مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۴، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱/ ۱۰-۱

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین مقاومتی بر میزان اسفنگوزین-۱-فسفات پلاسمایی و عضلانی موش صحرایی

ابراهیم بنی طالبی[۱]، دکتر رضا قراخانلو[۱]*، دکتر کیهان قطره سامانی[۲]، دکتر مهسا محمد آملی[۳]، دکتر حسین تیموری[٤]

[۱] گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ [۲] مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۳] مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ [٤] مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۲۵ اصلاح نهایی: ۹۰/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۲۱

چکیده:

زمینه و هدف: **اسفنگوزین-۱-فسفات (S1P) یک اسفنگولیپید بیواکتیو مشتق شده از پلاکت ها می باشد که در تنظیم تکثیر، تمایز، هایپرتروفی و مقابله با مرگ برنامه ریزی شده سلولی و فعال سازی سلول های ماهواره ای درگیر می باشد. هدف این تحقیق بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی ۸ هفته ای بر میزان اسفنگوزین-۱-فسفات (S1P) در پلاسما و عضلات کند و تند انقباض موش صحرایی نر نژاد ویستار بوده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی ۲٤ سر موش صحرایی ۸ هفته ای نر نژاد ویستار (۱۹۰-۲۵۰گرم) بصورت تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۲) و تجربی (n=۱۲) تقسیم شدند. در گروه تجربی ۸ هفته تمرینات مقاومتی انجام شد. نردبان مقاومتی یک متری با فاصله میله های ۲ سانتی متری با شیب ۸۵ درجه به عنوان وسیله تمرین مقاومتی و وزنه های متصل شده به دم حیوان بعنوان مقاومت استفاده شد. مقدار اسفنگوزین-۱-فسفات در لایه کلروفرم بوسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) اندازه گیری شد.**

یافته ها: **تمرین مقاومتی محتوای اسفنگوزین-۱-فسفات در عضلات تا کننده بلند انگشت شست پا (تند انقباضی) (P=۰/۰۰۳)، و نعلی (کند انقباضی) (P=۰/۰۰۸) و پلاسما (P=۰/۰۰۱) را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد.**

نتیجه گیری: **تمرین مقاومتی بطور قابل ملاحظه ای بر میزان اسفنگوزین-۱-فسفات عضلات اسکلتی تند و کند و پلاسما موش صحرایی اثر می گذارد. با توجه به نقش ساختاری و عملکردی این اسفنگولیپید از آنجا که این فاکتور بدنبال یک دوره تمرین مقاومتی افزایش می یابد، شاید یکی از فاکتورهای رشدی در مسیرهای سیگنال دهی در هایپرتروفی عضلانی باشد.**

واژه های کلیدی: اسفنگوزین-۱-فسفات، انقباض، پلاسما، تمرین مقاومتی، عضله تند انقباض، عضله کند انقباض.

مقدمه:

همه سلولهای یوکاریوتیک بوسیله یک لایه چربی احاطه شده که شامل گلیسرولیپید، اسفنگولیپید (SLs) و استرول می باشند (۱). اسفنگولیپیدها شناخته شده ترین چربی فعال زیستی بوده که در تنظیم تکثیر، تمایز، هایپرتروفی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی درگیر می باشد (۲). اسفنگولیپیدها شامل اسفنگوزین، اسفنگوزین-۱-فسفات (S1P)، اسفنگانین، اسفنگوزین-۱-فسفوکولین (S1Pch)، سرامید و سرامید-۱-فسفات می باشد. S1P یک اسفنگولیپید مشتق شده از پلاکت ها می باشد (۳) که از غشاء پلاسمایی اسفنگومیلین از طریق عمل آنزیم اسفنگومیلین آز حاصل می شود و متعاقباً باعث تولید سرامید شده، و سرامید حاصل اسفنگوزین را تولید کرده و در نهایت اسفنگوزین به S1P تبدیل می شود (۴). S1P بصورت

*نویسنده مسئول: تهران-دانشگاه تربیت مدرس- دانشکده علوم انسانی- گروه فیزیولوژی ورزش- تلفن: ۸۲۸۸٤٦٤٦-۰۲۱ ،
E-mail:ghara_re@modares.ac.ir

www.SID.ir

درون سلولی از طریق فسفوریلاسیون اسفنگوزین (Sph) بوسیله آنزیم اسفنگوزین کیناز (SK) تولید می شود (۵). به نظر می رسد که بطور عمده منبع/منابع درون سلولی S1P از پلاکت ها باشد (۶). هر چند مطالعات جدید نشان می دهد که RBCs که بطور دائم S1P را تخلیه می کند، می تواند مسئول سطوح پایه S1P پلاسمایی باشد (۷). غلظت های بالایی از S1P در پلاسما و سرم خون یافت می شود که نشان می دهد پلاکت ها منبع اسفنگولیپیدها می باشند (۸). تحقیقات نشان می دهد مقدار S1P بعد از تحریک پلاکت ها در جریان خون افزایش می یابد (۹). سطوح S1P در بافت نسبتاً کم است، اما بافت هایی چون طحال که دارای جریان خون بالایی می باشند استثنا هستند (۸).

