

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۱
شماره ۱۲ - ص ص: ۱۳۴ - ۱۱۱
تاریخ دریافت: ۹۰ / ۰۸ / ۰۲
تاریخ تصویب: ۹۰ / ۱۲ / ۲۰

۱. ابراهیم بنی طالبی _ ۲. رضا قراخانلو^۱ _ ۳. کیهان قطره سامانی _ ۴. عبدالحسین پرنو _ ۵. مهسا محمدآملی
۶. حسین تیموری

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش دانشگاه تربیت مدرس، ۲. دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، ۳. استادیار
دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۴. استادیار دانشگاه رازی کرمانشاه، ۵. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران،

چکیده

اسفنگوزین-۱ فسفات (SIP) یک اسفنگولیپید بیواکتیو مشتق از پلاکت‌ها می باشد که در تنظیم، تکثیر، تمایز، هایپر تروفی، مقابله با مرگ برنامه ریزی شده سلولی و فعال سازی سلول های ماهواره ای نقش دارد. هدف این تحقیق بررسی اسفنگوزین-۱- فسفات (SIP) به عنوان یک فاکتور رشدی در پاسخ به تمرین مقاومتی در موش صحرایی نر نژاد ویستار است. در این تحقیق از ۱۲ موش صحرایی ۸ هفته ای نر نژاد ویستار (۲۵۰-۱۹۰ گرم) استفاده شد. بعد از یک هفته آشناسازی، حیوانات به صورت تصادفی به گروه های کنترل (N=۱۲) و تجربی (N=۱۲) تقسیم شدند. 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 به عنوان مقاومت استفاده شد. مقدار SIP در لایه کلروفرم به وسیله دستگاه HPLC اندازه گیری شد. به منظور بررسی بیان ژن از تکنیک Real-Time PCR استفاده شد. بیان ژن های *SIP1*، *SIP2*، *SIP3*، *MyoD*، *Myogenin* در عضله تندانقباض تاکننده بلند انگشت پا (FHL) و عضله کندانقباض نعلی (SOL) بررسی شد. نتایج نشان داد تمرین مقاومتی محتوای SIP پلاسما ($p=0/001$) را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. به علاوه، تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن گیرنده *SIP1* در عضله FHL ($p=0/001$) و *SOL* ($p=0/000$)، *SIP2* در عضله FHL ($p=0/000$) و *SOL* ($p=0/003$)، *SIP3* در عضله FHL ($p=0/021$) و *SOL* ($p=0/000$)، *MyoD* در عضله FHL ($p=0/000$) و *SOL* ($p=0/001$)، میوژنین در عضله FHL ($p=0/000$) و *SOL* ($p=0/000$) گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل شد. همبستگی مثبت معناداری بین مقدار SIP پلاسمایی گروه تمرین کرده و بیان ژن *MyoD* مشاهده شد. همبستگی معناداری بین بیان ژن گیرنده *SIP1* و بیان ژن *MyoD* در هیچ یک از گروه ها و عضلات مشاهده نشد ($p>0/05$)، اما همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده *SIP1* و بیان ژن میوژنین مشاهده شد. همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده *SIP2* و بیان ژن *MyoD* وجود دارد. همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده *SIP3* و بیان ژن *MyoD* مشاهده شد. تمرین مقاومتی می تواند مقدار SIP در سطح پلاسما و گیرنده های سطح سلولی آن را افزایش دهد. با توجه به نقش ساختاری و عملکردی این اسفنگولیپید و گیرنده هایش و افزایش آنها به دنبال یک دوره تمرین مقاومتی، شاید یکی از مسیرهای سیگنال دهی در سازگاری عضلانی محسوب شود.

واژه های کلیدی

تمرین مقاومتی، SIP، گیرنده SIP، MyoD، میوژنین.

مقدمه

اسفنگولیپیدها شناخته شده ترین چربی سلول های یوکاریوتیک^۱ هستند (۵۲،۲۶،۲۵) که علاوه بر نقش ساختاری در تنظیم، تکثیر، تمایز، هایپرتروفی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی^۲ نقش دارند (۵۲،۱۳). اسفنگولیپیدها شامل اسفنگوزین^۳، اسفنگوزین-۱-فسفات(SIP)^۴، اسفنگانین^۵، اسفنگوزین-۱-فسفوکولین(SIPch)^۶، سرامید^۷ و سرامید-۱-فسفات^۸ هستند (۱۳). SIP یک اسفنگولیپید مشتق شده از پلاکت هاست که به صورت درون سلولی از طریق فسفوریلاسیون اسفنگوزین (Sph) به وسیله آنزیم اسفنگوزین کیناز^۹ (SK) تولید می شود (۴۴،۲۰،۱۹). هر چند تحقیقات جدید نشان می دهد که گلبول های قرمز خون (RBCs) به طور دائم SIP را تخلیه می کنند و می توانند مسئول سطوح پایه SIP در پلاسما باشند (۵۰). غلظت های زیادی از SIP در پلاسما و سرم خون یافت می شود (۴۹). تحقیقات نشان می دهد مقدار SIP بعد از تحریک پلاکت ها در جریان خون افزایش می یابد (۱۲). دو آنزیم اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز (SK)، آنزیمی که اسفنگوزین را به محصول SIP فسفوریله می کند، مشخص شده (SK1, SK2) است. این دو آنزیم نقش های متفاوتی دارند، به طوری که SK1 موجب رشد سلول و بقا و SK2 سبب توقف رشد سلول و افزایش مرگ برنامه ریزی شده سلول می شود (۲۲). نشان داده شده است که پاسخ های میتوژنیک به فاکتورهای رشدی متعدد مثل فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت ها^{۱۰} (PDGF)، فاکتور رشد اپی درمال^{۱۱} (EGF)، فاکتور رشد شبه انسولینی^{۱۲} (IGF-I) و انسولین و نیز مهار مرگ برنامه ریزی شده سلولی ناشی از داروهای آنتی بلاستیک^{۱۳}

