فیزیولوژی ورزشی شماره ۴۱، بهار ۱۳۹۸. صص ۱۵۲-۱۳۷

# تأثیر حاد و بلندمدت تمرین استقامتی بر بیان ژن CGRP در مغز، مایع مغزی نخاعی و سرم رت‌های نر نژاد ویستار

ملیحه آوسه[۱]، مریم کوشکی جهرمی[۲]، جواد نعمتی[۳]، سعید اسماعیلی ماهانی[۴]

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه شیراز
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شیراز*
۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شیراز
۴. دانشیار زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۵

## چکیده

**هدف از انجام مطالعهٔ حاضر، تعیین تأثیر حاد و بلندمدت تمرین استقامتی بر بیان ژن پپتید مرتبط با ژن کلسی‌تونین در مغز، مایع مغزی نخاعی و سرم موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. تعداد ۴۰ حیوان به چهار گروه کنترل، حاد، تمرینی مزمن و تمرین‌کردهٔ حاد تقسیم شدند. گروه حاد یک جلسه تمرین استقامتی و گروه تمرین‌کردهٔ حاد یک جلسه تمرین استقامتی را بعد از ۱۲ هفته تمرین و گروه تمرینی مزمن ۱۲ هفته تمرین استقامتی را انجام دادند. مایع مغزی نخاعی جمع‌آوری شد و قسمت‌های مختلف مغز استخراج شدند. غلظت پپتید کلسی‌تونین در مایع مغزی نخاعی و سرم با تکنیک الایزا و بیان ژن آن با تکنیک ریل تایم پی.سی.آر. اندازه‌گیری گردید. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌راهه برای مقایسه‌ها استفاده شد. در مقایسه با گروه کنترل، پپتید کلسی‌تونین مایع مغزی نخاعی در گروه‌های حاد (P = 0.006) و تمرین‌کردهٔ حاد (P = 0.008) و پپتید کلسی‌تونین سرم در گروه‌های حاد (P = 0.009) و تمرین‌کردهٔ حاد (P = 0.007)، به‌طور معناداری بالاتر بود. پپتید کلسی‌تونین تنها در قشر گروه‌های حاد (P = 0.007) و تمرین‌کردهٔ حاد (P = 0.006) نسبت به گروه کنترل و همچنین، گروه تمرین‌کردهٔ حاد نسبت به گروه حاد (P = 0.018) به‌طور معناداری بالاتر بود. در هیچ‌یک از متغیرهای پژوهش، اثر بلندمدت تمرین معنادار نبود. به‌طورکلی، افزایش بیان ژن پپتید کلسی‌تونین در قشر، به‌احتمال‌زیاد مسئول افزایش آن در مایع مغزی نخاعی و سرم درحین تمرین است. همچنین، سطوح استراحتی پپتید کلسی‌تونین سرم و مایع مغزی نخاعی و بیان آن، تحت‌تأثیر بلندمدت تمرین قرار نمی‌گیرند؛ اما مشمول پاسخ پس از سازگاری می‌شوند.**

**واژگان کلیدی:** پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین، سازگاری تمرینی، مغز، مایع مغزی نخاعی

*نویسندهٔ مسئول Email: koushkie53@yahoo.com

## مقدمه

خانوادهٔ پپتیدهای کلسی‌تونین شامل شش عنصر به نام‌های کلسی‌تونین[۱]، آمیلین[۲]، آدرنومدولین[۳]، پپتید مربوط به ژن کلسی‌تونین[۴] (CGRP) و اینترمدین[۵] است. پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین نوروپپتیدی ۳۷ اسیدآمینه‌ای است که در بدن انسان و حیوان به دو شکل عمده ($\alpha$ و$\beta$) وجود دارد. $\alpha$-CGRP غالباً در دستگاه عصبی مرکزی و محیطی وجود دارد؛ درحالی‌که $\beta$-CGRP به‌طور عمده در دستگاه عصبی روده‌ای[۶] بیان می‌شود (۱). تولید عمدهٔ CGRP در دستگاه عصبی مرکزی و پیرامونی است. در سطح سلولی، بالاترین سطح بیان پپتید در آمیگدال مرکزی[۷]، پوستهٔ هستهٔ دم‌دار[۸] (یکی از اجزای عقده‌های قاعده‌ای)، هستهٔ عصب سه شاخهٔ ستون فقرات[۹]، تودهٔ ژلاتینی[۱۰] و شاخ خلفی نخاع یافت می‌شود . این درحالی است که منبع عمدهٔ CGRP در دستگاه عصبی پیرامونی در پیوندگاه عصبی- عضلانی یافت می‌شود؛ هرچند این‌پپتید در عضلهٔ اسکلتی و غدهٔ تیروئید نیز بیان می‌شود (۲).

CGRP در بدن انسان و حیوان اعمال زیست‌شناختی متعددی را انجام می‌دهد. CGRP گشادکنندهٔ بسیار قوی عروق پیرامونی است و درنتیجه، دارای توانایی حفاظتی است که برای برخی شرایط فیزیولوژیک و بیماری‌شناختی دستگاه قلبی و عروقی و بهبود زخم مهم است (۴، ۳). همچنین، این‌پپتید نقش مهمی در اتساع عروق خون مغزی دارد که نقش حفاظتی مهم آن را در سلول‌های عصبی متذکر می‌شود (۶، ۵). دراین‌زمینه، اطلاعات موجود حاکی از محافظت موش‌های صحرایی از ایسکمی مغزی است (۷). به‌علاوه، به‌دلیل‌اینکه CGRP از اعصاب حسی منتشر می‌شود، در مسیر درد نیز نقش دارد؛ بنابراین، اخیراً به استفاده از آنتاگونیست CGRP برای کاهش میگرن توجه شده است (۸، ۴، ۳). همچنین، این‌پپتید در مسیرهای متابولیکی نظیر تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی نقش دارد (۱۰، ۹)؛ برای مثال، سنتز گلیکوژن ناشی از انسولین را در عضلهٔ اسکلتی کاهش می‌دهد (۹) و در متابولیسم کربوهیدرات عضلهٔ اسکلتی نقش مهمی دارد (۱۰). افزون‌براین، رهایش CGRP در مدت هیپوگلیسمی، سازوکار مهمی برای تسریع بازگشت سطوح گلوگزخون به سطح طبیعی است (۱۱).