دو آنزیم اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز (SK)، آنزیمی که اسفنگوزین را به محصول S1P فسفوریله می کند (۱۰) مشخص شده است (SK1, SK2). این دو آنزیم دارای نقش های متفاوت می باشند، بطوری که SK1 باعث رشد سلول و بقاء آن شده، در حالی که SK2 باعث توقف رشد سلول و افزایش مرگ برنامه ریزی شده سلول می شود. بدنبال تحریک سلول با فاکتورهای رشدی و سایتوکین ها SK1 تحریک شده و از سیتوپلاسم به غشاء سیتوپلاسمی منتقل می شود، که به نظر می رسد منبع اصلی S1P ترشح شده از سلول ها تحت این شرایط می باشد (۱۲،۱۱). در حقیقت نشان داده شده است که پاسخ های میتوژنیک به فاکتورهای رشدی متعدد مثل فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت ها (Platelet-derived growth factor=PDGF)، فاکتور رشد اپی درمال (Epidermal growth factor=EGF)، فاکتور رشد شبه انسولینی-۱ (Insulin Like Growth factor=IGF-I) و انسولین و نیز مهار مرگ برنامه ریزی شده سلولی ناشی از داروهای آنتی بلاستیک مربوط به فعال سازی آنزیم SK1 و متعاقباً افزایش تولید درون سلولی S1P می باشد (۱۴،۱۳،۱۰). بیش بیانی آنزیم SK1 نه فقط باعث افزایش میزان رشد سلولی گردید، بلکه باعث محافظت سلول از مرگ برنامه ریزی شده ناشی از TNF-α و یا افزایش برونزاد سرامید در سلول گردید (۱). عضلات اسکلتی منبع فقیری از SK1 می باشند تا بتوانند S1P اضافی در سطح تارهای عضلات اسکلتی تولید نمایند (۱۵).

در سال ۱۹۹۲، گروه تحقیقی Sanchez و Hla نشان دادند که S1P می تواند به عنوان یک واسطه خارج سلولی در کنترل تحریک پذیری سلول از طریق متصل شدن به گیرنده های موجود در غشاء عمل کند (۱۶). S1P به خانواده ای از پروتئین های جفت شده به G-پروتئین ها (۱) که S1P (EDG-1)، S1P2 (EDG-5)، S1P3 (EDG-3)، S1P4 (EDG-6) و S1P5 (EDG-8) نام دارند متصل شده و باعث فعال شدن آنها می شوند (۱۶). گیرنده های S1P به G-پروتئین های مختلفی که شامل Gα,i,q and 12/13 می باشند جفت می شوند (۱۷). بسیاری از اثرات سیگنالی S1P از طریق فعال سازی فسفولیپاز C (PLC)، تحریک Ca2+، فعالسازی ERK1/2، آدنیلات سیکلاز C (AC)، MAPK، PI3K، Rac و Rho، Akt، JNK، فسفولیپاز D (PLD) و دیگر واسطه های پایین رونده تعدیل می گردد که باعث افزایش جریان کلسیم درون سلولی و مهار تجمع cAMP می شود (۱۹،۱۸،۱۷). این مسیرهای سیگنالی به فعال سازی فاکتورهای نسخه برداری، پروتئین های سیتواسکلتون، بیان مولکول های چسبانو فعالیت کاسپازها مرتبط می باشند (۲۰).

تزریق S1P و اسفنگوزین بصورت in vivo به عضلات قطع نخاع شده باعث افزایش بیان در سطح دو فاکتور رونویسی میوژنیک Myo-D و میوژنین و تبدیل تار تند انقباض به کند انقباض گردید (۱۵). Nagata و همکاران نشان دادند که اسفنگومیلینی که جهت تولید S1P متابولیته شده باعث انتقال سلول های اقماری از حالت خاموشی به