- 1 - Eukaryotic cells
- 2 - Apoptosis
- 3 - Sphingosine
- 4 - Sphingosine-1-phosphate (S1P)
- 5 - Sphinganine
- 6 - Sphingosine-1-phosphocholine (S1PCh)
- 7 - Ceramide
- 8 - Ceramid-1-phosphate
- 9 - Sphingosine kinase (SK)
- 10 - Platelet-derived growth factor (PDGF)
- 11 - Epidermal Growth Factor(EGF)
- 12 - Insulin Like Growth factor(IGF-I)
- 13 - Antiblastic

مربوط به فعال سازی آنزیم SK1 و متعاقباً افزایش تولید درون سلولی S1P است (۳،۲۲،۳۶). بیش بیانی آنزیم SK1 علاوه بر افزایش رشد سلولی موجب محافظت سلول از مرگ برنامه ریزی شده شد (۲۵).

S1P می تواند به عنوان یک واسطه خارج سلولی در کنترل تحرک پذیری سلول از طریق متصل شدن به گیرنده های موجود در غشا عمل کند. S1P به خانواده ای از گیرنده های جفت شده به G-پروتئین ها^۱ (۴۸) که S1P1(EDG-1)، S1P2(EDG-5)، S1P3(EDG-3)، S1P4(EDG-6) و S1P5(EDG-8) نام دارند، متصل شده و موجب فعال شدن آنها می شود (۴۱). گیرنده های S1P به G-پروتئین های مختلفی که شامل $G_{\alpha, i}$ an 33333 هستند جفت می شوند (۱۶). همان طور که اشاره شد، با توجه به اینکه S1P هم به صورت پیامبر اولیه و هم پیامبر ثانویه عمل می کند و از طرف دیگر دارای ۵ گیرنده سطح سلولی با مسیرهای متفاوت است، بسیاری از آثار سیگنالی S1P از طریق فعال سازی فسفولیپاز C^۲ (PLC)، تحرک Ca^{2+} ، فعال سازی ERK1/2، آدنیلات سیکلاز (AC)^۴، MAPK، PI3Kinase، Rac، Rho، Akt، JNK، فسفولیپاز D(PLD)^۵ و دیگر واسطه های پایین رونده تعدیل می شود و موجب افزایش جریان کلسیم درون سلولی و مهار تجمع cAMP می شود (۱۶، ۳۳، ۴۲). این مسیرهای سیگنالی به فعال سازی فاکتورهای نسخه برداری، پروتئین های سیتواسکلتون، بیان مولکول های چسبان^۶، فعالیت کاسپازها^۷ مرتبط هستند (۳۵). تزریق S1P و اسفنگوزین به صورت محیط داخل بدن به عضلات قطع عصب شده موجب افزایش بیان در سطح دو فاکتور رونویسی میوژنیک MyoD و میوژنین و تبدیل تار تندانقباض به کندانقباض شد (۵۱). ناگاتا^۸ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که اسفنگومیلینی که جهت تولید S1P متابولیده شده موجب انتقال سلول های اقماری از حالت خاموشی به حالت تکثیر شده می شود (۳۱، ۳۲). نشان داده شد که سطح SK1 و S1P درون زاد در تارهای آسیب دیده بالاتر بود و با سلول های اقماری در ارتباط باشند، که نشان می دهد محور SK1/S1P در حمایت و

1 - Family of G protein-coupled receptors

2 - Phospholipase C (PLC)

3 - Ca²⁺ mobilisation

4 - Adenylate cyclase (AC)

5 - Phospholipase D(PLD)