---

1. Calcitonin
2. Amylin
3. Adrenmedullin
4. Calcitonin Gene-Related Peptide
5. Intermedin
6. Enteric Nervous System
7. Central Amygdaloid
8. Caudate Putamen
9. Spinal Trigeminal Nerve Nucleus
10. Substantia Gelatinosa

محدودهٔ پژوهش‌های انجام‌شده درزمینهٔ تمرین و CGRP نشان می‌دهد که غلظت CGRP سرم درطی تمرین حاد در انسان و حیوان افزایش می‌یابد. نقش بالقوهٔ این افزایش به‌طور دقیق مشخص نیست؛ اما نقش‌های احتمالی برای آن گزارش شده‌اند؛ به‌عنوان‌مثال، هاسباک[1] و همکاران (۱۲) نشان دادند که با انجام تمرین بیشینه در سطح دریا و متعاقب آن، بعد از ۲۴ ساعت و بعد از پنج روز قرارگرفتن درمعرض ارتفاع و هیپوکسی، مقادیرCGRP و آدرنومدولین یک هم‌راستا با ضربان قلب، لاکتات و کاتکولامین‌ها افزایش می‌یابند. این پژوهشگران نشان دادند که رهایش CGRP درحین تمرین توسط هیپوکسی تعدیل می‌شود. آن‌ها بیان کردند که رهایش CGRP تنها به‌دلیل خاصیت ضدسمپاتیکی آن درحین تمرین نیست و نقش‌های احتمالی دیگری برای آن وجود دارند. در پژوهشی دیگر، تأثیرات تمرین‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت بر تأثیر CGRP در محافظت قلبی بررسی شدند (۱۳). در این پژوهش نشان داده شد که تمرین‌های کوتاه‌مدت تأثیری بر نقش محافظت قلبی CGRP ندارند؛ اما تمرین‌های بلندمدت باعث افزایش سنتز CGRP در گانگلیون ریشهٔ پشتی و افزایش رهایی آن در قلب و خون می‌شوند و نقش مهمی در محافظت قلبی درحین تمرین ایجاد می‌کنند (۱۳). این نتایج حاکی از اهمیت بالقوهٔ افزایش CGRP درحین تمرین است.

درزمینهٔ اثرهای بلندمدت تمرین بر سطوح استراحتی CGRP نیز پژوهش‌های بسیار محدودی انجام شده‌اند. در تنها پژوهش انجام‌شده دراین‌زمینه، پرنو و همکاران (۱۴) اثرهای تمرین استقامتی (۶۰ دقیقه در روز و سه متر در دقیقه) و مقاومتی بر CGRP و گیرندهٔ استیل کولین[2] فیبرهای عضلانی کندانقباض سولئوس و تندانقباض درشت‌نی قدامی و عصب سیاتیک را مطالعه کردند. نتایج نشان داد که بین عضلات با ویژگی‌های مختلف و در هر دو نوع تمرین، افزایش قابل‌توجهی در CGRP و گیرندهٔ استیل کولین مشاهده نشد. هومونکو[3] و همکاران (۱۵) نشان دادند که بعد از دویدن در سرپایینی، بیان CGRP درنورون‌های حرکتی عضلهٔ دوقلوی میانی موش‌های صحرایی و صفحهٔ انتهایی حرکتی فیبرهای عضلانی گلیکولیتی، سریع افزایش می‌یابد. باوجود انجام پژوهش‌های ذکرشده، درحال‌حاضر، اثرهای بلندمدت تمرین استقامتی بر سطوح استراحتی CGRP سرم و مایع مغزی نخاعی نامشخص است. همچنین، هرچند محتمل است که مغز به‌عنوان عامل افزایش رهایش CGRP سرم درحین تمرین باشد، دراین‌زمینه نیز مدرک مستندی وجود ندارد. با درنظرگرفتن این موضوع که اعمال متعددی که به‌واسطهٔ CGRP در بدن واسطه‌گیری می‌شوند، درحین تمرین تغییرات قابل‌ملاحظه دارند، آگاهی از نحوهٔ پاسخ CGRP به تمرین می‌تواند به شناخت بهتر اعمال زیست‌شناختی این‌پپتید درحین تمرین کمک کند؛ بنابراین، هدف اول پژوهش حاضر، تعیین تأثیر بلندمدت تمرین استقامتی

1. Hasbak
2. AChR
3. Homonko

بر بیان ژن CGRP در قسمت‌های مختلف مغز، مایع مغزی نخاعی و سرم بود. هدف دوم، تعیین پاسخ پس از سازگاری این‌پیتید در سرم، مایع مغزی نخاعی و بیان آن در قسمت‌های مختلف مغز در موش‌های صحرایی تمرین‌کرده و مقایسهٔ آن با موش‌های صحرایی تمرین‌نکرده بود.

## روش پژوهش

تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن شش تا هشت‌هفتگی از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان تهیه شدند و در شرایط استاندارد آزمایشگاه در چرخهٔ ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی نگهداری شدند. موش‌های صحرایی با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند و بعد از یک هفته نگهداری و آشناسازی با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی براساس وزن همسان‌سازی شدند و به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (تعداد = ۱۰) که در قفس‌های خود در تمام مدت غیرفعال بودند؛ گروه حاد (تعداد = ۱۰): موش‌هایی صحرایی که فقط یک جلسه تمرین استقامتی انجام دادند؛ گروه تمرینی مزمن (تعداد = ۱۰): موش‌هایی صحرایی که ۱۲ هفته تمرین استقامتی انجام دادند؛ گروه تمرین‌کردهٔ حاد (تعداد = ۱۰): موش‌هایی صحرایی که یک جلسه تمرین را پس از گذراندن دورهٔ ۱۲ هفته‌ای تمرین استقامتی انجام دادند. گروه‌های حاد و تمرینی حاد بلافاصله بعد از تمرین تشریح شدند. گروه تمرین مزمن ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین تشریح شدند. برای انجام پژوهش حاضر، مجوز اخلاق از کمیتهٔ اخلاقی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان دریافت شد.

