

## اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار اسفنگوزین-۱-فسفات، میزان بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز ۱ و ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین میوزینی عضلات اسکلتی موش

### صحرائی

دکتر ابراهیم بنی‌طالبی<sup>۱</sup>، دکتر کیهان قطره سامانی<sup>۲</sup>، گشتاسب مردانی<sup>۳</sup>، دکتر علی سهیلی<sup>۴</sup>، رویا انصاری سامانی<sup>۵</sup>، دکتر حسین تیموری<sup>۶\*</sup>  
 ۱-استادیار گروه تربیت بدنی، دانشگاه شهرکرد. ۲-استادیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۳-دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۴-دکتری داروسازی. ۵-کارشناس ارشد بافت شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۶-استادیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

### چکیده

**زمینه و هدف:** اسفنگوزین-۱-فسفات (SIP) در تنظیم، تکثیر، تمایز، هایپرتروفی و مقابله با مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای (satellite cell) نقش دارد. این مطالعه به منظور تعیین اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار اسفنگوزین-۱-فسفات، میزان بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز ۱ و ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین میوزینی (MHC I, IIa, IIb, IIx) عضلات اسکلتی تند و کند انقباض موش صحرائی نر انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۵۰-۱۹۰ گرم انجام شد. موش‌ها به صورت تصادفی در دو گروه ۱۲ تایی کنترل و تمرینی قرار گرفتند. نردبان مقاومتی یک متری با فاصله میله‌های ۲ سانتی‌متری با شیب ۸۵ درجه به‌عنوان وسیله تمرین مقاومتی و وزنه‌های متصل شده به دم حیوان به‌عنوان مقاومت استفاده شد. مقدار SIP در لایه کلروفرم به‌وسیله دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. برای بررسی بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز ۱ (SKI) و ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین میوزینی (MHC I, IIa, IIb, IIx) عضلات اسکلتی تند و کند موش‌ها از روش Real-Time PCR استفاده شد. بیان ژن‌ها در عضلات تاکننده بلند انگشت شست پا (Flexor Hallucis Longus: FHL) به‌عنوان عضله تندانقباض و عضله نعلی (Soleus: SOL) به‌عنوان کندانقباض بررسی گردید. داده‌ها با میانگین و انحراف معیار توصیف گردید و پس از انجام آزمون نرمالیتی Kolmogorov-Smirnov، مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار SPSS-17 و independent t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** تمرین مقاومتی محتوای SIP در عضله FHL ( $1/042 \pm 0/292$  pmol/mg weight) و SOL ( $0/587 \pm 0/111$  pmol/mg weight) را در گروه تمرینی در مقایسه با عضله FHL ( $0/708 \pm 0/146$  pmol/mg weight) و SOL ( $0/427 \pm 0/159$  pmol/mg weight) گروه کنترل افزایش داد ( $P < 0/05$ ). به‌علاوه تمرین مقاومتی باعث تغییرات در بیان ژن SKI در عضله تندانقباض FHL و کندانقباض SOL، MHC I، SOL، تندانقباض FHL و کندانقباض SOL، MHC IIa، SOL، کندانقباض FHL و کندانقباض SOL، MHC IIb، SOL، کندانقباض FHL و کندانقباض SOL، MHC IIx و SOL در عضله کندانقباض FHL شد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که تمرین مقاومتی سبب افزایش میزان SIP عضلانی و بیان MHCs و SKI می‌گردد.

**کلید واژه‌ها:** تمرین مقاومتی، اسفنگوزین-۱-فسفات، بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز ۱، زنجیره سنگین میوزینی، موش صحرائی

\* نویسنده مسؤول: دکتر حسین تیموری، پست الکترونیکی [htemoriri@skums.ac.ir](mailto:htemoriri@skums.ac.ir)

نشانی: شهرکرد، رحمتیه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۳۳۴۶۶۹۲-۳۳۸۱-۰۳۸۱، نامبر ۳۳۴۶۶۹۲

وصول مقاله: ۹۰/۸/۹، اصلاح نهایی: ۹۱/۱/۲۶، پذیرش مقاله: ۹۱/۳/۷

### مقدمه

عضلات مخطط است که دارای ایزوفرم‌های مختلف (MHC I, IIa, IIb, IIx) است (۲). سلول‌های یوکاریوتیک به‌وسیله یک لایه چربی احاطه شده و شامل گلیسرولیپید، اسفنگولیپید (Sphingolipids: SLs) و استرول می‌باشند (۳و۴). در این میان اسفنگولیپیدها [اسفنگوزین،

عضله اسکلتی یک بافت بیولوژیک است که خود را با شرایط مکانو-بیولوژیکی سازگار می‌کند و منجر به تغییر در عوامل سلولی و ملکولی می‌گردد که برای تنظیم قطر، طول و نوع تار عضله مهم است (۱). زنجیره سنگین میوزینی یکی از اجزاء دستگاه انقباضی در