6 - Adhesion molecule

7 - Caspases

8 - Nagata

ترمیم بافت آسیب دیده در گیر است (۱۴). دوناتی^۱ و همکاران (۲۰۰۷) نیز به نقش SIP در تکثیر و بقای مزونژیوبلاست‌ها^۲ اشاره داشتند (۱۱). اضافه کردن برونزاد SIP باعث تحریک رشد میوفیبرهای در حال بازسازی شد. در حالی که کاهش محتوای سیستمی این لیپید از طریق خنثی کردن تولید آن، نتایج معکوسی داشت. این تحقیق اشاره داشت که این لیپید بیواکتیو به عنوان یک فاکتور رشد جدید در رشد سلول است (۸). SIP می تواند آثار سودمندی بر مقاومت در برابر خستگی داشته باشد و سبب تحریک انقباض عضلانی (۷) و تنظیم رهایش کلسیم از طریق اثر بر کانال‌های رهایش کلسیم و گیرنده‌های ریانودین^۳ (۳۹) شود. SIP می تواند یک عامل قوی در برنامه تمایز در سلول از طریق یک مسیر سیگنالی وابسته به MAPK باشد (۱۰). یک جلسه ورزش طولانی مدت با شدت متوسط به افزایش محتوای اسفنگوزین در هر نوع تند و کند عضله اسکلتی منجر شد (۹). دنیلی-بتو^۴ و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که ورزش حاد طولانی مدت محتوای SIP در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دوقلو را افزایش داد (۷).

بلاچنیو-زابیلسکا^۵ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که در عضله نعلی رت 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 (۴). از آنجا که در تحقیقات بالا از SIP به عنوان یک عامل میوژنیک با عملکرد گسترده و متنوع نام برده شد و از طرف دیگر هیچ تحقیقی به بررسی آثار میوژنیک این لیپید بیواکتیو نپرداخته، هدف این تحقیق بررسی همبستگی بین SIP پلاسمایی و گیرنده‌های آن (SIP_{1,2,3}) با فاکتورهای میوژنیک MyoD و میوژنین است به عبارت دیگر آیا می توان SIP را بعنوان یک عامل عضله‌ساز به دنبال تمرین مقاومتی در نظر گرفت.

1 - Donati
2 - Mesoangioblast
3 - Ryanodine receptor (RyR)
4 - Danieli-Betto
5 - cccchnoo-Zabielska

روش تحقیق

طرح، جامعه و نمونه آماری

تحقیق از نوع تجربی با گروه تجربی و کنترل است. در این تحقیق ۲۴ سر موش صحرایی (رت) نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با وزن ابتدایی ۱۹۰-۲۵۰ گرم انتخاب شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد و در محیط کنترل شده با درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه خواب و بیداری ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. غذا به صورت پلیت و آب در دسترس آنها بود. بعد از یک ماه آشناسازی، به صورت تصادفی ساده به یک گروه کنترل ($N=12$) و یک گروه تمرینی ($N=12$) تقسیم شدند. حیوانات به صورت جفتی در طول دوره تمرین در قفس قرار داشتند. به منظور کنترل سلامت حیوانات وزن آنها هر هفته اندازه‌گیری می‌شد. این تحقیق را کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس تایید کرد. حیوانات مورد استفاده در این تحقیق از مرکز تحقیقاتی پاستور خریداری شدند.

پروتکل تمرین

از نردبان مقاومتی با یک متر ارتفاع و فاصله میله‌های ۲ سانتی‌متری با شیب ۸۵ درجه استفاده و وزنه‌هایی که با چسب نواری به دم موش‌های صحرایی نوار وصل می‌شد استفاده شد. بعد از یک هفته آشناسازی با دستگاه تمرین مقاومتی، تمرین در هفته اول با وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن آنها شروع شد و این وزنه‌ها به دم آنها (درست ۲-۱ سانتی‌متر پایین‌تر 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 پله‌ها را کامل و در زمان حدود ۸ ثانیه بالا رود. رت‌ها در پایین پله‌ها قرار می‌گرفتند و جهت بالا رفتن برانگیخته می‌شدند. فقط ضربات بسیار آهسته به دم آنها یا میله‌ها انگیزش برای بالارفتن بود. در این تحقیق از هیچ گونه پاداش و تحریک غیرطبیعی مثل تحریک الکتریکی، آب سرد و فشار هوا استفاده نشد. یادگیری در مرحله آشناسازی و نیز تحریک با استفاده از ایجاد ضربه‌های کم شدت به میله‌های زیر پایه حیوان انگیزه بالا رفتن بود. تعداد تکرارها در هر جلسه ۲۰ تکرار بود. وقتی یک حیوان به بالای دستگاه می‌رسید و یک تکرار را انجام می‌داد، بعد از ۴۵ ثانیه برای تکرار بعدی آماده می‌شد. در شروع هر برنامه ۲ ست ۵ تکراری گرم کردن بدون وزنه انجام می‌دادند. پروتکل تمرین در هر روز در ۴ ست ۵ تکراری انجام می‌گرفت که 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 می‌داد. این برنامه تمرین ۸ هفته ادامه داشت.