در ابتدا، موش‌های صحرایی گروه حاد دورهٔ آشناسازی مشتمل‌بر تمرین دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۶–۱۵متر در دقیقه را به‌مدت ۶۰-۳۰ دقیقه، به‌مدت ۱۰ روز انجام دادند. هدف از دورهٔ آشناسازی در این گروه، بالابردن توانایی موش‌های صحرایی برای انجام یک جلسه تمرین استقامتی به‌مدت ۶۰ دقیقه با سرعت ۲۶ متر در دقیقه بود. برای حذف اثرهای تمرینی دورهٔ آشناسازی، یک هفته بعد از این دوره، گروه‌های ذکرشده یک جلسه تمرین استقامتی را با سرعت ۲۶ متر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه انجام دادند.

در گروه تمرینی مزمن، دورهٔ آشناسازی به‌مدت پنج روز با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و با زمان ۲۰-۱۵دقیقه انجام شد. سپس، پروتکل تمرین استقامتی به‌مدت ۱۲ هفته انجام شد که طی آن، به‌تدریج به سرعت و زمان افزوده شد. متغیرهای تمرینی، درنهایت در هفتهٔ آخر به سرعت ۲۶ متر در دقیقه به‌مدت ۶۰ دقیقه رسیدند (جدول شمارهٔ یک) (۱۶). گروه‌های حاد و تمرین‌کردهٔ حاد بلافاصله بعد از انجام تمرین تشریح شدند و مشمول جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی برای اندازه‌گیری غلظت CGRP شدند. سپس، حیوانات تشریح شدند؛ نمونه‌خونی به‌طور مستقیم از قلب انجام شد و جداسازی پلاسما

با سانتریفیوژکردن در ۳۰۰۰ دور در دقیقه[1]، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه برای اندازه‌گیری سطوح سرمی CGRP انجام شد. همچنین، قسمت‌های مختلف مغز شامل هیپوکمپ، قشر، مخچه و هیپوتالاموس استخراج شدند و در نیتروژن مایع منجمد و در ۸۰- برای اندازه‌گیری بیان CGRP نگهداری شدند. تمامی مراحل و اندازه‌گیری‌های ذکرشده، ۷۲ ساعت بعد از انجام آخرین جلسهٔ تمرینی در گروه تمرینی مزمن نیز انجام شدند.

**جدول ۱- جزئیات پروتکل تمرینی**

| هفته | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| زمان (دقیقه) | ۳۰ | ۳۵ | ۴۰ | ۴۵ | ۵۰ | ۵۵ | ۵۵ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۶۰ |
| سرعت (متر در دقیقه) | ۲۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۲۲ | ۲۲ | ۲۲ | ۲۴ | ۲۴ | ۲۶ | ۲۶ | ۲۶ | ۲۶ |

در ابتدا، موش‌های صحرایی با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. پس از اطمینان از بی‌هوشی موش صحرایی، موهای سر و جمجمه به‌دقت تراشیده شدند تا خطوط ایجادکنندهٔ برگما و لامبدا مشخص شوند. سپس، حیوان به دستگاه استریوتاکس منتقل شد و سر حیوان در دستگاه با زاویهٔ ۴۵ درجه به‌سمت پایین ثابت و بی‌حرکت شد. برش طولی در خط میانی سر ایجاد عضلات و بافت‌های اضافی برداشته شد تا سیسترنا مگنا[2] مشخص شود. نوک سوزن پروانه‌ای به‌اندازهٔ کمتر از دو میلی‌متر و با زاویهٔ ۴۵ درجه وارد سیسترنا مگنا شد و جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی به‌آهستگی انجام شد. درمدت جمع‌آوری، رنگ مایع مغزی نخاعی به‌دقت کنترل می‌شد تا از آلودگی یا خون جلوگیری شود. نمونه‌های حاصل در g ۱۲۰۰۰ در ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت برای اندازه‌گیری بعدی جمع‌آوری شد (۱۷).

بعد از جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی، نمونهٔ خونی ازطریق قلب جمع‌آوری شد و سپس، جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰، ۱۵ دور در دقیقه و در دمای چهار درجه انجام گرفت. پس از آن، موش‌های صحرایی تشریح شدند؛ قشر، هیپوتالاموس، هیپوکمپ و مخچه استخراج شدند و در نیتروژن مایع فریز شدند و سپس، در فریزر ۸۰- برای اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شدند.

روش اندازه‌گیری CGRP: غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی و سرم با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت مای بیوسورس آمریکا[3] با حساسیت یک پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب درون‌سنجی ۵/۶ درصد

1. RPM
2. Cisterna Magna
3. Rat CGRP ELISA Kit (Cat Number: MBS727982, Mybiosource, USA)

به روش الایزا اندازه‌گیری شد. بیان ژن CGRP در مغز به‌وسیلهٔ تکنیک ریل تایم- پی.سی.آر.[1] اندازه‌گیری شد و با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ کمی‌سازی گردید.

حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت با روش هاون‌کوبی در نیتروژن مایع پودر شد (در مواردی که حجم نمونه کم بود، بافت موردنظر به‌طور مستقیم در ایزول[2] هموژن می‌شد) و برای استخراج total RNA به نسبت یک به ۱۰ در ایزول هموژن شد. برای برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در دمای چهار درجه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته شد؛ با نسبت یک به ۰/۵ با کلروفورم مخلوط شد؛ محصول در دمای چهار درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته شد؛ با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانل مخلوط شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد. سپس، در دمای چهار درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. پلیت[3] حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در ۲۰ میلی‌لیتر آب RNAs-Free حل شد. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ[4] سنجیده شد. برای صحت خلوص RNA، از نسبت ۲۸۰/۲۶۰ استفاده شد و نسبت‌های بین ۱/۸ تا دو به‌عنوان تخلیص مطلوب درنظر گرفته شدند (۱۸).

سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با استفاده از Random Hexamer و آنزیم Primescript TM RT enzyme mix I با کیت سنتز cDNA متعلق به شرکت تاکارای ژاپن[5] طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

در ابتدای کار، میزان غلظت بهینهٔ cDNA و همچنین، پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت، برای هرکدام به‌طور جداگانه مشخص گردید؛ به‌طوری‌که کمترین میزان دایمر مشاهده شود. ریل تایم- پی.سی.آر. با استفاده از Premix Ex Taq II (2x) و با استفاده از غلظت مناسب cDNA و پرایمرهای مربوط به هر ژن انجام شد. برنامهٔ ریل تایم شامل واسرشت اولیهٔ سه دقیقه در دمای ۹۵ درجه بود که با ۴۰ چرخه (۹۵ درجه به‌مدت ۲۲ ثانیه و اکستنشن ۶۶ درجه به‌مدت ۴۵ ثانیه) بود. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در جدول شمارهٔ دو گزارش شده است. از ۱۸s به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد و داده‌های ریل تایم با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ کمی‌سازی شدند (۱۹). یکسان‌بودن کارایی پرایمرها در تکثیر ژن‌های موردنظر، با استفاده از سریال غلظت cDNA مربوطه آزمون شد.

---

1. Rael Time- PCR
2. Isol
3. Pellet
4. Nono Drop
5. (cDNA Kit, cat≠ RR037A, TaKaRa, Japan)

**جدول ۲- توالی‌های پرایمر استفاده‌شده برای ریل تایم- پی.سی.آر.**

| Gene | Forward primer (5′ to 3′) | Backward primer (5′ to 3′) | Size (bp) |
|---|---|---|---|
| 18 S | GTTGGTTTTCGGAACTGAGGC | GTCGGCATCGTTTATGGTCG | 204 |
| CGRP | AGTTCTCCCCTTTCCTGGTTGTC | CTCCTGTTCCTCCTCCTGCTC | 94 |

در بخش آمار توصیفی، از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی، برای تعیین طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف[1] استفاده شد. همسان‌بودن واریانس‌ها در مقایسه‌های بین‌گروهی، با آزمون لوین[2] سنجیده شد. برای تعیین معناداربودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های پژوهش، از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌راهه[3] و آزمون تعقیبی توکی[4] استفاده شد. در تمامی آزمون‌های استنباطی، سطح معناداری برابر با a = 0.05 انتخاب شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای اکسل[5] و اس.پی.اس.اس[6] (نسخهٔ ۱۹) استفاده شد.

## نتایج

برای تعیین تأثیر بلندمدت و کوتاه‌مدت تمرین بر بیان CGRP در مغز، غلظت آن در مایع مغزی نخاعی و سرم، این مقادیر بین گروه‌های تمرینی مزمن و کنترل، حاد و کنترل، تمرین‌کردهٔ حاد و کنترل، و با هدف بررسی تأثیر سازگاری بر پاسخ، پاسخ گروه‌های حاد و تمرین‌کردهٔ حاد به یک جلسه تمرین، با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج حاکی از عدم تفاوت معنادار در CGRP به‌دنبال تمرین بلندمدت بود؛ بدین‌معنی‌که بیان CGRP در مغز و غلظت‌های سرمی و مغزی نخاعی آن تحت‌تأثیر تمرین بلندمدت قرار نگرفت (جدول شمارهٔ سه).

در پاسخ به ورزش حاد، غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی حدود ۱/۹۵ برابر در گروه حاد (P = 0.006) و ۲/۳ برابر در گروه تمرین‌کردهٔ حاد (P = 0.008) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. همچنین، غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی در گروه تمرین‌کردهٔ حاد نسبت به گروه حاد به‌طور معناداری بالاتر بود (P = 0.031) (جدول شمارهٔ سه). هم‌راستا با افزایش غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی، غلظت CGRP سرم حدود ۱/۷-۱/۵ برابر در گروه‌های حاد (P = 0.009) و تمرین‌کردهٔ

1. Kolmogorov–Smirnov
2. Levene's Test
3. One-way ANOVA
4. Tukey Post Hoc Test
5. Excel
6. SPSS

حاد (P=0.007) نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. غلظت CGRP سرم، در گروه‌های تمرین‌کردهٔ حاد نسبت به گروه حاد به‌طور معناداری بالاتر بود (P = 0.034) (جدول شمارهٔ سه).

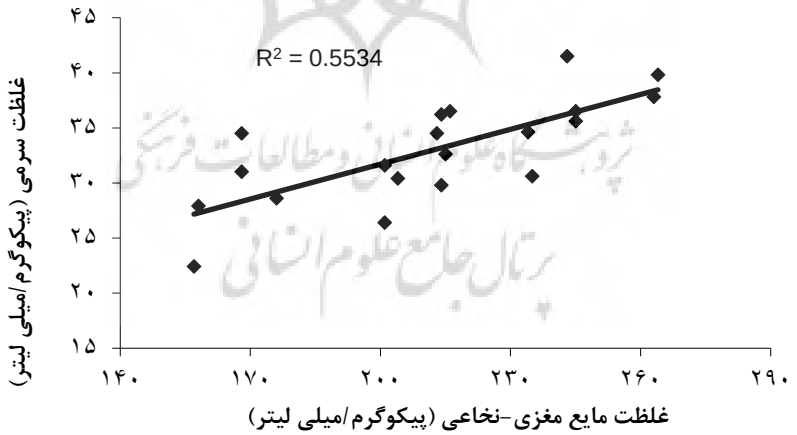
**جدول ۳- تأثیرات کوتاه‌مدت و بلندمدت تمرین بر سرم و مایع مغزی نخاعی**

| متغیرها | تمرینی مزمن | تمرین‌کردهٔ حاد | حاد | کنترل |
|---|---|---|---|---|
| CGRP سرم (pg/ ml) | ۲۱/۴ ± ۳/۵ | ۳۵/۲ ± ۳/۸*≠ | ۳۰/۵ ± ۴/۴* | ۲۰/۶ ±۳/۲ |
| CGRP مایع مغزی نخاعی (pg/ ml) | ۱۰۷/۴ ± ۲۲/۲ | ۲۲۸/۱ ± ۲۹/۵*≠ | ۱۹۵/۳ ± ۲۹/۲* | ۹۹/۸ ± ۱۸/۴ |

(داده‌ها میانگین ± انحراف معیار هستند. هر داده میانگین تعداد ۱۰ سر حیوان است.)

