP سرم بود که از طریق افزایش مجازی سطوح لاکتات در شرایط استراحت و تعیین ارتباط بین سطوح CGRP سرم و لاکتات پلاسما بلافاصله بعد از انجام تمرین استقامتی مورد بررسی قرار گرفت.

روش پژوهش

تعداد ۱۰ نفر آزمودنی مرد فعال از بین دانشجویان رشته تربیت بدنی دانشگاه شهید باهنر کرمان به صورت هدفمند و از بین افرادی که توانسته بودند در آزمون سنجش Pmax توانی بیش از ۲۵۰ وات را

1. AMP- activated protein kinase

اجرا کنند، انتخاب و در پژوهش شرکت کردند. توصیف برخی از متغیرهای فیزیولوژیک و آنتروپومتریک آن‌ها در جدول۱ ارائه شده است. آزمودنی‌ها در سه جلسه مجزا با فاصله زمانی یک هفته سه تست Pmax ، تمرین استقامتی حاد متعاقب تخلیه گلیکوژنی و تمرین استقامتی حاد را انجام دادند. هم‌چنین در یک جلسه مجزا افزایش مجازی لاکتات را در تست lactate clamp تجربه کردند.

جدول۱- توصیف ویژگیهای آنتروپومتریک و فیزیولوژیک آزمودنی ها

متغیر	تعداد	میانگین	انحراف معیار	توزیع
سن (سال)	۱۰	۲۲/۴	۱/۶۷	نرمال
قد (سانتیمتر)	۱۰	۱۷۵/۷۵	۵/۷۷	نرمال
وزن (کیلوگرم)	۱۰	۷۱/۲۸	۵/۵۶	نرمال
توده بدون چربی	۱۰	۵۶/۲	۳/۴	نرمال
شاخص توده بدن	۱۰	۲۳/۳۱	۱/۰۷	نرمال
Pmax (وات)	۱۰	۲۶۷/۵	۲۶/۴۸	نرمال

آزمون Pmax: این تست شامل رکاب زدن بر روی دوچرخه ارگومتر به مدت ۵ دقیقه با توان ۵۰ وات به عنوان گرم کردن بود و در ادامه آزمون با بار کاری ۱۵۰ وات و ۶۰= RPM شروع می‌شد. هر دقیقه یکبار توان ۲۵ وات افزایش می‌یافت و آزمودنی تا سرحد واماندگی آزمون را ادامه می‌داد. توان معادل با آخرین مرحله‌ای که به طور کامل تکمیل شده بود به عنوان Pmax در نظر گرفته شد (۱۸) و برای اجرای آزمون های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

پروتکل فعالیت استقامتی پس از تخلیه گلیکوژنی(کوشش تخلیه): این تست بعد از اعمال تخلیه گلیکوژن انجام شد. پروتکل تخلیه گلیکوژن عصر روز قبل از اجرای آزمون و به شیوه زیر اجرا شد. شروع کار با بار کاری معادلPmax ۱۰۰٪ به مدت ۱ دقیقه با RPM=۶۰ و ۲ دقیقه رکاب زدن باPmax ۵۰٪ به عنوان استراحت فعال بین کوشش های تمرین بود. آزمودنی این کار را تکرار کردند تا زمانی که دیگر قادر به حفظ RPM مورد نظر نبودند. سپس بار کاری به Pmax ۹۰٪ تنزل یافت و مرحله بالا تکرار می‌شد. این عمل برای شدت های ۶۰،۷۰،۸۰ درصد Pmax تکرار و با اتمام رکاب زدن با شدت Pmax۶۰٪ پروتکل تخلیه گلیکوژنی خاتمه می‌یافت (۱۸). در پایان اجرای پروتکل تخلیه گلیکوژن غلظت گلوکز خون اندازه‌گیری و مقادیر گلوکز خون کمتر از mg/dl ۷۰ به عنوان صحت تخلیه گلیکوژنی محسوب شد (۱۹). فردای روز بعد، ۱۰ تا ۱۲ ساعت بعد از انجام تخلیه گلیکوژن آزمودنی‌ها یک آزمون استقامتی را تا سر حد واماندگی اجرا کردند. علت انتخاب این فاصله زمانی تا اجرای آزمون