جراحی

تمام مراحل جراحی در یک جلسه انجام گرفت. موش‌ها ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین (برای از بین رفتن آثار حاد تمرین) از طریق تزریق کتامین (۷۵ mg/kg) و گزلاپسین (۲۰ mg/kg) بیهوش و سپس کشته شدند. عضله تاکننده بلند انگشت شست پا^۱ (FHL) به‌عنوان عضله تندانقباض و عضله نعلی^۲ به‌عنوان کند انقباض خارج شدند. نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۸۰۰۰g سانتریفیوژ شدند تا سلول‌های خونی خارج شوند. نمونه‌های عضلات و پلاسما به سرعت در نیتروژن مایع فریز شده و سپس به منظور آنالیزهای بیوشیمیایی بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری S1P

S1P و C17-S1P (یک آنالوگ ۱۷ کربنی از S1P، به‌عنوان استاندارد داخلی) از شرکت Avanti Polar Lipids (Alabaster, Al) خریداری شد. فتال دی آلدهید^۳ (OPA) (که برای تشخیص HPLC فلورومتری مناسب است) و آلکالین فسفاتاز^۴ از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شد. دیگر محلول‌ها مثل اتانول، بتا-مرکاپتواتانل^۵ از شرکت مرک خریداری شدند (Hohmburg, Germany). تمام استانداردهای لیپیدی به صورت محلول تهیه و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محتوای S1P موجود در فاز کلروفرم به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا^۶ (HPLC) با یک سیستم دتکتور فلوروسنس^۷ اندازه‌گیری شد. براساس تحقیق مین و همکاران (۲۰۰۲) C17-S1P به‌عنوان استاندارد داخلی قبل از هموزن

1 - Flexor Hallucis Longus (FHL)

2 - Soleus

3 - O-phthalaldehyde

4 - Alkaline Phosphatase

5 - β -Mercaptoethanol

6 - High pressure liquid chromatography (HPLC)

7 - Fluorescent detection

کردن نمونه‌ها اضافه شد (۳۰) 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 مشتق سازی شدند. دستگاه شامل یک دتکتور فلوروسنس با یک ستون C₁₈ بود (Aligent 1200 NanoLC series). محلول مورد استفاده استونیتریل^۱ (مرک) و آب HPLC grade به (۹:۱۷\۷) بود. مقدار جریان^۲ ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

تعیین بیان mRNA

۵۰ میلی‌گرم عضله با روش هاون کوبی به منظور استخراج کل RNA در ۸۰۰ ماکرولیترایزول شرکت Invitrogen هموژن شد. نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ به جذب نوری در طول موج ۲۸۰ (A260/A280) و نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ به جذب نوری در طول موج ۲۳۰ (A260/A230) نشان‌دهنده خلوص و آلودگی فنلی است. نمونه‌هایی که نسبت 260/280 آنها بین ۱/۸ تا ۲ بود، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای آزمایش‌ها بعدی نگهداری شد. cDNA با استفاده از کیت Revert AID First (Fermantas, Germany) Strand cDNA Synthesis ساخته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین بیان mRNA نسبی از طریق Real-time RT-PCR با استفاده از دستگاه - Real Time (ABI Applied Biosystems 7300, Germany) انجام گرفت. توالی پرایمر برای ژن های 18s، Myogenin، MyoD، S1P3، S1P2، S1P1

18S-F:GTTGGTTTTTCGGAAGTGGC,R:GTCGGCATCGTTTATGGTCG (204bp), S1P1(NM-017301)-F:TCATCGTCCGGCATTACAATA, R:GAGTGAGCTTGTAGGTGGTG(273bp),S1P2(NM-017192)- F:CGGAGGCACTGACTAATCAGATT,R:TCCCA GCACTCAGGACACAGTTA(278pb),S1P3(XM-225216)-F:ACGCGCGCATCTACTTCT, R:TGGATCTCTCGGAGTTGTGGTT(69bp),MyoD(NM-176079)- F:ACTACAGCGGCGACTCAGAC, R:GTGGAGATGCGCTCCACTAT(208bp), Myogenin (NM-017115)- F:TGGTCCCAACCCAGGAGATCATT,R:ACATATCCTCCACCGTGATGCTGT (233bp).

1 - Acetonitrile

2 - Flow Rate

کل حجم واکنش برابر ۲۰ ماکرولیتتر بود: ۱۰ ماکرولیتتر Master Mix Syber Green (Primer design, UK), ۱/۴ ماکرولیتتر مجموع دو پرایمر (Forward & Reverse), ۵ ماکرولیتتر آب استریل RNAase Free و ۳/۶ ماکرولیتتر از نمونه cDNA بود. مراحل PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون^۱ در دمای ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، یک دمای جفت شدن^۲ در ۶۰ به مدت ۱۵ ثانیه دمای ۷۲ به مدت ۳۰ ثانیه که برای ۴۰ سیکل تکرار می شد، در پایان نیز یک دمای طولیل شدن^۳ ۶۰ ثانیه‌ای در دمای ۷۲ بود.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و برای آنالیز آماری داده‌های به‌دست‌آمده از آزمون پارامتریک t-مستقل استفاده شد. برای بررسی همبستگی از آزمون پیرسون استفاده شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

در شروع مطالعه ($p=0/840$) و پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی ($p=0/467$) تغییر معناداری در وزن حیوانات دو گروه مشاهده نشد. تمرین مقاومتی محتوای SIP، پلاسما ($p=0/001$) را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (جدول ۱).