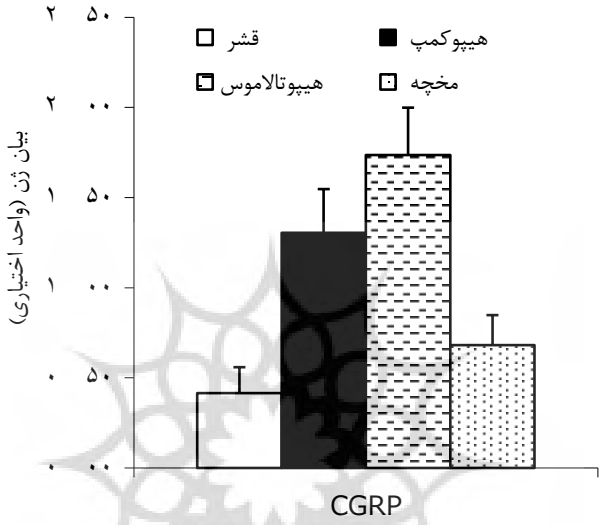
* تفاوت معنادار با گروه کنترل (P < 0.01)، ≠ تفاوت معنادار با گروه حاد (P < 0.05)

برای تعیین سهم مایع مغزی نخاعی در CGRP سرم، رابطهٔ بین CGRP مایع مغزی نخاعی و CGRP سرم ارزیابی شد. ارتباط معناداری بین غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی و سرم بعد از تمرین حاد در دو گروه حاد و تمرین‌کردهٔ حاد (روی‌هم‌رفته) مشاهده شد (r = 0.74، P < 0.01) (شکل شمارهٔ یک). ۵۵ درصد از تغییرات واریانس، تغییرات در CGRP سرم با تغییرات CGRP مایع مغزی نخاعی در پایان تمرین حاد قابل‌پیش‌بینی بود ($R^2$ = 0.55، پیکوگرم بر میلی‌لیتر SEE = ۳/۷۴). (شکل شمارهٔ یک).



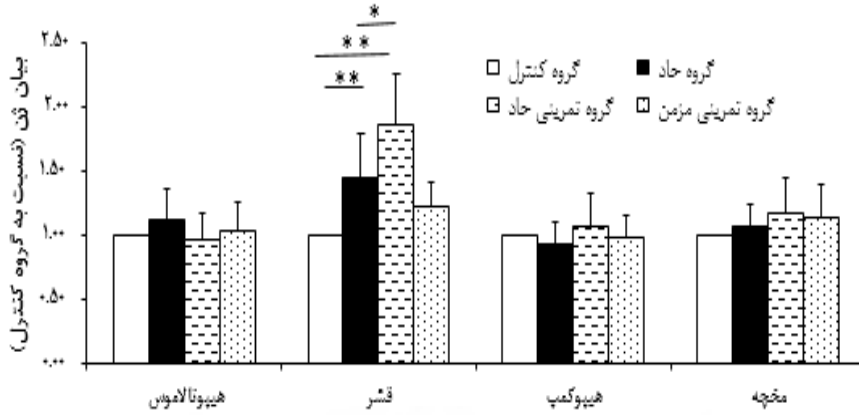

**شکل ۱- همبستگی بین غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی و سرم بعد از تمرین حاد در دو گروه حاد (تعداد = ۱۰) و تمرین‌کردهٔ حاد (تعداد = ۱۰)**

برای فهمیدن اینکه چه بخشی از مغز می‌تواند در افزایش CGRP مایع مغزی نخاعی درطی تمرین درگیر باشد، بیان آن در بخش‌های مختلف مغز بررسی شد. در گروه کنترل، بالاترین و پایین‌ترین بیان CGRP، به‌ترتیب در هیپوتالاموس و قشر دیده شد (شکل شمارهٔ دو).




**شکل ۲- سطوح استراحتی بیان ژن CGRP در قسمت‌های مختلف مغز در گروه‌های پژوهش**

در مقایسه با حیوانات گروه کنترل، بیان CGRP قشر به‌طور قابل‌توجهی در پاسخ به یک جلسهٔ ۶۰ دقیقه‌ای تمرین در هر دو گروه حاد ($P = 0.007$) و تمرین‌کردهٔ حاد ($P = 0.006$) نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. همچنین، بیان CGRP در قشر در گروه تمرین‌کردهٔ حاد در مقایسه با گروه حاد ($P = 0.018$) به‌طور معناداری بالاتر بود (شکل شمارهٔ سه). بیان CGRP در بقیهٔ قسمت‌های مغز بدون تغییر باقی ماند (شکل شمارهٔ سه). مقادیر استراحتی بیان CGRP تحت‌تأثیر تمرین بلندمدت قرار نگرفت؛ بدین‌معنی‌که اختلاف معناداری بین گروه‌های کنترل و تمرینی مزمن در هیچ‌کدام از قسمت‌های مغز دیده نشد.




**شکل ۳- بیان ژن CGRP در قسمت‌های مختلف مغز در گروه‌های پژوهش**

* اختلاف معنادار ($P < ۰/۰۵$) ، ** ($P < ۰/۰۱$)

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر با هدف تعیین تأثیر بلندمدت تمرین استقامتی و پاسخ پس از سازگاری CGRP سرم و مایع مغزی نخاعی و بیان این‌پپتید بر قسمت‌های مختلف مغز، در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد. مهم‌ترین نتیجهٔ مطالعهٔ حاضر این بود که بیان CGRP درحین تمرین استقامتی در مغز افزایش می‌یابد و افزایش بیان آن در قشر به‌احتمال‌زیاد مسئول افزایش CGRP در مایع مغزی نخاعی و سرم است. همچنین، سطوح استراحتی CGRP سرم و مایع مغزی نخاعی و بیان آن تحت‌تأثیر بلندمدت تمرین قرار نمی‌گیرند و تنها اثرهای بلندمدت تمرین بر این عوامل، به شکل پاسخ پس از سازگاری (سطوح بالاتر این متغیرها درحین تمرین در موش‌های صحرایی تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های صحرایی تمرین‌نکرده) مشاهده می‌شوند.