www.SID.ir
Archive of SID

تکثیر شده می شوند. بعلاوه، در یک مدل آسیب عضلانی in vivo، بلوک کردن تولید S1P از طریق مهار کننده SK1 باعث نقص در بازسازی سلول عضلانی گردید، که نشان می دهد S1P دارای نقش مهم در بازسازی عضلانی از طریق سلول های بنیادی اقماری (Satellite stem cells) می باشد (۱۲،۱۱). سطح SK1 و S1P درون زاد در تارهای آسیب دیده بالاتر بود و با سلول های اقماری در ارتباط بود، که نشان می دهد محور SK1/S1P در حمایت و ترمیم بافت آسیب دیده درگیر می باشد (۲۱). Donati و همکاران نیز به نقش S1P در تکثیر و بقاء مزونژیوبلاست ها اشاره داشتند (۲۲). اضافه کردن برون زاد S1P باعث تحریک رشد میوفیبرهای در حال بازسازی شد، در حالی که کاهش محتوای سیستمی این لیپید از طریق خنثی کردن تولید آن، باعث نتایج معکوس شد. این تحقیق اشاره داشت که این لیپید بیواکتیو به عنوان یک فاکتور رشد جدید در رشد سلول می باشد (۲۳). S1P می تواند اثرات سودمندی بر مقاومت در برابر خستگی داشته باشد و باعث تحریک انقباض عضلانی (۲۴) و تنظیم رهایش کلسیم از طریق اثر بر کانال های رهایش کلسیم و گیرنده های ریانودین (۲۵) باشد. S1P می تواند یک عامل قوی در برنامه تمایز در سلول از طریق یک مسیر سیگنالی وابسته به MAPK باشد (۲۶). تمرین ورزشی طولانی مدت بطور قابل ملاحظه ای بر متابولیسم سرامید در عضله قلبی تاثیر گذاشت. ورزش هم باعث کاهش میزان تشکیل سرامید و هم افزایش تجزیه آن گردید. کاهش در محتوای سرامید بعد از ورزش نتیجه ای از کاهش تشکیل این ترکیب از اسفنگومیلین می باشد (۲۷). یک جلسه ورزش طولانی مدت با شدت متوسط منجر به کاهش قابل ملاحظه ای در محتوای سرامید در هر نوع تند و کند عضله اسکلتی گردید. ورزش محتوای اسفنگوزین را نیز افزایش داد (۲۸). Danieli-Betto و همکاران نشان دادند که ورزش حاد طولانی مدت محتوای S1P در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دو قلو را افزایش داد (۲۴). Blachnio-Zabielska و همکاران نشان دادند که در عضله نعلی رت هیچ تغیری در محتوای S1P تا دقیقه ۹۰ از یک تمرین دو روی تردمیل مشاهده نشد. با این حال، در نقطه واماندگی، محتوای S1P دوباره تا دو برابر افزایش یافت (۲۹). مطاعات in vitro نشان داد که آنزیم SK1 در مسیر سیگنالی انسولین درگیر بوده و نقش مهمی در جذب گلوکز تحریک شده با انسولین ایفاء می کند (۳۰). از آنجا که در مطالعات ذکر شده از S1P بعنوان یک عامل میوژنیک با عملکرد گسترده و متنوع نام برده شد و از طرف دیگر از آنجا که هیچ تحقیقی تاکنون رفتار و پاسخ این لیپید بیواکتیو را در پاسخ به این گونه تمرین مقاومتی مطالعه نکرده است و تحقیقات قبلی یا از پروتکل های حاد و یا استقامتی استفاده کرده است، انجام این تحقیق با هدف بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر میزان S1P در پلاسما و عضلات کند و تند موش صحرایی نژاد ویستار ضرورت یافت.

روش بررسی:

در این تحقیق تجربی ۲۴ سر موش صحرایی (رت) نر سالم نژاد ویستار ۸ هفته ای با وزن ابتدایی ۱۹۰-۲۵ گرم انتخاب شدند. حیوانات بصورت جفتی در قفس های استاندارد و در محیط کنترل شده با درجه حرارت ۲۲°c و چرخه خواب و بیداری ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. غذا بصورت پلیت و آب در دسترس آنها بود. بعد از یک ماه آشناسازی، بصورت تصادفی ساده به یک گروه کنترل (n=۱۲) و یک گروه تمرینی (n=۱۲) تقسیم شدند. گروه کنترل در طول دوره تمرین در قفس ها قرار داشتند. جهت کنترل سلامت حیوانات وزن آنها هر هفته اندازه گیری می شد. این تحقیق توسط کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس تائید شد. حیوانات مورد استفاده در این تحقیق از مرکز تحقیقاتی پاستور خریداری شدند.

پروتکل تمرین: نردبان مقاومتی با یک متر ارتفاع و

Archive of SID

www.SID.ir

فاصله میله های ۲ سانتی متری با شیب 85^{o} استفاده گردید. از وزنه هایی که به دم موش های صحرایی بوسیله چسب نوار وصل می شد استفاده شد. بعد از یک هفته آشناسازی با دستگاه تمرین مقاومتی، تمرین در هفته اول با وزنه ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن آنها شروع شد و این وزنه ها به دم آنها (درست ۱-۲ سانتی متر پایین تر از محل رویش مو) متصل شد. بار تمرین تا ۲۰۰ درصد وزن بدن آنها تا پایان هفته هشتم ادامه داشت. یک تکرار موفق وقتی بود که حیوان بتواند پله ها را کامل و در زمان حدود ۸ ثانیه بالا رود. رت ها در پایین پله ها قرار می گرفتند و جهت بالا رفتن برانگیخته می شدند. فقط ضربات بسیار آهسته به دم آنها یا میله ها انگیزش جهت بالارفتن بود. در این مطالعه از هیچ گونه پاداش غیر طبیعی و تحریک غیر طبیعی مثل تحریک الکتریکی، آب سرد و فشار هوا استفاده نشد. تعداد تکرارها در هر جلسه ۲۰ تکرار بود. وقتی یک حیوان به بالای دستگاه می رسید و یک تکرار را انجام می داد، بعد از ۴۵ ثانیه برای تکرار بعدی آماده می شد. در شروع هر برنامه ۲ ست ۵ تکراری گرم کردن بدون وزنه انجام می دادند. پروتکل تمرین در هر روز در ۴ ست ۵ تکراری انجام می شد که بعد از هر ست ۲دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. در پایان هر جلسه تمرین حیوان یک ست تمرین ۵ تکراری بدون وزنه با ۳ دقیقه استراحت بین هر تکرار را جهت سرد کردن انجام می داد. این برنامه تمرین برای ۸ هفته ادامه داشت.