جدول ۱- مقدار وزن و SIP در پلاسماي موش‌های صحرايي بعد از ۸ هفته تمرین مقاومتی در گروه‌های تمرین و کنترل

P	مقدار t	گروه کنترل	گروه تمرین	
۰/۸۴۰	۰/۲۰۴	۲۲۴/۴۱±۱۵/۷۷	۲۲۳/۲۵±۱۱/۹۵	وزن قبل از تمرین (گرم)
۰/۴۶۷	۰/۷۳۹	۲۸۰/۵۸±۱۶/۲۰	۲۸۵/۸۳±۱۸/۵۰	وزن بعد از تمرین (گرم)
**۰/۰۰۱	۴/۰۵۴	۴۳۰/۴۳±۱۹۵/۳۹	۱۰۱۶/۳۸±۴۶۱/۰۱	محتوای SIP پلاسما (pmol/ml)

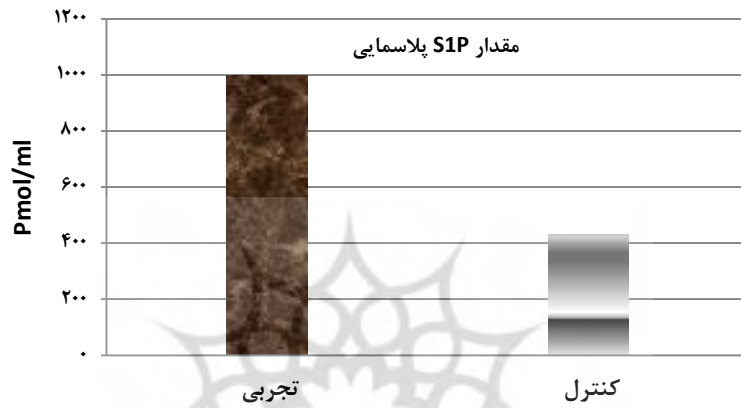
** معناداری در سطح $p<0/01$.

1C Denaturation

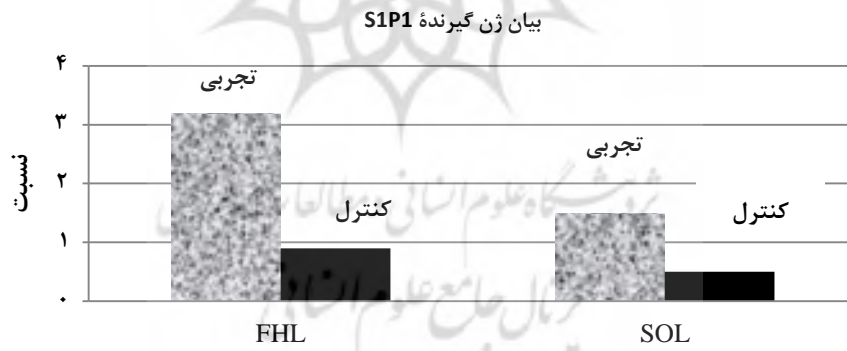
2 - Annealing

3 - Extension

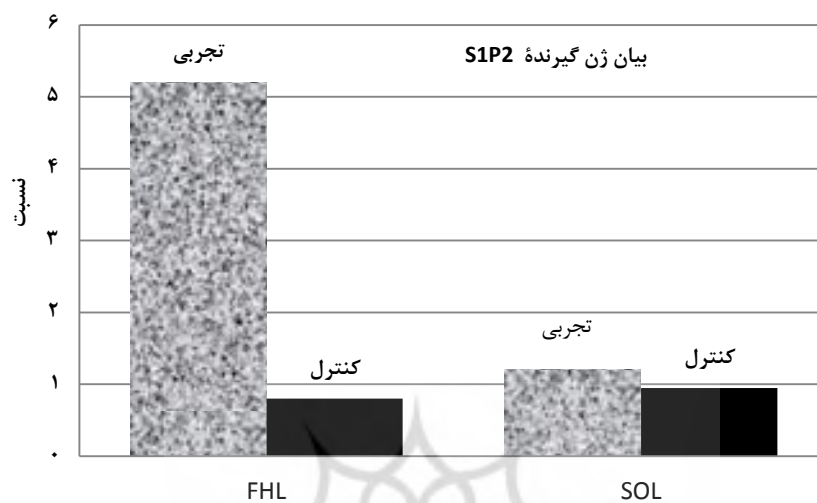
با توجه به جدول ۱، تغییر معناداری در مقدار S1P پلاسمایی به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی دیده شد ($p=0/001$).