استقامتی این بود که اولاً فرصت بازگشت کامل ذخایر گلیکوژن داده نشود ثانیاً زمان کافی برای ریکاوری آزمودنی‌ها برای اجرای آزمون استقامتی وجود داشته باشد. در این تست، آزمودنی‌ها به مدت ۵ دقیقه و با شدت ۱۲۰ وات بر روی دوچرخه کارسنج شروع به گرم کردن کردند و پس از پایان ۵ دقیقه با شدت ۸۰٪ ضربان قلب بیشینه تا سر حد واماندگی رکاب زدند. قبل و بلافاصله بعد از آزمون نمونه خونی از ورید بازویی جمع‌آوری شد و در ۳۰۰۰g ،min ۱۵، ۴° سانترفیوژ و پلاسما و سرم به طور جداگانه جهت اندازه‌گیری مقادیر لاکتات پلاسما، CGRP سرم و تری‌گلیسرید جمع‌آوری شد. زمان تحمل شده در این فعالیت برای هر آزمودنی ثبت و به عنوان ملاک زمانی جهت انجام فعالیت استقامتی در کوشش کنترل استفاده گردید. در تمام این مقاله از روش فوق به عنوان کوشش تخلیه یاد شده است.

تمرین استقامتی حاد (کوشش کنترل): آزمودنی‌ها یک هفته بعد از اجرای کوشش تخلیه گلیکوژنی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۱۲۰ وات بر روی دوچرخه کارسنج، فعالیت استقامتی یکنواختی را با ۸۰٪ ضربان قلب بیشینه خود انجام دادند. انجام آزمون تا زمان رسیدن به مدت زمان ثبت شده در کوشش تخلیه گلیکوژنی ادامه می‌یافت و با رسیدن به این زمان آزمون متوقف و اندازه‌گیری و جمع‌آوری اطلاعات همانند روش قبل انجام می‌گرفت. از مقادیر لاکتات بدست آمده در انتهای این فعالیت، جهت انجام پروتکل افزایش مجازی لاکتات استفاده گردید. در تمام این مقاله از روش فوق به عنوان کوشش کنترل یاد شده است.

پروتکل کلمپ لاکتات[1](کوشش کلمپ): در این پژوهش جهت پی بردن به این که آیا افزایش سطوح لاکتات باعث آزاد شدن CGRP می‌شود یا نه، از افزایش مجازی سطوح لاکتات خون (Lactate clamp) استفاده شد. روش اجرای کار به صورت زیر بود. محلول ۳۰٪ L lactic acid خریداری و PH آن در ۴/۸ تنظیم گردید. با احتساب این که میانگین مقادیر لاکتات در انتهای فعالیت استقامتی در کوشش کنترل برابر ۳/۹ بود، هدف از انجام تزریق مجازی لاکتات در این پژوهش رساندن مجازی سطوح لاکتات به مقدار ۳/۵ تا ۴/۵ میلی مول در لیتر بود. ابتدا در یک آزمون آزمایشی(Pilot study) پروتکل تزریق مجازی بر روی۳ آزمودنی به اجرا در آمد. آزمودنی‌ها محلول ال لاکتات ۳۰٪ را از طریق ورید بازویی دریافت می‌کردند ضمن این که هر ۵ دقیقه یک بار اندازه‌گیری لاکتات از نوک انگشت جهت تعیین نرخ تزریق صورت می‌گرفت. با کم و زیاد کردن نرخ تزریق مشخص گردید که تزریق محلول با نرخ ۱۱۵ml/h (تقریبا هر یک ثانیه یک قطره) سطوح لاکتات خون را بین ۳/۵- ۴/۵ نگه می‌دارد (۲۰). از این اطلاعات جهت انجام پروتکل clamp در سایر آزمودنی‌ها استفاده شد. عمل تزریق

1. Lactate clamp

در مدت زمانی برابر با زمان اجرای پروتکل فعالیت استقامتی هر آزمودنی ادامه یافت. نمونه خونی قبل و بعد از انجام پروتکل clamp جهت اندازه‌گیری CGRP سرم جمع‌آوری گردید.