تمام مراحل جراحی در یک جلسه انجام شد. موشها ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین (جهت از بین رفتن اثرات حاد تمرین) با روش تزریق کتامین (۷۵ mg/kg) و گزالایسین (۲۰ mg/kg) بیهوش و سپس قربانی شدند. عضلات تاکننده بلند انگشت شست پا (Flexor hallucis longus=FHL) به عنوان عضله تند انقباض و عضله نعلی (Soleus) به عنوان کند انقباض خارج شدند. نمونه های خونی که مستقیماً توسط سرنگ از قلب موش استخراج شد در دستگاه سانتریفیوژ برای ۱۵ دقیقه در دمای 4^{o} c و ۸۰۰۰g سانتریفیوژ شدند تا سلول های خونی خارج شوند. نمونه های عضلات و پلاسما سریعاً در نیتروژن مایع فریز شده و سپس جهت آنالیزهای بیوشیمیایی بعدی در دمای -80^{o}c جهت نگهداری شدند.

اندازه گیری S1P: S1P و C17-S1P (یک آنالوگ ۱۷ کربنی از S1P، به عنوان استاندارد داخلی) از شرکت Avanti Polar Lipids (Alabaster,Al) خریداری شد. فتال دی آلدهید (O-phthalaldehyde=OPA) (که برای تشخیص HPLC فلورومتری مناسب می باشد) و آلکالین فسفاتاز از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شدند. دیگر محلول ها مثل اتانول، بتا-مرکاپتواتانل (β-Mercaptoethanol) از شرکت مرک خریداری شدند (Hohmburg, Germany). تمام استانداردهای لیپیدی بصورت محلول تهیه و در -20^{o}c نگهداری شدند. محتوای S1P موجود در فاز کلروفرم بوسیله دستگاه کروموتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC =High pressure liquid chromatography) با یک سیستم دتکتور فلوروسنس اندازه گیری شد. بر اساس تحقیق Min و همکاران C17-S1P به عنوان استاندارد داخلی قبل از هموژن کردن نمونه ها اضافه شد و نمونه ها در محیط یخی اولتراسونیک شدند. S1P موجود در نمونه ها از طریق آلکالین فسفاتاز به اسفنگوزین تبدیل شده و این محصولات از طریق OPA قبل از تزریق به دستگاه مشتق سازی شدند (۳۱). دستگاه شامل یک دتکتور فلوروسنس با یک ستون C۱۸ بود (Aligent 1200 series. NanoLC). محلول مورد استفاده استونیتریل (مرک) و آب HPLC grade به نسبت (۹:۱v) بود. میزان جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه بود. از آزمون کلوموگروف-اسمیرنف برای بررسی طبیعی بودن داده ها استفاده شد. داده بدست آمده از طریق آزمون t مستقل آنالیز گردید.

یافته ها:

آزمون گلوموگروف-اسمیرنف نشان داد که

Archive of SID
www.SID.ir

داده ها دارای توزیع طبیعی هستند. تغییر معنی داری در وزن حیوانات در شروع مطالعه (P=۰/۸۴۰) و پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی (P=۰/۴۶۷) وجود نداشت. تمرین مقاومتی محتوای S1P را در عضله FHL (P=۰/۰۰۳) و نعلی (P=۰/۰۰۸) و پلاسما (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (جدول شماره ۱).

اطلاعات نشان داد که محتوای S1P در عضله FHL نسبت به عضله نعلی در گروه کنترل (P=۰/۰۰۴) و تجربی (P=۰/۰۰۹) بالاتر بود. میزان افزایش در محتوای S1P پلاسما (۲۳۶/۱۳٪) بعداز ۸ هفته تمرین مقاومتی بالاتر از میزان افزایش آن در عضله FHL (۱۷۷/۴۲٪) (P=۰/۰۰۳) و نعلی (۱۴۲/۴۸٪) بود.