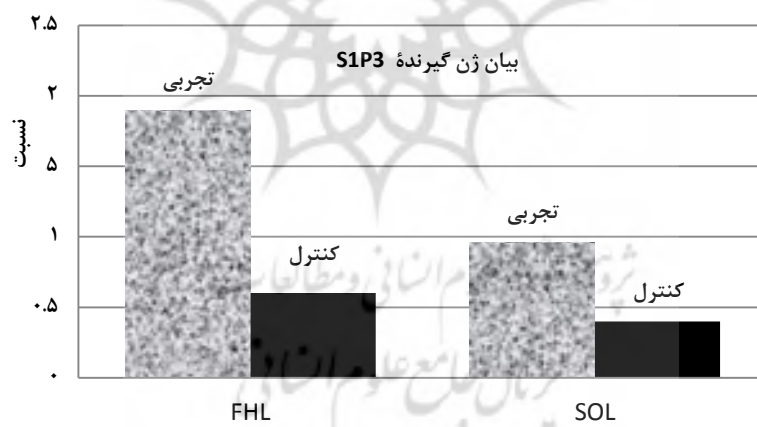
شکل ۱ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار S1P پلاسمایی گروه های تمرین و کنترل



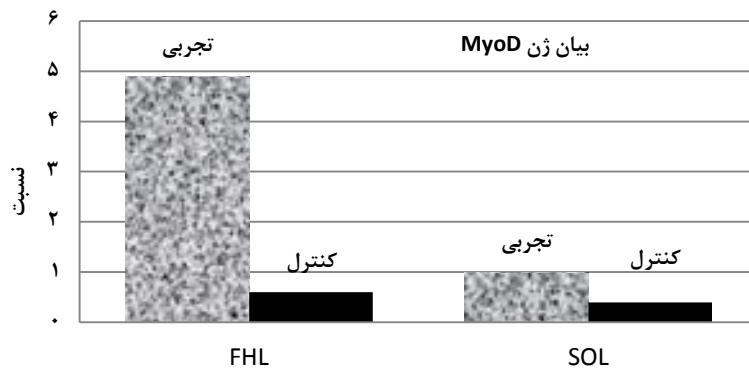
شکل ۲ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار بیان ژن گیرنده S1P1 عضله FHL و SOL گروه های تمرین و کنترل



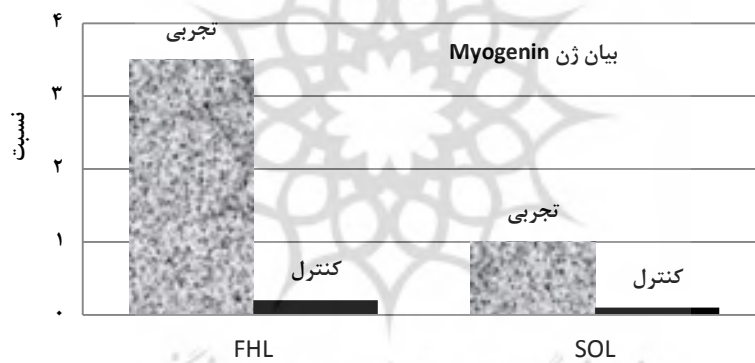
شکل ۳ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار بیان ژن گیرنده S1P2 عضله FHL و SOL گروه های تمرین و کنترل



شکل ۴ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار بیان ژن گیرنده S1P3 عضله FHL و SOL گروه های تمرین و کنترل



شکل ۵ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار بیان ژن MyoD عضله FHL و SOL گروه های تمرین و کنترل



شکل ۶ - تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر مقدار بیان ژن Myogenin عضله FHL و SOL گروه های تمرین و کنترل

با توجه به شکل ۲ تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن گیرنده S1P1 در عضله FHL ($p=0/001$) (نسبت افزایش بیان ۳/۱۶ در برابر ۰/۹۰) و SOL ($p=0/000$) (نسبت افزایش بیان ۱/۴۹ در برابر ۰/۴۹) گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل شد. با توجه به شکل ۳ تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن گیرنده S1P2 در عضله FHL ($p=0/000$) (نسبت افزایش بیان ۵/۳۱ در برابر ۰/۸۱) و SOL ($p=0/603$) (نسبت افزایش بیان ۱/۲۱ در برابر ۰/۹۰) گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل شد. تمرین مقاومتی به افزایش بیان ژن گیرنده S1P3 در عضله FHL ($p=0/021$) (نسبت افزایش بیان ۱/۹۱ در برابر ۰/۶۵) و SOL ($p=0/009$) (نسبت افزایش بیان ۰/۹۶ در برابر ۰/۴۱) گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل منجر شد (شکل ۴). تمرین مقاومتی به افزایش معناداری در بیان ژن MyoD در عضله تنداقباض FHL ($p=0/000$) (نسبت افزایش بیان ۴/۸۹ در برابر ۰/۶۰) و SOL ($p=0/001$) (نسبت افزایش بیان ۱/۰۰ در برابر ۰/۵۱) گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل انجامید. به علاوه، تمرین مقاومتی موجب افزایش معناداری در بیان ژن میوژنین در عضله تنداقباض FHL ($p=0/000$) (نسبت افزایش بیان ۳/۴۳ در برابر ۰/۱۳) و SOL ($p=0/000$) (نسبت افزایش بیان ۱/۰۴ در برابر ۰/۰۸) گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل شد. به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی همبستگی مثبت معناداری بین مقدار S1P پلاسمایی گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در عضله تمرین کرده FHL ($p=0/049$, $r=+0/579$) و در عضله تمرین کرده SOL ($p=0/023$, $r=+0/645$) مشاهده شد. در این تحقیق همبستگی معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P1 و بیان ژن MyoD در هیچ یک از گروه‌ها و عضلات مشاهده نشد ($p>0/05$). همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P1 و بیان ژن میوژنین در عضله FHL گروه تمرین کرده ($p=0/001$, $r=+0/826$) و کنترل ($p=0/000$, $r=+0/851$) و نیز در عضله SOL گروه کنترل ($p=0/204$, $r=+0/395$) مشاهده شد. نشان داده شد که همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 وجود دارد ($p=0/003$, $r=+0/774$). همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 و بیان ژن میوژنین در عضله SOL گروه تمرین کرده مشاهده شد ($p=0/001$, $r=+0/812$). اما همبستگی مثبت و غیرمعناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 در عضله FHL گروه کنترل و بیان ژن MyoD در همان عضله و گروه وجود دارد ($p=0/150$, $r=+0/442$). به علاوه، همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 در عضله SOL گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در همان عضله و گروه وجود دارد ($p=0/243$, $r=+0/365$). به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن MyoD در عضله FHL گروه کنترل ($p=0/014$, $r=+0/686$) و SOL تمرین کرده مشاهده شد ($p=0/352$, $r=+0/295$). در عین حال همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن میوژنین در عضله SOL گروه کنترل مشاهده شد ($p=0/018$, $r=+0/668$).