اندازه‌گیری غلظت CGRP سرم در این پژوهش به روش الایزا وبا کیت با مارک تجاری(PeninsulaLabs, LLC) ساخت کشور آمریکا با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۲ng/ml اندازه‌گیری شد. غلظت لاکتات پلاسما با استفاده lactic Acid kit, Biovision, cat num: k607-700 و هم‌چنین دستگاه لاکتومتر (latate scott) ساخت کشور آلمان انجام گردید. اندازه‌گیری غلظت تری‌گلیسرید خون با دستگاه اتوآنالایزر و با استفاده از کیت تری‌گلیسرید انجام گردید.

در بخش آمار توصیفی از شاخص های مرکزی، پراکندگی، میانگین، انحراف معیار استفاده شد. طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون K-S سنجیده شد. برای مقایسه بین متغیرهای پژوهش بعد از فعالیت استقامتی در دو کوشش از آزمون t همبسته استفاده شد. همبستگی بین متغیرها با آزمون گشتاوری پیرسون سنجیده شد. در تمامی مقایسه‌ها سطح معناداری برابر$\alpha=0.05$ انتخاب گردید.

نتایج

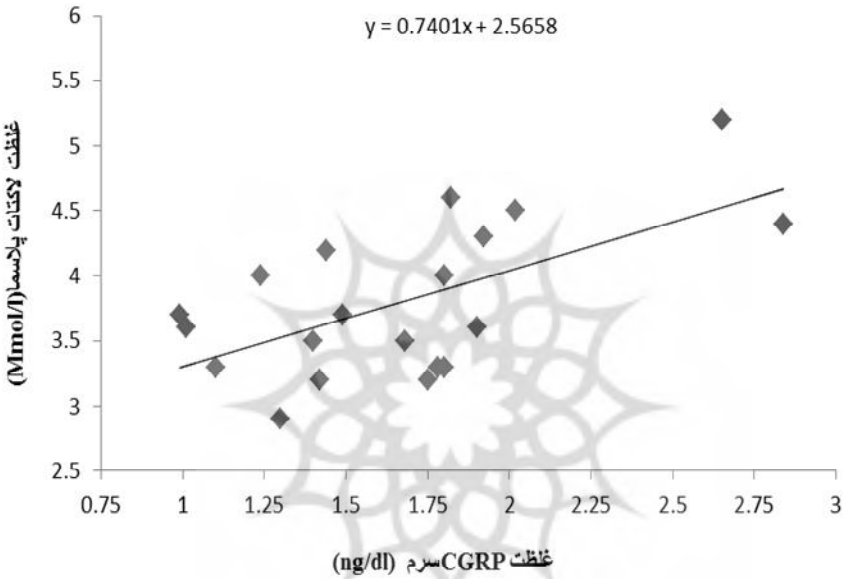
جدول۲ مقادیر لاکتات پلاسما، CGRPو تری‌گلیسریدسرم قبل و بعد از سه کوشش کنترل، تخلیه و کلمپ را نشان می‌دهد. بین محتوای CGRP قبل و بعد از کوشش کنترل ($P<0.001$)، کوشش تخلیه ($P<0.001$)و کوشش کلمپ ($P<0.001$) تفاوت معنادار وجود داشت. به علاوه بین مقادیر CGRP بلافاصله بعد از تمرین، بین کوشش تخلیه و کوشش کنترل تفاوت معناداری یافت شد ($P<0.01$).

جدول۲– مقادیر لاکتات پلاسما، CGRP و تری‌گلیسریدسرم قبل و بعد از سه کوشش کنترل، تخلیه و کلمپ

متغیر	کوشش کنترل		کوشش تخلیه		کوشش کلمپ	
	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد
CGRPسرم (ng/dl)	۱/۳۱ ± ۰/۳۶	۱/۵۶ ± ۰/۴۶	۱/۴۰ ± ۰/۴۲	۱/۷۷ ± ۰/۴۹	۱/۳۶ ± ۰/۳۰	۱/۵۷ ± ۰/۴۳
لاکتات سرم (Mmol/l)	۱/۷ ± ۰/۷	۳/۶۳ ± ۰/۶۳	۱/۷۴ ± ۰/۳۳	۳/۹۷ ± ۰/۵۱	۱/۶۶ ± ۰/۵۶	۳/۸۵ ± ۰/۲۱
تری‌گلیسریدسرم (mg/dl)	۱۳۳ ± ۲۵	۱۱۵ ± ۲۵	۱۲۷ ± ۲۲	۱۰۱ ± ۱۹		