جدول شماره ۱: میزان تغییرات وزن و مقادیر اسفنگوزین-۱-فسفات در پلاسما و بافت های موش های صحرایی

متغیر / گروه	تمرین	کنترل	مقدار t	Pvalue
وزن قبل از تمرین (گرم)	۲۲۳/۲۵±۱۱/۹۵	۲۲٤/٤۱±۱۵/۷۷	۰/۲۰٤	۰/۸٤۰
وزن بعد از تمرین (گرم)	۲۸۵/۸۳±۱۸/۵۰	۲۸۰/۵۸±۱٦/۲۰	۰/۷۳۹	۰/٤٦۷
محتوای S1P پلاسما (pmol/ ml)	۱۰۱٦/۳۸±٤٦۱/۰۱	٤۳۰/٤۳±۱۹۵/۳۹	٤/۰۵٤	۰/۰۰۱
محتوای S1P عضله FHL (pmol/mg)	۱۰٤/۹٤±٦۲/٦۹	۵۸/۷۷±۱۱/۱۳	۳/۳۸۲	۰/۰۰۳
محتوای S1P عضله نعلی (pmol/mg weight)	٦۰/۸٤±۱٤/٦۲	٤۲/۷۰±۱۵/۹۲	۲/۹۰۷	۰/۰۰۸

SIP: اسفنگوزین-۱-فسفات *FHL: عضلات تا کننده بلند شست پا*

داده ها به صورت "انحراف معیار±میانگین" می باشد.

بحث:

این مطالعه با هدف بررسی اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر میزان سطح S1P پلاسمایی و بافتی عضلات تند و کند انقباض انجام شد. نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی بطور قابل ملاحظه ای میزان S1P در پلاسما، عضله FHL و عضله نعلی را افزایش داد. بنابراین به نظر می رسد که تمرین مقاومتی میزان شکل گیری این لیپید را افزایش و میزان تجزیه آن را کاهش داده است. نتایج بیانگر آن است که میزان S1P در عضله FHL بالاتر از مقدار آن در عضله نعلی در گروه تجربی و کنترل بود. به نظر می رسد که تارهای عضلانی تند انقباض دارای سطوح بالاتری از S1P نسبت به تارهای کند انقباض هستند (۵۸/۷۷ در مقابل ۴۲/۷۰ در گروه کنترل). از طرف دیگر، نتایج نشان داد که میزان افزایش S1P بدنبال تمرین مقاومتی در تارهای تند انقباض نسبت به تارهای کند انقباض بیشتر است (۱۷۸/۵۶٪ در مقابل ۱۴۲/۴۸٪)، می توان نتیجه گرفت که پاسخ تمرین مقاومتی می تواند نسبت به نوع تار عضله ویژه باشد. فسفوریلاسیون PKB (Akt)، mTOR و S6K1 بدنبال یک دوره تمرین مقاومتی در تارهایی که محتوای بیشتری از تار نوع IIa در مقابل نوع I داشتند بیشتر گزارش شد (۳۲).

در این مطالعه مشاهده شد که در گروه کنترل میزان S1P پلاسما، FHL و نعلی به ترتیب برابر (pmol/ml) ۱۹۵/۳۹±۴۳۰/۴۳، ۱۲/۰۲±۵۸/۶۹ (pmol/mg) و ۱۵/۹۲±۴۲/۷۰ (pmol/mg) گزارش شد. در یک مطالعه Yatomi و همکاران نشان دادند که سطوح S1P در روده و طحال بالاترین مقدار و در کبد، عضله اسکلتی و

Archive of SID

www.SID.ir

قلب موش صحرایی کمترین مقدار می باشد (۳۳). در تحقیق حاضر نیز مقادیر S1P به ترتیب در پلاسما، عضله تند و عضله کند بیشتر بود که با داده های قبلی همخوانی دارد. پلاکت ها مقدار قابل توجهی از S1P را ذخیره می کنند. تمرین ورزشی باعث تغییر در تعداد و عملکرد پلاکت ها خواهد شد (۳۴). مکانیسم های مختلفی چون سطوح افزایش یافته اپی نفرین و نوراپی نفرین در پلاسما و تغییر در پاسخ گیرنده های آدرنرژیک پلاکت ها می توانند شاید دلیلی برای افزایش فعالیت پلاکت ها بعد از تمرین شدید بدنی باشند (۳۵). Ahmadizad و همکاران افزایش معنی داری در تعداد و فعالیت پلاکت ها در پاسخ به تمرین مقاومتی نشان دادند (۳۶). از طرف دیگر، بعد از ایجاد زخم، عروق آسیب دیده پلاکت ها را فعال می کنند. پلاکت های فعال شده نقش مهمی در فرآیند ترمیم آسیب بوسیله آزاد کردن واسطه های بیواکتیو جهت تکثیر، انتقال سلول، انعقاد و آنژیوژنز ایفا می کنند. به احتمال زیاد S1P نیز چنین واسطه آزاد شده از پلاکت های فعال شده می باشد که می تواند دارای اثرات میتوژنیک/مهاجرت (Migration) روی سلول های اطراف مثل سلول های اندوتلیال، سلول های عضلات صاف، فیبروبلاست ها و کراتینوسیت ها داشته باشد (۳۷). به نظر می رسد که بویژه در پی تمریناتی شبیه به پروتکل تحقیق حاضر، شاید افزایش فعالیت و یا تعداد پلاکت ها منجر به افزایش در سطوح S1P مشتق شده از آنها گردد اگر چه نقش سایر منابع تولید S1P را هم نمی توان نادیده گرفت.