مشابه با مطالعات پیشین (۱۳، ۱۲)، غلظت CGRP مایع مغزی نخاعی درطی تمرین حاد در گروه‌های حاد و تمرینی مزمن افزایش یافت. برای تعیین منبع افزایش CGRP در مایع مغزی نخاعی، بیان CGRP در قسمت‌های مختلف مغز بررسی شد. نتایج نشان داد که تمرین تأثیر معناداری بر بیان CGRP در مغز دارد و بیان آن را در مغز افزایش می‌دهد؛ باوجوداین، این اثر در پژوهش حاضر در قسمت‌های مختلف مغز یکپارچه نبود؛ زیرا، تنها در قشر تغییرات معنادار دیده شد و در دیگر مناطق مشهود نبود. دلیل خاص این ناهمگونی معلوم نیست؛ اما چندین عامل محتمل هستند: اول اینکه، به‌احتمال‌زیاد این ناهمگونی به پاسخ متفاوت قسمت‌های مختلف مغز به ورزش مربوط می‌شود (۲۰). برخی قسمت‌های مختلف مغز (مانند کورتکس، مخچه و ساقهٔ مغز) در پاسخ به تمرین فعال‌تر هستند

و انتظار می‌رود که تغییرات ناشی از تمرین در آن‌ها بارز تر باشد؛ باوجوداین، مخچه که بخش فعال مغز درطی تمرین است، افزایشی در بیان CGRP نشان نداد و این نشان می‌دهد که ممکن است فعال‌شدن منطقه‌ای مغز در تمرین تنها عامل مؤثر در بیان CGRP در پاسخ به ورزش حاد نباشد. این مطلب بدین‌معنی است که به‌احتمال‌زیاد فعال‌شدن دراثر تمرین، تنها عامل اثرگذار نیست. بخشی از تفاوت‌های مشاهده‌شده بین قشر و مغز می‌تواند مربوط به آوران عصب سه‌شاخه[1] - منبع اصلی انتشار CGRPدر مغز (۲۱)- باشد که از قشر عبور می‌کند؛ اما از مخچه عبور نمی‌کند (۲۲). طبق مطالعات قبلی، این اعصاب مهم‌ترین عامل رهایش CGRP در مغز هستند (۲۱)؛ دوم اینکه، در پژوهش حاضر، قشر ناحیه‌ای بود که سطوح استراحتی CGRP آن درمیان قسمت‌های موردبررسی مغز پایین‌تر از همه است و ممکن است افزایش بیان CGRP در آن به‌دلیل جبران مقادیر کم اولیهٔ CGRP باشد. ازآنجایی‌که CGRP قادر به عبور از سد خون مغزی نیست (۲۳، ۲۲) و نمی‌تواند از خون شریانی به مایع مغزی نخاعی ورود کند و همچنین، با توجه به نتایج پژوهش حاضر مبنی‌بر نبود تغییر معنادار بیان CGRP در سایر قسمت‌های مغز، به‌احتمال‌زیاد افزایش غلظت CGRP در مایع مغزی نخاعی درحین تمرین عمدتاً ناشی از افزایش بیان این‌پپتید در قشر مغز است.

موازی با افزایش CGRP در مایع مغزی نخاعی، غلظت سرمی CGRP نیز در گروه‌های حاد و تمرین‌کردهٔ حاد به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. ازآنجایی‌که غلظت متغیرهای خون بعد از ورزش حاد به‌ویژه بعد از تمرین بلندمدت می‌تواند تحت‌تأثیر تغییرات در حجم پلاسما ناشی از ورزش قرار گیرد، سطوح هموگلوبین و هماتوکریت قبل و بعد از تمامی آزمون‌ها اندازه‌گیری شدند و تغییرات حجم پلاسما در هر آزمون در محاسبات نهایی بررسی شدند؛ بنابراین، کاهش حجم پلاسما در پژوهش حاضر نمی‌تواند در افزایش سطوح سرمی CGRP درطول آزمون اثرگذار باشد؛ ازاین‌رو، منشأ افزایش CGRP سرم می‌تواند به CNS یا سایر منابع محیطی مانند عضلهٔ اسکلتی و غدهٔ تیروئید نسبت داده شود (۲۴). سهم مغز در افزایش سطح غلظت سرمی CGRP نمی‌تواند به‌طور کامل از پژوهش ما استخراج شود؛ بااین‌حال، این واقعیت که افزایش غلظت سرمی CGRP تقریباً به‌طور موازی با افزایش CGRP مایع مغزی نخاعی بود (افزایش CGRP سرم به مایع مغزی نخاعی، به‌ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۷۷ در گروه‌های حاد و تمرینی مزمن بود) و همبستگی معنادار یافت‌شده بین غلظت CGRP مایع مغزی نخاعی و غلظت CGRP سرم در انتهای آزمون تمرین حاد، می‌تواند این ایده را ثابت کند که این افزایش به‌طور عمده به‌دلیل تغییرات در مغز است. همچنین، مقادیر بالاتر CGRP سرم همراه با بیان بالاتر CGRP در قشر در گروه تمرینی حاد می‌تواند شواهد بیشتری برای این ایده فراهم آورند؛ بااین‌وجود، نقش بافت‌های پیرامونی نظیر تیروئید (۲۴) و عضلهٔ اسکلتی (۲۶، ۲۵) که CGRP در