* متغیرها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می باشند، (n = ۱۰)

بین غلظت لاکتات پلاسما و غلظت CGRP سرم (مجموع داده های بدست آمده بعد از کوشش کنترل وکوشش تخلیه) همبستگی معناداری وجود داشت($R=0.61, P<0.05$). شکل ۱ نمودار پراکنش بین دو متغیر و معادله خطی را نشان می‌دهد.



شکل۱ - ارتباط بین CGRP سرم و لاکتات پلاسما در مجموع دو کوشش کنترل و تخلیه

بین غلظت لاکتات پلاسما متعاقب تمرین استقامتی حاد در کوشش تخلیه گلیکوژنی و کوشش کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت (جدول۲) .

بین غلظت تری‌گلیسریدسرم قبل و بعد از کوشش کنترل ($P<0.01$) و کوشش تخلیه گلیکوژن($P<0.01$) تفاوت معناداری یافت شد (جدول۲). ضمن این که مقادیر تری‌گلیسریدسرم بلافاصله بعد از تمرین، بین کوشش های کنترل و تخلیه تفاوت معنادار داشت ($P<0.01$).

بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین تاثیر تخلیه گلیکوژنی و اثر احتمالی لاکتات بر آزاد سازی CGRP در حین تمرین استقامتی حاد بود. اهم نتایج به شرح زیر بود: ۱) بین محتوای CGRP سرم بلافاصله

بعد از تمرین، بین کوشش تخلیه و کوشش کنترل تفاوت معناداری وجود داشت؛ ۲) افزایش مجازی سطوح لاکتات خون باعث افزایش معنادار در سطوح CGRP سرم گردید، هم‌چنین بین غلظت لاکتات پلاسما و CGRP سرم بلافاصله پس از انجام فعالیت استقامتی ارتباط معناداری وجود داشت.

در مطالعه حاضر به دنبال اعمال پروتکل استقامتی حاد (کوشش کنترل) سطوح CGRP سرم افزایش ۱۹ درصدی معناداری داشت. این نتایج در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش گردیده است (۱۶،۲۱). عوامل متعددی باعث افزایش CGRP سرم در حین تمرین استقامتی می‌شوند. در پژوهشی که توسط فیلیپ هاسباگ و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد، هایپوکسی ناشی از ارتفاع با رهایش CGRP همراه بود و به نظر می‌رسد که هایپوکسی ایجاد شده در اثر تمرین نیز تاثیر مشابهی بر رهایش CGRP داشته باشد (۱۷). هم‌چنین نشان داده شده است که با انجام فعالیت بدنی و افزایش فعالیت پیوندگاه عصبی عضلانی در اثر تحریک عصبی میزان رهایش CGRP افزایش می‌یابد (۱۶).