بسیاری از فاکتورهای رشدی مثل PDGF، EGF، IGF و انسولین، به علاوه سایتوکین‌های TNF-α و IL-6 باعث فعال شدن آنزیم SK1 شده و افزایش موقت S1P می گردد (معمولاً ۳-۲ برابر) (۳۸،۱۳،۱۰). افراد تمرین کرده مقاومتی دارای غلظت بالاتر IGF-I نسبت به افراد تمرین نکرده بودند. Marx و همکاران بدنبال ۶ ماه تمرین مقاومتی افزایش معناداری در میزان IGF-I در افرادی که قبلاً غیر فعال بودند مشاهده کردند (۳۹). از این مطالعات می توان نتیجه گرفت که شاید سطوح افزایش یافته IGF-I می تواند دلیلی برای افزایش فعالیت SK1 و متعاقباً تولید S1P باشد. به علاوه نشان داده شد که ۲۵ هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش ۲۵ درصد در IGF-I گردش خون شد (۴۰). در تحقیقی Dobrzy و همکاران نشان دادند که در موش های صحرایی نژاد ویستار ۶ هفته تمرین استقامتی کل محتوای سرامید را کاهش داد و اثری روی محتوای اسفنگوزین نداشت (۲۸). Blachnio-Zabielska و همکاران نشان دادند که یک تمرین حاد طولانی مدت محتوای کل S1P را در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دوقلو افزایش داد (۲۹). فعالیت آنزیم SK1 و سطح S1P درون زاد در بافت های آسیب دیده بطور معنی داری افزایش داشت و با سلول های اقماری همبستگی داشت، که نشان دهنده درگیری SK1/S1P در ترمیم و بهبود آسیب می باشد. این نتایج در حمایت از نقش S1P به عنوان یک رویکرد جدید درمانی برای عضلات اسکلتی آسیب دیده و بیمار می باشد (۲۱). Danieli-Betto و همکاران نشان دادند کهS1P تولید شده بصورت درون سلولی می تواند به جایگاه های آسیب دیده آزاد شود و فرآیند ترمیم بافت آسیب دیده را تحریک کند. فعال شدن SK1 و تولید S1P می تواند فاکتورهای متعددی چون HGF که یک فاکتور میوژنیک می باشد را فعال نماید (۲۳). نتایج فوق می تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم یافته های تحقیق حاضر را تقویت نماید.

نتیجه گیری:

در مجموع، این تحقیق نشان داد که محتوای S1P پلاسما و عضلات بعد از یک برنامه تمرین ۸ هفته‌ای مقاومتی افزایش یافت. این اطلاعات نشان می دهد که تمرین مقاومتی سنتز این لیپید را افزایش، یا تجزیه آن را کاهش و یا فراخوانی آن از منابع مختلف به پلاسما و عضله را تسهیل کرده است. ازآنجا که مطالعات قبلی از این لیپید به عنوان یک فاکتور رشدی و تروفیکی نام

Archive of SID
www.SID.ir

برده اند، به نظر می‌رسد که افزایش در محتوای S1P بعد از تمرین مقاومتی یک مکانیسم موثر در تغییرات ساختمانی و یا عملکردی هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی در عضلات اسکلتی باشد که البته مستلزم تحقیقات بیشتر است. لذا نتایج این تحقیق شاید در زمینه تولید مکمل‌های ورزشی جدید در افزایش توده عضلانی و بهبود آسیب های ناشی از ورزش می تواند رویکرد جدیدی را پیش رو قرار دهد.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس و نیز با استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده که از حمایت این دو واحد دانشگاهی کمال تشکر را داریم. در ضمن از کمک های آقای دکتر مرتضی هاشم زاده رئیس مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد کمال تشکر را داریم.

منابع:

1. Lahiri S, Futerman AH. The metabolism and function of sphingolipids and glycosphingolipids. Cell Mol Life Sci. 2007 Sep; 64(17): 2270-84.

2. Zeidan YH, Hannun YA. Translational aspects of sphingolipid metabolism. Trends Mol Med. 2007 Aug; 13(8): 327-36.

3. Igarashi J, Erwin PA, Dantas APV, Chen H, Michel T. VEGF induces S1P1 receptors in endothelial cells: Implications for cross-talk between sphingolipid and growth factor receptors. Proc Natl Acad Sci USA. 2003 Sep; 100(19): 10664-9.

4. Huwiler A, Kolter T, Pfeilschifter J, Sandhoff K. Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling. Biochim Biophys Acta.. 2000 May; 1485(2-3): 63-99.

5. Alewijnse AE, Peters SL, Michel MC. Cardiovascular effects of sphingosine 1 phosphate and other sphingomyelin metabolites. Br J Pharmacol. 2004 Nov; 143(6): 666-84.

6. Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling and biological activities in the cardiovascular system. Biochim Biophys Acta. 2008 Sep; 1781(9): 483-8.

7. Yatomi Y. Plasma sphingosine 1-phosphate metabolism and analysis. Biochim Biophys Acta. 2008 Mar; 1780(3): 606-11.

8. Watterson K, Sankala H, Milstien S, Spiegel S. Pleiotropic actions of sphingosine-1-phosphate. Prog Lipid Res. 2003 Jul; 42(4): 344-57.

9. Dyatlovitskaya EV, Kandyba AG. Bioeffector Sphingolipids as Stimulators of Cell Growth and Survival. Bioorg Khim. 2004 May-Jun; 30(3): 227-33.

10. Kim RH, Takabe K, Milstien S, Spiegel S. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. Biochim Biophys Acta. 2009 Jul; 1791(7): 692-6.

11. Nagata Y, Partridge TA, Matsuda R, Zammit PS. Entry of muscle satellite cells into the cell cycle requires sphingolipid signaling. J Cell Biol. 2006 Jul; 174(2): 245-53.

12. Nagata Y, Kobayashi H, Umeda M. Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells. J Histochem Cytochem. 2006 Apr; 54(4): 375-84.

13. Bencini C, Squecco R, Piperio C. Effects of sphingosine 3-phosphate on excitation–contraction coupling in mammalian skeletal muscle. J Muscle Res Cell Motil. 2003; 24(8): 539-54.

Archive of SID

www.SID.ir

14. Rapizzi E, Taddei ML, Fiaschi T, Donati C, Bruni P, Chiarugi P. Sphingosine 1-phosphate increases glucose uptake through trans-activation of insulin receptor. Cell Mol Life Sci. 2009 Oct; 66(19): 3207-18.

15. Zanin M, Germinario E, Dalla Libera L. Trophic action of sphingosine 1-phosphate in denervated rat soleus muscle. Am J Physiol Cell Physiol. 2008 Jan; 294(1): C36-46.

16. Sanchez T, Hla T. Structural and functional characteristics of S1P receptors. J Cell Biochem. 2004 Aug; 92(5): 913-22.

17. Graler MH. Targeting sphingosine 1-phosphate (S1P) levels and S1P receptor functions for therapeutic immune interventions. Cell Physiol Biochem. 2010; 26(1): 79-86.

18. Pebay A, Bonder CS, Pitson SM. Stem cell regulation by lysophospholipids. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2007 Nov; 84(3-4): 83-97.

19. Serra M, Saba JD. Sphingosine 1-phosphate lyase, a key regulator of sphingosine 1-phosphate signaling and function. Adv Enzyme Regul. 2010; 50(1): 349-62.

20. Pyne S, Pyne NJ. Sphingosine 1-phosphate signalling in mammalian cells. Biochem J. 2000 Jul; 349(Pt 2): 385-402.

21. Sassoli CH, Formigli F, Bini F, Tani A, Squecco A, Battistini CH, et al. Effects of S1P on skeletal muscle repair/regeneration during eccentric contraction. J Cell Molecul Med. 2011; 15(11): 2498-511.

22. Donati C, Cencetti F, Nincheri P. Sphingosine 1 Phosphate mediates proliferation and survival of mesoangioblasts. Stem Cells. 2007 Jul; 25(7): 1713-9.

23. Danieli-Betto D, Peron S, Germinario E. Sphingosine 1-phosphate signaling is involved in skeletal muscle regeneration. Am J Physiol Cell Physiol. 2010 Mar; 298(3): C550-8.

24. Danieli-Betto D, Germinario E, Esposito A. Sphingosine 1-phosphate protects mouse extensor digitorum longus skeletal muscle during fatigue. Am J Physiol Cell Physiol. 2005 Jun; 288(6): C1367-73.

25. Sabbadini RA, Danieli-Betto D, Betto R. The role of sphingolipids in the control of skeletal muscle function: a review. Ital J Neurol Sci. 1999 Dec; 20(6): 423-30.

26. Donati C, Bruni P. Sphingosine 1-phosphate regulates cytoskeleton dynamics: implications in its biological response. Biochim Biophys Acta. 2006 Dec; 1758(12): 2037-48.

27. Dobrzy AA, Knapp M, Gorski J. Effect of acute exercise and training on metabolism of ceramide in the heart muscle of the rat. Acta Physiol Scand. 2004 Jul; 181(3): 313-9.

28. Dobrzy A, Gorski J. Ceramides and sphingomyelins in skeletal muscles of the rat: content and composition. Effect of prolonged exercise. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002 Feb; 282(2): E277-85.

29. B Lachnio-Zabielska A, Baranowski M, Zabielski P, Gorski J. Effect of exercise duration on the key pathways of ceramide metabolism in rat skeletal muscles. J Cell Biochem. 2008 Oct; 105(3): 776-84.