پروتئین‌های داربست سلولی، بیان مولکول‌های چسبان (Adhesion molecule) و فعالیت کاسپازها مرتبط می‌باشند (۲۰). تزریق SIP و اسفنگوزین به عضلات قطع نخاع شده باعث افزایش بیان در سطح دو عامل رونویسی میوژنیک Myo-D و میوژنین و تبدیل تار تندانقباض به کندانقباض می‌گردد (۱۳). در مطالعه Nagata و همکاران اسفنگومیلینی که برای تولید SIP متابولیزه شد؛ باعث انتقال سلول‌های اقماری از حالت خاموشی به تکثیر شونده گردید. به‌علاوه در یک مدل آسیب عضلانی، بلوک کردن تولید SIP از طریق مهار SK1 سبب اختلال در بازسازی سلول عضلانی گردید که نشان می‌دهد SIP دارای نقش مهمی در بازسازی عضلانی از طریق سلول‌های بنیادی اقماری (Satellite stem cells) است (۹ و ۱۰). در ضمن سطوح SK1 و SIP درونزاد در تارهای آسیب‌دیده بالاتر بود و با سلول‌های اقماری در ارتباط بود که نشان می‌دهد محور SK1/SIP در حمایت و ترمیم بافت آسیب‌دیده درگیر است (۲۱). Folland و Williams نیز به نقش SIP در تکثیر و بقا و مزوتزیوبلاست‌ها اشاره داشتند (۲۲). اضافه کردن پروتزاد SIP 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 گردید که نشان می‌دهد این لیپید بیواکتیو به عنوان یک عامل رشد جدید در رشد سلول است (۲۳). Danieli-Betto و همکاران نشان دادند که ورزش حاد طولانی مدت محتوای SIP در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دو قلو را افزایش می‌دهد (۲۴). در مقابل در مطالعه‌ای به‌دنبال ۵ هفته تمرین هوازی، تغییر معنی‌داری در محتوای SIP عضلات نعلی و دوقلوی موش صحرایی دیده نشد (۲۵). همچنین نشان داده شد که در عضله نعلی موش صحرایی هیچ تغییری در محتوای SIP تا دقیقه ۹۰ از یک تمرین دو روی تردمیل مشاهده نشد. با این حال در نقطه واماندگی، محتوای SIP تا دو برابر افزایش یافت (۲۶). از آنجا که در مطالعات فوق‌الذکر از SIP به‌عنوان 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 پروتکل‌های حاد و یا استقامتی استفاده کرده‌اند؛ لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار اسفنگوزین-۱-فسفات، میزان بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز ۱ و ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین میوزینی (MHC I, IIa, IIb, IIx) عضلات اسکلتی تند و کند انقباض موش صحرایی انجام شد.

### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۵۰-۱۹۰ گرم خریداری شده از مرکز

اسفنگوزین-۱-فسفات (Sphingosine-1-phosphate: SIP)، اسفنگوزین-۱-فسفوکولین (Sphingosine-1-phosphocholine: SIPch)، سرامید-۱-فسفات [شناخته‌شده‌ترین چربی فعال زیستی بوده که در تنظیم تکثیر، تمایز، هایپر تروفی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی درگیر است و حضور یک گروه آمین آزاد در مولکول اسفنگولیپید بر فعالیت بیولوژیکی آنها تاثیر می‌گذارد (۵ و ۴). SIP یک اسفنگولیپید مشتق شده از پلاکت‌ها است (۶). با این حال گلبول‌های قرمز خون که به‌طور دایم SIP را تخلیه می‌کند؛ می‌تواند مسئول سطوح پایه SIP پلاسمایی باشد (۷). دو ایزوفرم آنزیم اسفنگوزین کیناز (Sphingosine kinase: SK1, SK2)، آنزیمی که اسفنگوزین را به محصول SIP فسفوریله می‌کند؛ مشخص شده است (۸). این دو ایزوفرم دارای نقش‌های متفاوت می‌باشند. به‌طوری که SK1 باعث رشد و بقا سلول و SK2 سبب توقف رشد و افزایش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌گردد. به‌دنبال تحریک سلول با عوامل رشدی و سیتوکین‌ها، SK1 تحریک شده و از سیتوپلاسم به غشاء سیتوپلاسمی منتقل می‌شود؛ به‌نظر می‌رسد منبع اصلی SIP ترشح شده از سلول‌ها تحت این شرایط است (۹ و ۱۰). پاسخ‌های میتوژنیک به عوامل رشدی مربوط به فعال‌سازی آنزیم SK1 و متعاقباً افزایش تولید درون‌سلولی SIP است (۸ و ۱۱ و ۱۲). بیش‌بینانی آنزیم SK1 نه فقط باعث افزایش میزان رشد سلولی می‌گردد؛ بلکه باعث محافظت سلول از مرگ برنامه‌ریزی شده ناشی از  $TNF-\alpha$  و یا افزایش پروتزاد سرامید در سلول می‌گردد (۳). عضلات اسکلتی منبع فقیری از SK1 می‌باشند تا بتوانند SIP اضافی در سطح تارهای عضلات اسکلتی را تولید نمایند (۱۳). غلظت‌های بالایی از SIP در پلازما (۱۹۱ pmol/ml) و سرم (۴۸۴ pmol/ml) خون یافت می‌شود که نشان می‌دهد پلاکت‌ها منبع اسفنگولیپیدها می‌باشند (۱۴) و بعد از تحریک پلاکت‌ها مقدار SIP در جریان خون افزایش می‌یابد (۱۵). SIP می‌تواند به‌عنوان یک واسطه خارج سلولی در کنترل تحریک‌پذیری سلول از طریق متصل شدن به گیرنده‌های موجود در غشاء SIP که خانواده‌ای از پروتئین‌های جفت شده به G-پروتئین‌ها (Family of G protein-coupled receptors) هستند؛ سبب فعال شدن آنها گردد (۱۶) و سپس گیرنده‌های SIP به G-پروتئین‌های مختلفی که شامل  $G\alpha, i, q, 12/13$  می‌باشند؛ جفت می‌شوند (۱۷). بسیاری از اثرات سیگنالی SIP از طریق فعال‌سازی فسفولیپاز C (PLC)، تحریک  $Ca^{2+}$ ، فعال‌سازی ERK1/2، آدنیلات سیکلاز C (AC)، JNK، Akt، Rho، Rac، PI3K، MAPK، فسفولیپاز D (PLD) و دیگر واسطه‌های پایین‌رونده تعدیل می‌گردد که باعث افزایش جریان کلسیم درون سلولی و مهار تجمع cAMP می‌گردد (۱۹-۱۷). این مسیرهای سیگنالی به فعال‌سازی عوامل نسخه‌برداری،