به علاوه در کنار عوامل فوق و با توجه به مطالعات in vitro که در آن‌ها درگیری CGRP در متابولیسم چربی گزارش شده است، این امکان وجود دارد که این افزایش سطوح CGRP سرم در حین تمرین به دلیل تحریک متابولیسم چربی اتفاق افتاده باشد (۱۴،۱۵). هر چند کمتر روی نقوش متابولیسمی CGRP مطالعه شده است، اما نشان داده شده است که CGRP در شرایط استراحت از طریق مسیرهای سیگنالینگ مانند cAMP و AMPK تاثیرات قوی‌ای بر متابولیسم چربی در عضله اسکلتی اعمال می‌کند (۱۴). در عین حال مطالعه‌ای که تاثیر این نقش در حین تمرین را بررسی کرده باشد وجود ندارد. به منظور مشخص شدن این نقش احتمالی در حین تمرین بر اکسیداسیون لیپید در پژوهش حاضر ۱۰ ساعت بعد از تخلیه گلیکوژنی، آزمودنی‌ها فعالیت استقامتی حاد را با ۸۰٪HRmax انجام دادند. تخلیه گلیکوژن در پژوهش حاضر بدین منظور انجام شد که آزمودنی‌ها فعالیت استقامتی خود را با دو سطح متفاوت از گلیکوژن در شروع فعالیت استقامتی انجام دهند. ایده کلی این بود که با توجه به این که فاصله زمانی بین تخلیه گلیکوژنی و انجام فعالیت استقامتی بعد از آن کوتاه بود (۱۰ساعت) و امکان بازسازی کامل گلیکوژن عضله تا شروع فعالیت استقامتی حاد بعدی وجود نداشت، لذا اکسیداسیون لیپید در کوشش تخلیه گلیکوژن بیشتر از فعالیت کوشش کنترل باشد. این موضوع در پژوهش‌های دیگر هم نشان داده شده است و این پژوهش‌ها خاطر نشان کرده اند که بعد از تخلیه گلیکوژن سطوح FFA در پلاسما و به کار گیری آن در حین تمرین به صورت محسوس افزایش می‌یابد (۱۹). در پژوهش حاضر نیز افزایش اکسیداسیون لیپید در حین تمرین استقامتی متعاقب تخلیه گلیکوژنی در مقایسه با تمرین در شرایط کنترل دیده شد، چرا که با اندازه‌گیری غلظت TG خون ابتدا و انتهای کوشش کنترل و تخلیه و مقایسه آن‌ها با یکدیگر این نتیجه حاصل شد که میزان کاهش در TG خون در انتهای فعالیت استقامتی در کوشش تخلیه نسبت به کوشش کنترل به طور معنادار بیشتر

بود. این نتیجه بیان می‌کند که در طول تمرین استقامتی در کوشش تخلیه اتکا به اکسیداسیون لیپید نسبت به کوشش کنترل بیشتر بوده است. با وجود آن که سعی بر آن شد که نسبت تبادل تنفسی در حین تمرین استقامتی نیز ثبت شود تا بتوان در مورد اکسیداسیون لیپید اظهار نظر قطعی‌تری کرد، لیکن در پژوهش حاضر این مهم عملی نشد. با توجه به اتکا بیشتر به مسیر اکسیداسیون لیپید و هم‌چنین بالاتر بودن همزمان سطوح CGRP در انتهای فعالیت استقامتی در کوشش تخلیه می‌تواند این فرضیه را بسط دهد که احتمالاً افزایش CGRP در حین تمرین به دلیل افزایش اکسیداسیون لیپید اتفاق می‌افتد. تزریق مستقیم CGRP و اندازه‌گیری اکسیداسیون لیپید متعاقب آن که می‌تواند نتایج مستقیم و محکم تری را در این زمینه فراهم کند، به محققان بعدی پشنهاد می‌شود.

علیرغم بدست آمدن این نتیجه، باید حتماً نقش تخریب عضلانی ناشی از پروتکل تخلیه گلیکوژنی هم در تفسیر نتایج فوق مد نظر قرار گیرد، چرا که نشان داده شده است وجود انقباضات برون گرا در حین تمرین که منجر به کوفتگی تاخیری عضله (DOMS)[1] می‌شود، باعث افزایش سطوح CGRP در هر دو نوع تار می‌گردد (۱۶،۲۲،۲۳). به همین دلیل و در جهت رفع اثر حاد تخلیه گلیکوژن بر پاسخ CGRP سرم، در هر دو کوشش، کنترل و تخلیه مقادیر سرمی CGRP قبل و بعد از فعالیت استقامتی اندازه‌گیری شد و تمامی مقایسه‌ها بر اساس تغییرات غلظت سرمی CGRP انجام شد. این امر می‌تواند تا حدودی مشارکت اثرات DOMS و تخریب پیوندگاه عصبی عضلانی را در افزایش مشاهده شده در تغییرات CGRP در کوشش تخلیه را به حداقل برساند. با این وجود هنوز هم امکان تداخل این اثر در افزایش ثبت شده وجود خواهد داشت.