بحث و نتیجه گیری

این پژوهش با هدف بررسی همبستگی بین محتوای SIP، پلازما و بیان ژن گیرنده‌های SIP1,2,3 با بیان فاکتورهای میوژنیک MyoD و میوژنین پس از یک دوره تمرین مقاومتی انجام گرفت. نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی به طور چشمگیری مقدار SIP پلاسمایی گروه تمرین را نسبت به گروه کنترل افزایش داد. پلاکت‌ها مقدار زیادی SIP ذخیره می‌کنند و در حین تحریک و افزایش فعالیت آن را رها می‌کنند (۱۲)، تمرین ورزشی موجب تغییر در تعداد و عملکرد پلاکت‌ها خواهد شد (۱۸). سازوکارهای مختلفی چون سطوح افزایش یافته‌ی اپی نفرین و نور اپی نفرین در پلازما و تغییر در پاسخ گیرنده‌های آدرنرژیک پلاکت‌ها می‌توانند دلیلی برای افزایش فعالیت پلاکت‌ها بعد از تمرین شدید بدنی باشند (۶). احمدی زاد و همکاران (۲۰۰۶) افزایش معناداری را در تعداد و فعالیت پلاکت‌ها در پاسخ به تمرین مقاومتی نشان دادند (۱). دیگران نیز افزایش معناداری را در تعداد پلاکت‌ها بعد از یک دوره تمرین مقاومتی مشاهده کردند (۴۵). قنبری نیاکی و محمدی (۲۰۱۰) افزایش معناداری را در تعداد پلاکت‌ها بعد از یک دوره تمرین هوازی در کیک بوکسورهای مرد مشاهده کردند (۱۵). از طرف دیگر، بعد از ایجاد زخم، عروق آسیب‌دیده پلاکت‌ها را فعال می‌کنند. پلاکت‌های فعال شده نقش مهمی در فرایند ترمیم آسیب به وسیله آزاد کردن واسطه‌های بیواکتیو جهت تکثیر، انتقال سلول، انعقاد و آنژیوژنر ایفا می‌کنند. به احتمال زیاد SIP نیز چنین واسطه آزاد شده از پلاکت‌های فعال شده است که می‌تواند تاثیرات میتوزنیک/مهاجرت^۱ روی سلول‌های اطراف مثل سلول‌های ایندوتلیال، سلول‌های عضلات صاف، فیبروبلاست‌ها و کراتینوسیت‌ها^۲ و سلول‌های اقماری^۳ داشته باشد (۲۱). به نظر می‌رسد که به دنبال تمریناتی شبیه به تحقیق حاضر، افزایش فعالیت یا تعداد پلاکت‌ها به افزایش سطوح SIP مشتق شده از آنها منجر می‌شود، اگر چه نقش دیگر منابع تولید SIP را نمی‌توان نادیده گرفت. بلاچنیو^۴ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تمرین حاد طولانی مدت محتوای کل SIP در عضله نعلی و بخش قرمز عضله دوقلو را افزایش داد (۴). در تحقیق دیگری فورمیگلی^۵ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که فعالیت آنزیم SK1 و سطح SIP درونزاد در بافت