تحقیقاتی پاستور در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد در سال ۱۳۹۰ انجام شد. این تحقیق توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأیید شد. پروتکل کار بر روی حیوانات رعایت گردید. موش‌ها به صورت جفتی در قفس‌های استاندارد و در محیط کنترل شده‌ای با درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه خواب و بیداری ۱۲ ساعته نگهداری شدند. غذا به صورت پلیت و آب در دسترس آنها بود. بعد از یک ماه آشناسازی، موش‌ها به صورت تصادفی در دو گروه ۱۲ تایی کنترل و تمرینی قرار گرفتند. گروه کنترل در طول دوره تمرین در قفس‌ها قرار داشت و برای کنترل سلامت حیوانات وزن آنها هر هفته اندازه‌گیری شد. در پروتکل تمرین، نردبان مقاومتی با یک متر ارتفاع و فاصله میله‌های ۲ سانتی‌متری با شیب ۸۵ درجه استفاده گردید. از وزنه‌هایی که با چسب نواری به دم موش‌های صحرایی متصل شد؛ استفاده گردید. بعد از یک هفته آشناسازی با دستگاه تمرین مقاومتی، تمرین در هفته اول با وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن شروع شد و این وزنه‌ها به دم موش‌ها (درست ۲-۱ سانتی‌متر پایین‌تر از محل رویش مو) متصل شد. بار تمرین تا ۲۰۰ درصد وزن بدن حیوانات تا پایان هفته هشتم ادامه داشت. یک تکرار موفق زمانی محسوب گردید که حیوان توانست پله‌ها را کامل و در زمان حدود ۸ ثانیه بالا رود. موش‌ها در پایین پله‌ها قرار گرفتند و برای بالا رفتن برانگیخته شدند. فقط ضربات بسیار آهسته به دم آنها یا میله‌ها انگیزش برای بالا رفتن بود. در این مطالعه از هیچ گونه پاداش غیرطبیعی و تحریک غیرطبیعی مثل تحریک الکتریکی، آب سرد و فشار هوا استفاده نشد. تعداد تکرارها در هر جلسه ۲۰ دفعه بود. وقتی یک حیوان به بالای دستگاه رسید و یک تکرار را انجام داد؛ بعد از ۴۵ ثانیه برای تکرار بعدی آماده گردید. در شروع هر برنامه ۲ ست ۵ تکراری گرم کردن بدون وزنه انجام شد. پروتکل تمرین در هر روز در ۴ ست ۵ تکراری انجام شد و بعد از هر ست ۲ دقیقه 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 برای سرد کردن انجام 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 (برای از بین رفتن اثرات حاد تمرین) از طریق تزریق کتامین (۷۵ mg/kg) و گزالیسین (۲۰ mg/kg) بیهوش و سپس قربانی شدند. عضلات تاکننده بلند انگشت شست پا (Flexor Hallucis Longus: FHL) به عنوان عضله تندانقباض و عضله نعلی (Soleus: SOL) به عنوان کندانقباض خارج شدند. نمونه‌های عضلات سریع‌آزاد نیتروژن مایع منجمد شد و سپس برای آنالیزهای بیوشیمیایی و ژنتیک بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه

سانتی‌گراد نگهداری شدند. SIP (شماره کاتالوگ 860492P) و C17-S1P (یک آنالوگ ۱۷ کربنی از SIP، به عنوان استاندارد داخلی، شماره کاتالوگ 860643) از شرکت Avanti Polar Lipids خریداری شد. فتال‌دی‌آلد‌هید (OPA) (شرکت مرک آلمان، شماره کاتالوگ ۱۱۱۴۵۲) مناسب برای تشخیص HPLC (High pressure liquid chromatography) فلورومتري تهیه شد. همچنین آلکالین فسفاتاز از شرکت Sigma (شماره کاتالوگ 10KU, A2356) تهیه شد. دیگر محلول‌ها مثل اتانول، بتا-مرکاپتواتانسل از شرکت مرک آلمان (شماره تولید 444203-250ML) خریداری شدند. تمام استانداردهای لیپیدی به صورت محلول تهیه و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محتوای SIP موجود در فاز کلروفورم به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) با یک سیستم دکتور فلوروسنس و یک ستون C18 (NanoLC Aligent 1200 series) اندازه‌گیری شد. براساس مطالعه Min و همکاران C17-S1P به عنوان استاندارد داخلی قبل از هموزن کردن نمونه‌ها اضافه شد و نمونه‌ها در محیط یخی اولتراسونیک شدند. SIP موجود در نمونه‌ها از طریق آلکالین فسفاتاز به اسفنگوزین تبدیل شده و این محصولات از طریق OPA قبل از تزریق به دستگاه مشتق‌سازی شدند (۲۷). محلول مورد استفاده استونیتریل (Acetonitrile) (مرک آلمان شماره کاتالوگ 100030) و آب HPLC grade (شرکت ندای فن) به نسبت (۹:۱v/v) بود. میزان جریان (Flow Rate) یک میلی‌لیتر در دقیقه بود. میزان تقریبی ۵۰ میلی‌گرم عضله با روش هاون کوبی پودر گردید و برای استخراج کل RNA در ۸۰۰ میکرولیتر تریزول (Trizol) شرکت Invitrogen (شماره کاتالوگ 15596-026) هموزن گردید. با استفاده از دستورالعمل شرکت سازنده RNA استخراج شد. سپس RNA استخراج شده که به صورت پلیت روشن بود؛ در ۵۰ میکرولیتر آب RNAase-Free حل گردید. انسجام و کامل بودن RNA به وسیله استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز و مشاهده باندها بین دو باندها 18s و 28s زیر نور U.V بررسی گردید. برای تعیین کیفیت و غلظت RNA از دستگاه نانودراپ استفاده گردید. نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ به جذب نوری در طول موج ۲۸۰ (A260/A280) برآوردی از خلوص RNA بود. همچنین نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ به جذب نوری در طول موج ۲۳۰ (A260/A230) نشان‌دهنده آلودگی فنلی بود. این نسبت برای RNA بین ۱/۸ تا ۲ بود. مقادیر کمتر از ۱/۸ نمایانگر وجود آلودگی با پروتئین یا مواد آروماتیک و یا نشانه غلظت کم RNA بود. نمونه‌هایی که نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ آنها بین ۱/۸ تا ۲

جدول ۱: توالی پرایمر برای ژن‌های 18s, SIP1, SIP2, SIP3

طول قطعه	شماره دسترسی	پرایمر		
204bp	Pattyn et al. (2003)	GTTGGTTTTTCGGAAGTGGAGGC	F	18S rRNA
		GTCGGCATCGTTTATGGTTCG	R	
80pb	NM_017301	CCGTAAGTGGTTCATGTGCCA	F	SKI
		TCCCCGTCCACAGAAAACACT	R	
81bp	NM_017192	TTGCTCTACCCAACCCTAAGGATG	F	MHC I
		TTGTGTTTCTGCCTGAAGGTGC	R	
265bp	XM_225216	CTCAGGCTTCAAGATTTGGTGG	F	MHC IIa
		TTGTGCCTCTCTTCGGTCATTC	R	
129bp	NM_176079	GAGGTTACACCAAAGTCATAAGC	F	MHC IIb
		CTTCGCTTATGACTTGGATCCTTG	R	
178bp	NM_017115	GGAGGAACAATCCAACGTCAACC	F	MHC IIx
		GGTCACTTTCCTGCTTTGGATCG	R	

بود.

میزان بیان ژن از طریق فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه گردید (۱۳). در این مطالعه  $\Delta\Delta CT$  هر ژن در بافت عضله دوقلوی (Gastrocnemius) ۱۲ موش گروه کنترل به عنوان معیار برای تعیین نسبت بیان ژن‌ها استفاده گردید. از تقسیم  $\Delta\Delta CT$  هر ژن در بافت مورد نظر گروه کنترل یا مورد بر  $\Delta\Delta CT$  همان ژن در عضله دوقلو نسبت بیان محاسبه گردید.

داده‌ها با میانگین و انحراف معیار توصیف گردید و پس از انجام آزمون نرمالیتی Kolmogorov-Smirnov، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-17 و independent t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

در شروع مطالعه و پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی، تغییر معنی‌داری در وزن حیوانات مشاهده نشد (جدول ۲).

بین مقدار SIP عضله FHL گروه تمرین (۰/۰۴۲±۰/۲۹۲) و کنترل (۰/۶۰۸±۰/۱۴۶) ( $P<0/001$ ) و عضله SOL گروه تمرین (۰/۵۸۷±۰/۱۱۱) و کنترل (۰/۴۲۷±۰/۱۵۹) ( $P<0/009$ ) تفاوت آماری معنی‌داری یافت شد.

در مقایسه با گروه کنترل میزان بیان آنزیم SK1 در عضله FHL گروه کنترل  $7/6 \pm 8/4$  و گروه تمرین  $23/05 \pm 24/70$  ( $P<0/028$ ) و SOL گروه کنترل  $4/03 \pm 6/63$  و گروه تمرین  $11/17 \pm 12/24$  ( $P<0/043$ ) تعیین شد.

بود انتخاب شدند و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند.

ساخت cDNA با استفاده از کیست Reverse Transcriptase M-MuLV (Fermantas) شماره کاتالوگ (EF0441) مطابق دستور کار شرکت سازنده، با استفاده از پرایمرهای تصادفی هگزامر در دستگاه ترموسایکلر Techne صورت گرفت. محصول تولید شده بلافاصله در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین بیان mRNA نسبی از طریق Real-time RT-PCR با استفاده از دستگاه Applied Biosystems (48 well) StepOnePlus™ Real-Time PCR System نسبت به بیان ژن 18S rRNA انجام شد. توالی پرایمر برای ژن‌های 18s, SIP1, SIP2, SIP3 در جدول یک آمده است.