هدف دوم پژوهش حاضر تعیین منشا سیگنالینگ افزایش CGRP در حین تمرین استقامتی بود. با توجه به ادبیات پیشینه و نتایج پژوهش هاسباک و همکاران که نشان دادند رهایش CGRP در حین تمرین در ارتفاع و در شرایط هیپوکسی الگوی مشابهی با رهایش لاکتات دارد و رابطه خطی‌ای را بین افزایش لاکتات و افزایش CGRP خون گزارش کردند (r=۰/۶۳) (۱۷)، این فرضیه توسعه یافت که احتمالاً افزایش سطوح CGRP خون در اثر افزایش سطوح لاکتات اتفاق می‌افتد. بدین منظور در پژوهش حاضر ارتباط بین غلظت های CGRP سرم و لاکتات پلاسما بلافاصله بعد از انجام کوشش کنترل و کوشش تخلیه، اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد بین این دو متغیر در مجموع دو کوشش کنترل و تخلیه ارتباط معنادار وجود دارد. این ارتباط نسبتاً بالا نشان داد که به احتمال زیاد افزایش سطوح لاکتات مخصوصاً لاکتات درون عضلانی (هر چند در این پژوهش این متغیر اندازه‌گیری نشده است) عامل رهایش CGRP در حین تمرین استقامتی است. علیرغم بدست آمدن این رابطه به دلیل این که

1. Delayed Onset Muscle Soreness

رابطه آماری لزوماً دلیل بر رابطه علی و معلولی نیست، در یک کوشش جداگانه جهت تعیین دقیق نقش لاکتات برسطوح CGRP سرم آزمودنی‌ها کلمپ لاکتات را تجربه کردند.

با احتساب این که مقادیر لاکتات در انتهای فعالیت استقامتی برابر با ۳/۶۳ بود، هدف از انجام کلمپ لاکتات در این پژوهش رساندن مجازی سطوح لاکتات به مقدار ۳/۵ تا ۴/۵ میلی مول در لیتر بود. هم‌چنین زمان پروتکل کلمپ لاکتات به مدت یک ساعت برای هر آزمودنی ادامه می‌یافت که تقریباً زمانی برابر با زمان اجرای کوشش های کنترل و تخلیه داشت. نتایج افزایش معنادار در غلظت CGRP سرم بعد از کلمپ لاکتات نسبت به قبل از آن را نشان داد. این افزایش تقریباً با افزایش آن در تمرین استقامتی حاد برابر بود و نشان از تاثیر بالای لاکتات بر رهایش CGRP دارد. با این وجود احتمالاً عوامل هورمونی، عصبی و عوامل دیگر که با تمرین فعال می‌شوند نیز در افزایش سطوح CGRP سرم درگیر هستند.

موارد مشابه با یافته پژوهش حاضر در مطالعه ژیان وامگ و همکاران (۱۹۹۷) گزارش شده است که طی آن افزایش لاکتات و کاهش PH منجر به بالا رفتن CGRP در نخاع موش شد (۲۴). هم‌چنین نشان داده شده است اسید لاکتیک می‌تواند واسطه رهایشCGRP از اعصاب حسی در عضله قلبی خوکچه هندی باشد (۲۴). به علاوه اثر مشاهده شده وابسته به دوز بوده است چرا که کاهش PH از ۷/۴ به کمتر از ۶ و افزایش اسید لاکتیک به مقادیر ۵ و ۱۰ میلی مول در لیتر رهایشCGRP را افزایش داده است اما غلظت های لاکتات معادل با ۲/۵ میلی مول در لیتر تغییر چندانی در رهایش CGRP ایجاد نکرده است. لذا ممکن است مکانیزم مشابهی در اعصاب محیطی عضله اسکلتی وجود داشته باشد که افزایشCGRP را از طریق افزایش اسید لاکتیک میانجی کند (۲۴). مقادیر لاکتات ۵ میلی مول که در پژوهش ژیان وامگ و همکاران (۱۹۹۷) باعث افزایش معنادار در رهایش CGRP شد، شباهت زیادی به مقادیر لاکتات ثبت شده در انتهای کوشش تخلیه (۳/۹۷ میلی مول) و کوشش کنترل (۳/۶۳ میلی مول) در پژوهش حاضر دارد که می‌تواند اثر احتمالی لاکتات بر آزادسازی CGRP در حین تمرین را قوت بخشد.

به طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی حاد موجب افزایش معنادار در غلظت CGRP سرم می‌شود و یکی از دلایل احتمالی این افزایش می‌تواند راه اندازی مسیر اکسیداسیون چربی در پاسخ به شرایط هایپوگلیسمی ایجاد شده در حین تمرین باشد. در واقع ترشح CGRP مکانیزمی جبرانی است تا از طریق فعال سازی مسیر اکسیداسیون چربی هوموستاز گلوکز در حین تمرین را کنترل نماید. هم‌چنین با توجه به نتایج کلمپ لاکتات که افزایش سطوح CGRP را به دنبال داشت، می‌توان از لاکتات به عنوان عامل احتمالی افزایش CGRP در حین تمرین استقامتی نام برد.

منابع

1) Poyner D R, Sexton P M, Marshall I, Smith D M, Quirion R, Born W, et al. International Union of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. Pharmacol Rev . 2002; (54): 233-46.

2) Esfandyari T, Macnaughton W K, Quirion R, Pierre S, Junien J L, Sharkey K A. 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.

3) 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.

4) Taylor MM, Bagley SL, Samson WK. Intermedin/Adrenomedullin-2 inhibits growth hormone release from cultured, primary anterior pituitary cells. Endocrinology. 2006; (147): 859-64.

5) Takami K, Kawai Y, Uchida S, Tohyama M, Shiotani Y, Yoshida H, et al. Effect of calcitonin gene-related peptide on contraction of striated muscle in the mouse. Neurosci Lett. 1985;(60): 227–30.

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): 335–45.

7) Hokfelt T, Holets VR, Staines W, Meister B, Melander T, Schalling M, et al. Coexistence of neuronal messengers - an overview. Prog Brain Res. 1986 (68):33–70.

8) Brain Susan D, Grant Andrew D. Vascular Actions of Calcitonin Gene-Related Peptide and Adrenomedullin. Physiol Rev. 2004; (84): 903–34.

9) Cooper GJ. Amylin compared with calcitonin gene-related peptide: structure , biology, and relevance to metabolic disease. Endocr Rev. 1994 ; (15):163–201.

10) Uddman R, Edvinsson L, Ekblad E, Hakanson R, Sundler F. Calcitoningene - related peptide (CGRP): perivascular distribution and vasodilatory effects. Regul Pept. 1986; (15):1–23.

11) Shiraki Hinako, Kawasaki Hiromu, Tezuka Satoko, Nakatsuma Akira, Kurosaki Yuji. Endogenous calcitonin gene-related peptide (CGRP) mediatesadrenergic-dependent vasodilation induced by nicotine in mesenteric resistance arteries of the rat. British Journal of Pharmacology. 2000 ; (130): 1083 – 91.

12) Leighton B, Cooper GJ. Pancreatic amylin and calcitonin gene elatedpeptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vitro. Nature. 1988;(335):632–35.

13) Takatori Shingo, Zamami Yoshito, Mio Mitsunobu, Kurosaki Yuji, Kawasaki Hiromu. Chronic Hyperinsulinemia Enhances Adrenergic Vasoconstriction and Decreases Calcitonin Gene–Related Peptide–Containing Nerve–Mediated Vasodilation in Pithed Rats. Hypertens Res. 2006; 29 (5):361-68.

14) Danaher Rachel N, Loomes Kerry M, Leonard Bridget L, Whiting Lynda, Hay Debbie L, Xu Lance Yi. Evidence that α-Calcitonin Gene-Related Peptide Is a Neurohormone that Controls Systemic Lipid Availability and Utilization. The Endocrine Society Endocrinology. 2008; 149(1):154–60.

15) Christopher S Walker, Xiaoling Li, Lynda Whiting, Sarah Glyn-Jones, Shaoping Zhang, Anthony J Hickey, et al. Mice Lacking the Neuropeptide Calcitonin Gene-Related Peptide Are Protected Against Diet-Induced Obesity. Endocrinology. 2010;(151): 4257–69.

16) Homonko Darlene A, Theriault Elizabeth. Downhill running preferentially increases CGRP in fast glycolytic muscle fibers. J Appl Physiol. 2000; (89): 1928–36.

17) Hasbak Philip, Lundby Carsten, Vidiendal Olsen Niels, chifter Søren, Kanstrup IngeLis. Calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin release in humans:Effects of exercise and hypoxia. Regulatory Peptides. 2002;(108): 89– 95.