1. Trigeminal Afferents

آن‌ها بیان می‌شود نیز نباید نادیده گرفته شود. درواقع، CGRP در انتهای عصبی حرکتی و انتهای نورون‌های حسی در عضلهٔ اسکلتی یافت می‌شود (۲۴)؛ بااین‌حال، بعید است که عضلهٔ اسکلتی منشأ گردش خون CGRP درطول تمرین حاد باشد؛ زیرا، غلظت بالایی از پتاسیم و کلسیم برای انتشار CGRPاز پایانه‌های عصبی عضلهٔ اسکلتی موردنیاز است (۲۵). حتی غلظت بالایی از پتاسیم بدون حضور کلسیم در رهایی CGRP اثربخش نیست و چنین مقادیر بالایی از پتاسیم و کلسیم نمی‌توانند توسط تمرین استقامتی ایجاد شوند. همچنین، درمورد غدهٔ تیروئید، هم محتوای CGRP آن کم است که نمی‌تواند این چنین افزایش معناداری را در سطوح در گردش CGRP ایجاد کند و هم اینکه این بافت یک بافت غیرفعال نسبت به عضلهٔ اسکلتی درحین تمرین است. افزون‌براین، نشان داده شده است که مشارکت تیروئید در افزایش CGRP جریان خون محدود به موش‌های پیر است (۲۴) که به‌دلیل هیپرپلازی سلول‌های C مرتبط با سن در تیروئید موش‌های‌های پیر اتفاق می‌افتد (۲۴). با توجه به اینکه موش‌های صحرایی استفاده‌شده در این پژوهش جوان بودند، در نتیجه، این بافت نیز احتمالاً نمی‌تواند منشأ افزایش CGRP جریان خون در مطالعهٔ حاضر باشد.

CGRP هم در پژوهش حاضر و هم در پژوهش‌های پیشین، تحت‌تأثیر تمرین حاد بود؛ بنابراین، در پژوهش حاضر، فرضیه‌ای مبنی‌بر تأثیرپذیری این‌پپتید در سطح سرم و مایع مغزی نخاعی و مغز از اثرهای بلندمدت تمرین استقامتی موردآزمون قرار گرفت؛ باوجوداین، غلظت CGRP استراحت در مایع مغزی نخاعی و سرم و بیان آن در بخش‌های مختلف مغز، بعد از ۱۲ هفته تمرین‌های استقامتی در گروه تمرینی مزمن در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نداشت؛ بااین‌حال، در مقایسه با گروه حاد، موش‌های صحرایی گروه تمرینی مزمن مقدار بیشتری برای تمامی این متغیرها درطول تمرین داشتند. طبیعی است که تفسیر این نتیجه مشکل است و علت دقیق آن از روش پژوهش حاضر قابل‌استخراج نیست؛ به‌ویژه با درنظرگرفتن این موضوع که هر دو گروه تمرینی با یک شدت یکسان تمرین کردند. طبیعی است که این تمرین یکسان در گروه تمرین‌کرده، فشار تمرینی، استرس و متابولیکی کمتری را در موش‌های صحرایی تمرین‌کرده اعمال می‌کند. این موضوع نشان می‌دهد که پاسخ حاد CGRP به سایر سازگاری‌های ایجادشده، ناشی از تمرین استقامتی وابسته است که باید به‌نوعی در پژوهش‌های آینده بررسی شود. این نتایج به‌وضوح نشان می‌دهد که تغییرات (ازقبیل متابولیکی یا اندوکرین) مرتبط با تمرین برای پاسخ CGRP ضروری هستند. ممکن است برخی از عوامل ترشحی ناشی از تمرین که می‌توانند به‌راحتی از سد خونی مغزی عبور کنند، ازجمله لاکتات، باعث افزایش بیان CGRPدرطی تمرین در مغز شوند. این ایده زمانی قوت می‌گیرد که در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده باشد که تزریق اسید لاکتیک همراه با برادی کینین و کاهش pH باعث آزادشدن CGRP از اعصاب حسی در طناب نخاعی موش می‌شود (۲۷). همچنین، افزایش برداشت مغزی لاکتات در

موش‌های صحرایی سالم تمرین‌کرده در مطالعات پیشین گزارش شده است که می‌تواند با ورود بیشتر خود به مغز بیان بیشتر CGRP مغزی را در این حیوانات به‌نوعی تأیید کند؛ باوجوداین، اظهارنظر قطعی دراین‌باره مستلزم انجام پژوهش‌های بعدی است.

**پیام مقاله:** نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان CGRP در پاسخ به تمرین استقامتی در برخی از نواحی مغز افزایش می‌یابد و افزایش بیان آن در قشر، مسئول افزایش CGRP در مایع مغزی نخاعی و سرم است. همچنین، سطوح استراحتی CGRP سرم و مایع مغزی نخاعی و بیان آن، تحت‌تأثیر بلندمدت تمرین قرار نمی‌گیرند؛ باوجوداین، این متغیرها مشمول پاسخ پس از سازگاری می‌شوند و علل احتمالی آن باید در پژوهش‌های آینده بررسی شوند.

## منابع


1. Poyner DR, Sexton PM, Marshall I, Smith DM, 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(2):233-46.
2. Skofitsch G, Jacobowitz DM. Quantitative distribution of calcitonin gene-related peptide in the rat central nervous system. Peptides. 1985;6(6):1069-73.
3. Russell FA, King R, Smillie SJ, Kodji X, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. Physiol Rev. 2014;94(4):1099-142.
4. Brain SD, Grant AD. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. Physiol Rev. 2004;84(3):903-34.
5. Zhang ZH, Fang XB, Xi GM, Li WC, Ling HY, Qu P. Calcitonin gene-related peptide enhances CREB phosphorylation and attenuates tau protein phosphorylation in rat brain during focal cerebral ischemia/reperfusion. Biomed Pharmacother. 2010;64(6):430-6.
6. Liu Z, Liu Q, Cai H, Xu C, Liu G, Li Z. Calcitonin gene-related peptide prevents blood-brain barrier injury and brain edema induced by focal cerebral ischemia reperfusion. Regul Pept. 2011;171(1-3):19-25.
7. Yang SI, Yuan Y, Jiao S, Luo QI, Yu J. Calcitonin gene-related peptide protects rats from cerebral ischemia/reperfusion injury via a mechanism of action in the MAPK pathway. Biomed Rep. 2016;4(6):699-703.
8. Iyengar S, Ossipov MH, Johnson KW. The role of calcitonin gene-related peptide in peripheral and central pain mechanisms including migraine. Pain. 2017;158(4): 543-59.
9. Leighton B, Cooper GJ. Pancreatic amylin and calcitonin gene-related peptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vitro. Nature. 1988;335(6191):632-5.
10. Leighton B, Foot EA. The role of the sensory peptide calcitonin-gene-related peptide(s) in skeletal muscle carbohydrate metabolism: effects of capsaicin and resiniferatoxin. Biochem J. 1995;307:707-12.