30. Ma MM, Chen JL, Wang GG, Wang H, Lu Y, Li JF, et al. Sphingosine kinase 1 participates in insulin signalling and regulates glucose metabolism and homeostasis in KK/Ay diabetic mice. Diabetologia. 2007 Apr; 50(4): 891-900.

31. Min JK, Yoo HS, Lee EY, Lee WJ, Lee YM. Simultaneous quantitative analysis of Sphingoid base 1-phosphates in biological samples by o-phthalaldehyde precolumn derivatization after dephosphorylation with alkaline phosphatase. Anal Biochem. 2002 Apr; 303(2): 167-75.

Archive of SID

www.SID.ir

32. Koopman R, Zorenc AH, Gransier RJ, Cameron-Smith D, van Loon LJ. Increase in S6K1 phosphorylation in human skeletal muscle following resistance exercise occurs mainly in type II muscle fibers. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006 Jun; 290(6): E1245-52.

33. Yatomi Y, Ozaki Y, Ohmori T, Igarashi Y. Sphingosine 1-phosphate: synthesis and release. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2001 Apr; 64(1-4): 107-22.

34. Hilberg T, Glaser D, Koksch M, Schmidt V, Sossdorf M, Gabriel HHW. Differentiation of platelet-leukocyte conjugate formation by short term exercise. Clin Hemorheol Microcirc. 2004; 31(3): 217-26.

35. Coppola A, Coppola L, dalla Mora L.. Vigorous exercise acutely changes platelet and B-lymphocyte CD39 expression. J Appl Physiol. 2005 Apr; 98(4): 1414-9.

36. Ahmadizad S, El-Sayed MS, MacLaren DP. Responses of platelet activation and function to a single bout of resistance exercise and recovery. Clin Hemorheol Microcirc. 2006; 35(1-2): 159-68.

37. Ishii I, Fukushima N, Ye X, Chun J. Lysophospholipid receptors: signaling and biology. Annu Rev Biochem. 2004; 73: 321-54.

38. Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008 Feb; 9(2): 139-50.

39. Marx JO, Ratamess NA, Nindl BC. Low-volume circuit versus high-volume periodized resistance training in women. Med Sci Sports Exerc. 2001 Apr; 33(4): 635-43.

40. Borst SE, De Hoyos DV, Garzarella L. Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins. Med Sci Sports Exerc. 2001 Apr; 33(4): 648-53.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2012 Apr, May; 14(1): 1-10.

Original article

The effect of resistance training on plasma and skeletal muscles sphingosine-1-phosphate levels of male Wistar rat

Banitalebi E (PhD student)[1], Gharakhanlou R (PhD)[1]*, Ghatreh-Samani K (PhD)[2], Mohammad-Amoli M (PhD)[3], Teimori H (PhD)[4]

[1]Exercise Physiology Dept., Tarbiat Moddares University, Tehran, I.R. Iran; [2]Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; [4]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 16/Aug/2011 Revised: 10/Nov/2011 Accepted: 12/Dec/2011

Background and aims: Sphingosine 1-phosphate (S1P) is a bioactive platelet-derived sphingolipid that is involved in regulation of proliferation, differentiation, hypertrophy and anti-apoptosis of cells and activation of satellite cells. The purpose of present study was to examine the effect of resistance training on S1P levels of plasma and skeletal muscles in male Wistar rats.

Methods: Twenty four 8-week-old male Wistar rats were used in this study. The initial body weight of rats was 190 to 250 gr. All animals were maintained in pairs in an environmentally controlled room at 22°C, 12:12-h photoperiod cycle and allowed normal cage activity. The animals were fed standard rat chow and water ad libitum. After a week of acclimation to the animal facility, the rats were assigned randomly to a control (N=12) or training (N=12) group. Resistance training was done using a 1 meter height ladder with 2 cm grid with an 85 degree incline, and weights attached to rat's tails. The content of sphingosine-1- phosphate (S1P) present in the chloroform layer was determined by means of high performance liquid chromatography (HPLC).

Results: Resistance exercise training increased the total content of S1P in FHL (fast-twitch) (P=0.003) and soleus (slow-twitch) (P=0.008) muscles and plasma (P=0.001) in comparison with control group.

Conclusion: It is concluded that resistance exercise training strongly affects the S1P content in fast and slow twitch muscles and plasma.

Keywords: **Sphingosine-1-phosphate (S1P), Plasma, Fast-twitch, Slow twitch, Resisdance training.**

Cite this article as: Banitalebi E, Gharakhanlou R, Ghatreh- Samani K, Mohammad-Amoli M, Teimori H. [The effect of resistance training on plasma and skeletal muscles sphingosine-1-phosphate levels of male Wistar rat. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 Apr, May; 14(1): 1-10.]Persian

***Corresponding author:**
Exercise Physiology Dept., Faculty of Humanities, Tarbiat moddares University, Tehran, I.R.. Iran.
Tel: 00982182884646, E-mail:ghara_re@modares.ac.ir.

www.SID.ir