18) Anton J m, Wogenmakers ED, Beckers J , Brouns Fred, Kuipers Harm, Soeters Peter B, at al. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion and amio acid metabolism during exercise. American physiological society .1991;91: 883- 90.

19) Nicholas E K, George J F, Heigenhauser L, David J D. Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. J Physiol, 2003; 548(3): 919– 27.

20) Hall G, Saris WH, Schoor P A, Wagenmakers A J. The effect of free glutamine and peptide ingestion on the rate of muscle glycogen resynthesis in man. Int J Sports Med. 2000; 1(1):25-30.

۲۱) پرنو عبدالحسین، قراخانلو رضا، هدایتی مهدی، مهدیان رضا، گرگین زینب. اثر تمرینات ترکیبی و مقاومتی بر میزان پپتید وابسته به ژن کلسی تونین در عضلات کند و تند موش بالغ نژاد ویستار. دانشور، ۱۳۸۸؛ ۱۶(۸۴): ۸۰- ۷۱ .

۲۲) قراخانلو رضا، پرنو عبدالحسین، مهدی هدایتی، مهدیان رضا، رجبی سمیه. اثر تمرین های استقامتی و مقاومتی بر میزان پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین در عضلات کند انقباض و تند انقباض موش صحرایی. مجله ی غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۸۸؛۳(۴۵):۱۳- ۳۰۷ .

23) Jonhagen S, Ackermann P, Saartok T, Renstrom P A. Calcitonin gene related peptide and neuropeptide Y in skeletal muscle after eccentric exercise: a microdialysis study. Br J Sports Med. 2006; 40: 264-7.

24) Wamg X, Fiscus R R. Lactic acid potentiates bradykinin- and low-pH-induced release of CGRP from rat spinal cord slice. the American Physiological Society. 1997; 92-8.

ارجاع دهی به روش ونکوور:

خانی محمود، نیکویی روح الله، معرفتی حمید. اثر تخلیه گلیکوژنی و افزایش مجازی سطوح لاکتات بر پاسخ CGRP سرم به تمرین استقامتی. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۳؛ ۶(۲۳):۹۴-۸۳.

The effect of glycogen depletion and lactate clamp on serum CGRP response to endurance training

M. Khani[1], R. Nikooie[2], H. Marefati[3]

1. Master of Shahid Bahonar University of Kerman
2. Assistance Professor at Shahid Bahonar University of Kerman*
3. Assistance Professor at Shahid Bahonar University of Kerman

Received date: 2013/10/12 **Accepted date: 2014/02/15**

Abstract

The effect of glycogen depletion on CGRP response to endurance training and possible role of lactate on resting CGRP release were investigated in the present study. Ten active men with age 22.4 ± 1.67, weight 71.28 ± 5.56 and BMI 23.31 ±1.07 were participated in the study. In four separated sessions with at least one week wash out time between them, Each subject performed the Pmax test, acute time trial endurance exercise (control test), acute time trial endurance exercise after glycogen depletion (depletion test) and lactate clamp test. The blood samples were collected before and immediately after each test in order to determination of plasma lactate, serum CGRP and triglyceride concentrations. Plasma lactate and serum CGRP concentration were determined by RIA and ELISA techniques, respectively. The differences of variables between depletion and control tests were determined by one-paired sample t test. Serum CGRP concentration was significantly increased from its baseline values in control ($P<0.001$), depletion ($P<0.001$), and lactate clam tests ($P<0.001$). In addition, significant difference was found on post exercise value of serum CGRP concentration between control and depletion tests ($P<0.01$). There was a significant relationship between the levels of plasma lactate and serum CGRP concentration ($P<0.01$). Immediately after exercise, serum triglyceride concentration was significantly different between control and depletion tests ($P<0.01$). In summary our results shown that acute endurance exercise increase CGRP concentration and it likely incorporates in fat oxidation pathways. Also, regarding to the result of lactate clamp test, increase in serum CGRP concentration can be attributed to elevation of blood lactate concentration.

Keywords: CGRP, Lactate, Glycogen depletion, Clamp lactate.

* Corresponding author E-mail: r_nikooie@uk.ac.ir