کل حجم واکنش برابر ۲۰ میکرولیتر بود. این حجم شامل ۱۰ میکرولیتر Master Mix Syber Green (Primer design, UK) (کد Precision-R-SY)، ۱/۴ میکرولیتر مجموع دو پرایمر (هر پرایمر به مقدار ۵ پیکومول)، ۵ میکرولیتر آب استریل RNAase Free و ۳/۶ میکرولیتر از نمونه cDNA (۵۰ نانوگرم) بود. مراحل PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، یک دمای Annealing (جفت شدن) در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه به همراه یک دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه بود که در ۴۰ سیکل تکرار انجام شد. سیکل طولی شدن انتهایی ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن و مقادیر SIP در بافت‌های موش‌های صحرایی

p-value	مقدار t	گروه کنترل	گروه تمرین	قبل از تمرین	بعد از تمرین
۰/۸۴۰	۰/۲۰۴	۲۲۴/۴۱±۱۵/۷۷	۲۲۴/۲۵±۱۱/۹۵	وزن (گرم)	
۰/۴۶۷	۰/۷۳۹	۲۸۰/۵۸±۱۶/۲۰	۲۸۵/۸۳±۱۸/۵۰	محتوای SIP عضله (pmol/mg weight)	تاکننده بلند انگشت شست پا
۰/۰۰۱ *	۴/۶۰۴	۰/۶۰۸±۰/۱۴۶	۱/۰۴۲±۰/۲۹۲	نعلی	
۰/۰۰۹ *	۲/۸۶۵	۰/۴۲۷±۰/۱۵۹	۰/۵۸۷±۰/۱۱۱		

\*  $P<0/05$

میزان بیان ژن I MHC در عضله FHL گروه تمرینی SOL  $0.38 \pm 0.28$  و در گروه کنترل  $0.14 \pm 0.28$  و در عضله SOL گروه تمرینی  $2.71 \pm 4.6$  و گروه کنترل  $3.22 \pm 2.2$  تعیین شد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. از طرفی در گروه تمرین اختلاف معنی‌داری در بیان این ژن بین عضله FHL و SOL وجود داشت ( $P < 0.001$ ) و در گروه کنترل نیز اختلاف معنی‌داری در بیان این ژن بین عضله FHL و SOL یافت شد ( $P < 0.001$ ).

در بیان ژن گیرنده MHC IIa در بافت‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.0022$ ). به‌طوری‌که تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌داری در بیان ژن IIa در عضله FHL گروه‌های تمرین ( $2.52 \pm 1.7$ ) و کنترل ( $1.21 \pm 0.69$ ) ( $P < 0.013$ ) و SOL گروه تمرین ( $7.19 \pm 7.53$ ) و کنترل ( $2.68 \pm 2.65$ ) ( $P < 0.028$ ) گردید. همچنین تمرین مقاومتی سبب افزایش معنی‌داری در بیان ژن MHC IIb در عضله FHL گروه‌های تمرین ( $1.08 \pm 0.48$ ) و کنترل ( $3.81 \pm 4.5$ ) ( $P < 0.021$ ) و SOL گروه‌های تمرین ( $0.67 \pm 1.23$ ) و کنترل ( $0.92 \pm 1.16$ ) ( $P < 0.043$ ) گردید.

بین بیان ژن MHC IIx در عضلات SOL گروه تمرینی ( $0.33 \pm 0.61$ ) و کنترل ( $0.46 \pm 0.58$ ) تغییرات آماری معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.043$ ).

### بحث

در مطالعه حاضر تمرین مقاومتی به‌طور قابل ملاحظه‌ای میزان SIP عضلات را افزایش داد. به‌نظر می‌رسد که تمرین مقاومتی میزان شکل‌گیری این لیپید را افزایش و میزان تجزیه آن را کاهش داده است. نتایج مطالعه Koopman و همکاران بیانگر آن است که میزان SIP در عضله FHL بالاتر از مقدار آن در عضله نعلی در گروه تمرینی و کنترل بود. می‌توان نتیجه گرفت که پاسخ تمرین مقاومتی می‌تواند نسبت به نوع تار عضله ویژه باشد (۲۸).

در مطالعه حاضر میزان SIP ( $\mu\text{mol/mg weight}$ ) در عضله FHL و SOL گروه کنترل به ترتیب برابر  $0.608 \pm 0.146$  و  $0.427 \pm 0.159$  تعیین شد. در این مطالعه نشان داده شد که به‌دنبال تمرین مقاومتی افزایش معنی‌داری در بیان ژن آنزیم SK1 تار تند و کند گردید که می‌تواند یک دلیل افزایش تولید SIP در این دو نوع تار به‌دنبال تمرین مقاومتی باشد. بسیاری از عوامل رشدی مثل IGF، EGF، PDGF و انسولین، به‌علاوه سایتوکین‌های TNF- $\alpha$  و IL-6 باعث فعال شدن آنزیم SK1 شده که می‌تواند باعث افزایش موقت (معمولاً ۳-۲ برابر) SIP گردد (۲۹). در مطالعات مختلف نشان داده شده که به‌دنبال تمرین طولانی مدت مقاومتی میزان IGF-I پلاسما افزایش معنی‌داری می‌یابد (۳۲-۳۰). از این مطالعات می‌توان نتیجه گرفت که سطوح افزایش یافته IGF-I می‌تواند دلیلی برای افزایش فعالیت SK1 و متعاقباً تولید SIP باشد. در تحقیق Dobrzyn و همکاران، ۶ هفته ورزش استقامتی کل محتوای سرامید