11. Rossetti L, Farrace S, Choi SB, Giaccari A, Sloan L, Frontoni S, et al. Multiple metabolic effects of CGRP in conscious rats: role of glycogen synthase and phosphorylase. Am J Physiol. 1993;264(1 Pt 1):1-10.
12. Hasbak P, Lundby C, Olsen NV, Schifter S, Kanstrup IL. Calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin release in humans: Effects of exercise and hypoxia. Regul Pept. 2002;108(2-3):89-95.
13. Sun XJ, Pan SS. Role of calcitonin gene-related peptide in cardioprotection of short-term and long-term exercise preconditioning. J Cardiovasc Pharmacol. 2014;64(1):53-9.
14. Parnow A, Gharakhanlou R, Gorginkaraji Z, Rajabi S, Eslami R, Hedayati M, et al. Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related peptide and acetylcholine receptor at slow and fast twitch skeletal muscle and sciatic nerve in male Wistar rats. Int J Pept. 2012;2012:1-8.
15. Homonko DA, Theriault E. Downhill running preferentially increases CGRP in fast glycolytic muscle fibers. J Appl Physiol. 2000;89(5):1928-36.
16. Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch TI, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. California:American Physiological Society; 2006. p. 85.
17. Pegg CC, He C, Stroink AR, Kattner KA, Wang CX. Technique for collection of cerebrospinal fluid from the cisterna magna in rat. J Neurosci Methods. 2010;187(1):8-12.
18. Enoki T, Yoshida Y, Lally J, Hatta H, Bonen A. Testosterone increases lactate transport, monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in rat skeletal muscle. J Physiol. 2006;577(Pt 1):433-43.
19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001;25(4):402-8.
20. 20-Thomas AG, Dennis A, Bandettini PA, Johansen-Berg H. The effects of aerobic activity on brain structure. Front Psychol. 2012;3:86. doi: 10.3389/fpsyg.2012.00086.
21. Hoffmann J, Wecker S, Neeb L, Dirnagl U, Reuter U. Primary trigeminal afferents are the main source for stimulus-induced CGRP release into jugular vein blood and CSF. Cephalalgia. 2012;32(9):659-67.
22. Barker RA, Cicchetti F. Neuroanatomy and Neuroscience at a Glance. 4th ed. Cambridge: John Wiley & Sons; 2012. p. 90.
23. Zechner R, Zimmermann R, Eichmann TO, Kohlwein SD, Haemmerle G, Lass A, et al. Fat signals-lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling. Cell Metab. 2012;15(3):279-91.
24. Emson PC, Zaidi M. Further evidence for the origin of circulating calcitonin gene-related peptide in the rat. J Physiol. 1989;412:297-308.
25. Sakaguchi M, Inaishi Y, Kashihara Y, Kuno M. Release of calcitonin gene-related peptide from nerve terminals in rat skeletal muscle. J Physiol. 1991;434:257-70.
26. Yamada M, Ishikawa T, Yamanaka A, Fujimori A, Goto K. Local neurogenic regulation of rat hindlimb circulation: CO2-induced release of calcitonin gene-related peptide from sensory nerves. Br J Pharmacol. 1997;122:710-4.
27. Wang X, Fiscus RR. Lactic acid potentiates bradykinin-and low-pH-induced release of CGRP from rat spinal cord slices. Am J Physiol. 1997;273:92-8.

## ارجاع‌دهی

آوسه ملیحه، کوشکی جهرمی مریم، نعمتی جواد، اسماعیلی ماهانی سعید. تأثیر حاد و بلندمدت تمرین استقامتی بر بیان ژن CGRP در مغز، مایع مغزی- نخاعی و سرم رت‌های نر نژاد ویستار. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۱): ۵۲ـ۱۳۷. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2017.4486.1602

Aveseh M, Koushki Jahromi M, Nemati J, Esmaeili Mahani S. Acute and Chronic Effects of Endurance Training on CGRP Gene Expression in the Brain, CSF, and Serum of Male Wistar Rats. Spring 2019; 11(41): 137-52. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2017.4486.1602

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

# Acute and Chronic Effects of Endurance Training on CGRP Gene Expression in The Brain, CSF, And Serum of Male Wistar Rats

**M. Aveseh[1], M. Koushki Jahromi[2], J. Nemati[3], S. Esmaeili Mahani[4]**

1. Ph.D. Student of Sport Physiology, Shiraz University
2. Associate Professor of Sport Physiology, Shiraz University *
3. Assistance Professor of Sport Physiology, Shiraz University
4. Associate Professor of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman

**Received: 2017/07/15** **Accepted: 2017/12/16**

**Abstract**

The study aimed to investigate the acute and chronic effects of endurance training on calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the brain, cerebrospinal fluid (CSF), and serum in male Wistar rats. Frothy animals were equally divided into four groups including control, acute, trained chronic, and trained acute. The acute group performed only one endurance exercise session, trained acute performed a single exercise session following a twelve-week endurance training, and trained chronic performed twelve-week of endurance training. CSF was collected from the cisterna magena and various parts of the brain were extracted. CSF and serum concentration of CGRP and its gene expression were measured by ELISA and Real Time-PCR technique, respectively. Statistical test of One-way ANOVA was used for data analysis. Compared with control group, CGRP concentration in CSF (acute: P=0.006; trained acute: P=0.008) and serum (acute: P=0.009; trained acute: P=0.007) increased significantly. CGRP gene expression increased only in the cortex of the acute (P = 0.007) and trained acute (P = 0.006) in comparison to control group; Compared with the acute group, CGRP gene expression increased in the cortex of the trained acute group (P = 0.018). The chronic effect of exercise did not appear in any of research variables in trained chronic group. In conclusion, CGRP increment in CSF and serum during endurance exercise is likely due to its enhanced expression in the cortex. In addition, resting values of CSF and serum CGRP are not affected by long-term endurance exercise; however, they are subjected to exercise response to adaptation.

**Keywords:** Calcitonin Gene-Related Peptide, Exercise Adaptation, Brain, Cerebrospinal Fluid

* Corresponding Author Email: koushkie53@yahoo.com