موش‌های صحرایی نژاد ویستار را کاهش داد؛ اما اثری روی محتوای اسفنگوزین نداشت (۳۳). در مطالعه Blachnio-Zabielska و همکاران یک تمرین حاد طولانی مدت محتوای کل SIP را در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دوقلو افزایش داد (۲۶). در مقابل در مطالعه‌ای ۵ هفته تمرین استقامتی هوازی تغییر معنی‌داری در میزان SIP عضلات نعلی و دوقلو ایجاد نمود (۲۵) و علی‌رغم تفاوت با نوع و مدت تمرین با مطالعه ما مغایر بود. در مطالعه Formigli و همکاران فعالیت آنزیم SK1 و سطح SIP درون‌زاد در بافت‌های آسیب دیده به‌طور معنی‌داری افزایش داشت و با سلول‌های اقماری همبستگی داشت که نشان‌دهنده درگیری SK1/SIP در ترمیم و بهبود آسیب است. این نتایج در حمایت از نقش SIP به‌عنوان یک رویکرد جدید درمانی برای عضلات اسکلتی آسیب دیده است (۲۱). در مطالعه Danieli-Betto و همکاران SIP درون‌سولی تولید شده توانست در جایگاه‌های آسیب دیده آزاد شود و فرآیند ترمیم بافت آسیب دیده را تحریک کند. فعال شدن SK1 و تولید SIP می‌تواند عوامل متعددی چون HGF که یک عامل میوزینیک است را فعال نماید (۲۳) که این یافته به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نتایج مطالعه ما را تقویت می‌کند. در این تحقیق نشان داده شد که تمرین دارای اثرات مثبت و معنی‌داری در بیان ژن SK1 داشته و از طرف دیگر، اختلاف مشاهده شده در مقدار SIP عضلات در گروه‌های تمرینی و کنترل می‌تواند به سبب افزایش بیان این آنزیم باشد؛ اما همبستگی معنی‌داری بین مقدار SIP عضلات و بیان این آنزیم مشاهده نشد. لذا به نظر می‌رسد مسیرهای دیگری در سنتز SIP به جزء SK1 وجود داشته باشد و یا بین مقدار بیان mRNA و مقدار پروتئین این آنزیم تفاوت وجود داشته باشد. علاوه بر فعال‌سازی سریع SK، سایتوکاین‌ها و عوامل رشدی می‌توانند بیان SK را افزایش دهند (۳۴).

و میزان تجزیه آن را کاهش می‌دهند (۳۶). علاوه بر موارد اشاره شده، SIP که به طور درون سلولی تولید شده، می‌تواند به وسیله انتقال‌دهنده ویژه ABC1 به خارج سلول رها شود (۳۷). این انتقال یک طرفه SIP از بافت عضله اسکلتی به داخل جریان خون نیز می‌تواند دلیل دیگری بر عدم همبستگی بین میزان SIP عضله اسکلتی و بیان آنزیم تولیدکننده آن باشد.

در مطالعه حاضر ۸ هفته تمرین از نوع مقاومتی فزاینده در موش‌های جوان سالم باعث افزایش معنی‌دار در مقدار SIP عضلات تند و کند گردید. این افزایش در بافت‌های تند انقباض بالاتر بود. از طرف دیگر مقدار بیان آنزیم تولیدکننده عضلانی آن نیز به دنبال تمرین افزایش نشان داد. در این مطالعه به دنبال تمرین بیان MHC IIa افزایش و ایزوفرم‌های نوع MHC IIb و MHC IIx کاهش نشان دادند. این الگو در هاپیروتروفی مشاهده شده است؛ اما همبستگی معنی‌داری بین بیان آنزیم SK1 و مقدار عضلانی آن با هیچ‌یک از مقادیر بیان ایزوفرم‌های MHCs دیده نشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که SIP یکی از عوامل میوژنیک به دنبال تمرین‌های مقاومتی و قدرتی باشد. لذا پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات بعدی نقش این عامل به عنوان یکی از عوامل میوژنیک به صورت مولکولی مورد بررسی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین مقاومتی به‌طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش میزان SIP عضلانی و بیان MHCs و SK1 می‌گردد. با توجه به نقش ساختاری و عملکردی این اسفنگولیپید و از آنجا که این عامل به دنبال یک دوره تمرین مقاومتی افزایش می‌یابد؛ می‌توان گفت که یکی از عوامل رشدی و مسیرهای سیگنالی در هاپیروتروفی عضلانی است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۳۶۰-۷۴-۰۱-۱۳۸۹) دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بود و با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. بدین وسیله از همکاری بی‌دریغ آقای دکتر مرتضی هاشم زاده رئیس مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد سپاسگزاری می‌گردد.

### References

- Toigo M, Boutellier U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol.* 2006 Aug;97(6):643-63.
- Agbulut O, Noirez P, Beaumont F, Butler-Browne G. Myosin heavy chain isoforms in postnatal muscle development of mice. *Biol Cell.* 2003 Sep;95(6):399-406.
- Lahiri S, Futerman AH. The metabolism and function of sphingolipids and glycosphingolipids. *Cell Mol Life Sci.* 2007 Sep; 64(17):2270-84.

کاهش معنی‌داری در بیان ژن IIX دیده شد که با نتایج تحقیق ما همسو بود. از طرف دیگر در مطالعه Putman و همکاران تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان ژن MHC I گردید (۳۵) که با نتایج تحقیق حاضر همسو نبود. در طول عصب‌زدایی عدم فعالیت باعث توسعه آتروفی تارهای عضلانی می‌گردد. آتروفی مرتبط با تغییرات ترکیب MHC، به ویژه کاهش MHC آهسته (نوع I) شده که با بیان بیشتر ایزوفرم‌های تند جبران می‌گردد. تزریق SIP یا اسفینگوزین به عضله کند نعلی، تغییر تار کند انقباض به تند انقباض ناشی از بی‌حرکی را کاهش داده است (۱۳). با توجه به این که به دنبال تمرین مقاومتی تغییر فنوتیپ نوع تار تند به کند رخ می‌دهد و تحقیق ما نیز دارای چنین پروتکل تمرینی بود؛ به نظر می‌رسد که افزایش بیان ژن MHC IIa و کاهش همزمان بیان MHC IIb و MHC IIx در این تحقیق با توجه به نوع پروتکل تمرین ما دور از انتظار نیست. به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی همبستگی معنی‌داری بین مقدار SIP عضلانی گروه تمرین کرده و بیان ژن‌های MHCs مشاهده نشد. هرچند در مطالعه Zanin و همکاران به دنبال تزریق SIP و اسفنگوزین به عضله نعلی عصب‌زدایی شده، تغییر ایزوفرم نوع تند به آهسته مشاهده شد (۱۳)؛ اما در مطالعه ما همبستگی بین مقدار SIP عضلانی با ایزوفرم‌های مختلف MHC دیده نشد و می‌توان گفت شاید مکانیسم‌های دیگری در تغییر ایزوفرم MHC درگیر هستند. به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی همبستگی معنی‌داری بین بیان ژن آنزیم SK1 و مقدار SIP عضلانی در عضله FHL گروه تمرین (P<۰/۰۴۸، t=+۰/۶۰۱) و عضله SOL گروه کنترل (P<۰/۰۰۳، t=+۰/۷۷۳) مشاهده شد. یکی از مسیرهای اصلی در تولید SIP عضلانی افزایش بیان و فعالیت آنزیم SK1 بوده که عوامل مختلفی بر بیان و فعالیت آن اثرگذارند و می‌توان به افزایش IGF، MGF و سایتوکین‌ها اشاره کرد. با توجه به این که به دنبال تمرین مقاومتی این عوامل تنظیم مثبت شده و باعث افزایش بیان و فعالیت این آنزیم کلیدی در تولید SIP می‌گردد؛ به نظر می‌رسد که این همبستگی معنی‌دار بین برخی گروه‌ها منطقی باشد. اما از طرف دیگر، در برخی گروه‌ها همبستگی معنی‌دار نبود. در توجیه این مورد می‌توان گفت برخی از عوامل رشدی علاوه بر افزایش در بیان و فعالیت آنزیم SK1، در مهار آنزیم تجزیه‌کننده SIP نیز موثر بوده

- Zeidan YH, Hannun YA. Translational aspects of sphingolipid metabolism. *Trends Mol Med.* 2007 Aug;13(8):327-36.
- Dyatlovitskaya EV. The role of lysosphingolipids in the regulation of biological processes. *Biochemistry (Mosc).* 2007 May; 72(5):479-84.
- Igarashi J, Erwin PA, Dantas AP, 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 U S A.* 2003 Sep;100(19):10664-9.
- Yatomi Y. Plasmalosphingosine 1-phosphate metabolism and

- analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2008 Mar; 1780(3): 606-11.
8. Kim RH, Takabe K, Milstien S, Spiegel S. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2009 Jul; 1791(7): 692-6.
9. Nagata Y, Kobayashi H, Umeda M, Ohta N, Kawashima S, Zammit PS, et al. Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells. *J Histochem Cytochem*. 2006 Apr;54(4):375-84.
10. 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.
11. Bencini C, Squecco R, Piperio C, Formigli L, Meacci E, Nosi D, et al. Effects of sphingosine 1-phosphate on excitation-contraction coupling in mammalian skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil*. 2003;24(8):539-54.
12. 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.
13. Zanin M, Germinario E, Dalla Libera L, Sandonà D, Sabbadini RA, Betto R, et al. Trophic action of sphingosine 1-phosphate in denervated rat soleus muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008 Jan; 294(1):C36-46.
14. Watterson K, Sankala H, Milstien S, Spiegel S. Pleiotropic actions of sphingosine-1-phosphate. *Prog Lipid Res*. 2003;42(4):344-57.
15. Diatlovitskaia EV, Kandyba AG. [Bioeffector sphingolipids as stimulators of cell growth and survival]. *Bioorg Khim*. 2004 May-Jun; 30(3):227-33. [Article in Russian]
16. Sanchez T, Hla T. Structural and functional characteristics of S1P receptors. *J Cell Biochem*. 2004 Aug;92(5):913-22.
17. Gräler MH. Targeting sphingosine 1-phosphate (S1P) levels and S1P receptor functions for therapeutic immune interventions. *Cell Physiol Biochem*. 2010;26(1):79-86.
18. Pébay 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. Formigli L, Sassoli C, Tani A, Squecco R, Francini F, Meacci E, et al. Skeletal muscle repair/regeneration after eccentric contraction-induced damage: effects of S1P. *Ital J Anat Embryol*. 2010; 115(1/2):190.
22. Folland JP, Williams AG. The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. *Sports Med*. 2007;37(2):145-68.
23. Danieli-Betto D, Peron S, Germinario E, Zanin M, Sorci G, Franzoso S, et al. 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, Megighian A, Midrio M, Ravara B, et al. Sphingosine 1-phosphate protects mouse extensor digitorum longus skeletal muscle during fatigue. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005 Jun;288(6):C1367-73.
25. Błachnio-Zabielska A, Zabielski P, Baranowski M, Gorski J. Aerobic Training in Rats Increases Skeletal Muscle Sphingomyelinase and Serine Palmitoyltransferase Activity, While Decreasing Ceramidase Activity. *Lipids*. 2011 Mar;46(3):229-38.
26. Błachnio-Zabielska A, Baranowski M, Zabielski P, Górski 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.
27. 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.
28. 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.
29. Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2008 Feb;9(2):139-50.
30. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Med*. 2005;35(4):339-61.
31. Marx JO, Ratamess NA, Nindl BC, Gotshalk LA, Volek JS, Dohi K, Bush JA, et al. Low-volume circuit versus high-volume periodized resistance training in women. *Med Sci Sports Exerc*. 2001 Apr;33(4):635-43.
32. Borst SE, De Hoyos DV, Garzarella L, Vincent K, Pollock BH, Lowenthal DT, et al. Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins. *Med Sci Sports Exerc*. 2001 Apr;33(4):648-53.
33. Dobrzyń A, Górski 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.
34. Yamanaka M, Shegogue D, Pei H, Bu S, Bielawska A, Bielawski J, et al. Sphingosine kinase 1 (SPHK1) is induced by transforming growth factor-beta and mediates TIMP-1 up-regulation. *J Biol Chem*. 2004 Dec;279(52):53994-4001.
35. Putman CT, Xu X, Gillies E, MacLean IM, Bell GJ. Effects of strength, endurance and combined training on myosin heavy chain content and fibre-type distribution in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2004 Aug;92(4-5):376-84.
36. Kono Y, Nishiuma T, Nishimura Y, Kotani Y, Okada T, Nakamura S, et al. Sphingosine kinase 1 regulates differentiation of human and mouse lung fibroblasts mediated by TGF-beta1. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007 Oct;37(4):395-404.
37. Mitra P, Oskeritzian CA, Payne SG, Beaven MA, Milstien S, Spiegel S. Role of ABCC1 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc Natl Acad Sci*. 2006; 103(44): 16394-9.

## Original Paper

# Effect of 8 weeks resistance training on sphingosine-1-phosphate level and gene expression of SK1 enzyme, isoforms of MHCs in skeletal muscles of male Wistar Rats

Banitalebi E (PhD)<sup>1</sup>, Ghatre Samani K (PhD)<sup>2</sup>, Mardani G (MSc)<sup>3</sup>  
Soheili A (Pharm.D)<sup>4</sup>, Ansari Samani R (MSc)<sup>5</sup>, Teimori H (PhD)\*<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Sport Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. <sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Biochemistry, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. <sup>3</sup>PhD Candidate in Environmental Health, Herbal Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. <sup>4</sup>Pharmacologist. <sup>5</sup>MSc in Histology, Herbal Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. <sup>6</sup>Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

## Abstract

**Background and Objective:** Sphingosine-1-phosphate (S1P) is involved in regulation of proliferation, differentiation, hypertrophy and anti-apoptosis and activation of satellite cells. This study was done to evaluate the effect of 8 weeks resistance training on sphingosine-1-phosphate level and gene expression of SK1 enzyme, isoforms of MHCs in skeletal muscles of male Wistar rats.

**Materials and Methods:** This experimental study was done on Twenty four 8-week-old 190-250 gr male Wistar rats. The rats were allocated randomly into control (N=12) and training (N=12) groups. 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 S1P present in the chloroform layer was determined by means of high performance liquid chromatography (HPLC). Determination of relative mRNA expression was performed by Real-time PCR. Data were analyzed using SPSS-17, Kolmogorov-Smirnov and independent t-test.

**Results:** Resistance exercise training increased the total content of S1P in FHL (fast-twitch) and soleus (slow-twitch) muscles in comparison with control group ( $P<0.05$ ). Resistance exercise training changed the gene expression of FHL SK1, SOL SK1, FHL MHC I, Sol MHC I, FHL MHC IIa, Sol MHC IIa, FHL MHC IIb, Sol MHC IIb, FHL MHC IIx, Sol MHC IIx in comparison with control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** This study showed that S1P level and gene expression of SK1, MHCs increased at skeletal muscles after training.

**Keywords:** Resistance training, Sphingosine-1-phosphate (S1P), Sphingosine-1-phosphate Kinase 1 (SK1), Myosine heavy chain (MHC), Fast-twitch and slow twitch muscles

\* **Corresponding Author:** Teimori H (PhD), E-mail: [hteimori@skums.ac.ir](mailto:hteimori@skums.ac.ir)

Received 31 Oct 2011

Revised 14 Apr 2012

Accepted 27 May 2012

This paper should be cited as: Banitalebi E, Ghatre Samani K, Mardani G, Soheili A, Ansari Samani R, Teimori H. [Effect of 8 weeks resistance training on sphingosine-1-phosphate level and gene expression of SK1 enzyme, isoforms of MHCs in skeletal muscles of male Wistar Rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013; 14(4):44-51. [Article in Persian]