1 - Migration

2 - Keratinocytes

3 - Satellite Cells

4 - cccchnoo-Zabielska

5 - Formigli

های آسیب دیده به طور معناداری افزایش داشت و با سلول های اقماری همبستگی داشت، که نشان دهنده درگیری SK1/S1P در ترمیم و بهبود آسیب است. این نتایج در حمایت از نقش S1P به عنوان رویکرد جدید درمانی برای عضلات اسکلتی آسیب دیده و بیمار است (۱۴). دنیلی-بتو^۱ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که S1P تولید شده به صورت درون سلولی می تواند به جایگاه های آسیب دیده آزاد شود و فرایند ترمیم بافت آسیب دیده را تحریک کند. فعال شدن SK1 و تولید S1P می تواند عوامل متعددی چون HGF را که یک فاکتور میوژنیک است را فعال کند (۸). بسیاری از فاکتورهای رشدی مثل PDGF, EGF, IGF و انسولین، به علاوه سایتوکین های TNF- α و IL-6 موجب فعال شدن آنزیم SK1 و افزایش موقت S1P می شود (۲-۳). برابر (۱۷،۳،۱۱). ترنری و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که بیان پروتئین PDGF-BB در عضله اسکلتی به وسیله تمرین مقاومتی تحریک می شود (۴۷). افراد تمرین کرده مقاومتی دارای غلظت بیشتر IGF-I نسبت به افراد تمرین نکرده بودند. مطالعات کوتاه مدت افزایشی در مقدار IGF-I استراحتی زنان نشان دادند (۲۴). مارکس^۲ و همکاران (۲۰۰۱) به دنبال ۶ ماه تمرین مقاومتی افزایش معناداری را در مقدار IGF-I در افرادی که قبلا غیرفعال بودند، مشاهده کردند (۲۸). به علاوه نشان داده شد که ۲۵ هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش ۲۵ درصد در IGF-I گردش خون شد (۵). از این تحقیقات می توان نتیجه گرفت که سطوح افزایش یافته IGF-I می تواند دلیلی برای افزایش فعالیت SK1 و متعاقبا تولید S1P باشد.

در این تحقیق نشان داده شد که تمرین مقاومتی مقدار بیان mRNA گیرنده S1P1 را افزایش داد و بیان ژن این گیرنده در عضلات مختلف، متفاوت بود، به طوری که بیان این ژن به طور نسبی در تار تندانبض FHL نسبت به تار کندانبض در گروه کنترل بیشتر بود، اما از نظر آماری معنادار نبود. از طرف دیگر، مقدار بیان این ژن در تارهای تند تمرین کرده در مقایسه با تارهای کندانبض تمرین کرده بیشتر بود. همین طور ۸ هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن S1P2 در تار تندانبض FHL تمرین کرده نسبت به کنترل شد. در حالی که این تغییرات در تار کندانبض معنادار نبود. در مورد بیان گیرنده S1P3، ۸ هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن S1P3 در تار تندانبض FHL گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل و نوع کند تمرین کرده نسبت به کنترل گردید. به علاوه، اختلاف معناداری در بیان این ژن در گروه های تمرین و گروه در بین عضله تند

1 - Danieli-Betto

2 - Marx

انقباض FHL و کند انقباض SOL دیده شد. در تحقیقی، PCR کمی نشان داد که گیرنده SIP1 در بین گیرنده‌ها در بافت قلبی غالب است و mRNA گیرنده SIP3 در پایین‌ترین سطح است (۲۹). در تحقیقی زانین^۱ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که گیرنده‌های SIP1 و SIP3 در عضله نعلی رت بیان می‌شود، در حالی که گیرنده SIP2 قابل شناسایی نبود. مقدار بیان گیرنده SIP1 در بیشترین حد بود (۵۱). به علاوه در این تحقیق نشان داده شد که عصب‌زدایی با تنظیم منفی هر دو گیرنده SIP1 و SIP3 مرتبط است. این احتمال وجود دارد که فقدان گیرنده‌ها می‌تواند در آتروفی ناشی از کاهش اثر تروفیکی SIP و تغییر فنوتیپ مشاهده شده در طول عصب‌زدایی سهیم باشد. تحقیقی در مورد آثار هایپر تروفی بر افزایش یا کاهش بیان این گیرنده‌ها وجود ندارد. از این رو شاید بتوان نتیجه گرفت همان‌طور که کاهش فعالیت ناشی از عصب‌زدایی موجب کاهش بیان این گیرنده‌ها در عضله نعلی و آتروفی می‌شود، شاید فعالیت بدنی و فشار مکانیکی نیز می‌تواند همان‌طور که در تحقیق ما مشاهده شد، موجب افزایش بیان این گیرنده‌ها شود. SIP می‌تواند بازسازی را به وسیله بهبود عروق‌زایی مجدد^۲ عضلات آسیب‌دیده تسهیل کند. در تحقیق دنیلی-بتو و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده شد که بیان گیرنده‌های SIPR در طول هفته اول بازسازی تغییر می‌کند. این تغییرات نشان‌دهنده درگیری سیگنال SIP در رخدادهای مولکولی است که مراحل اولیه رشد عضلانی سلول‌های عضلانی آسیب‌دیده را کنترل می‌کند (۸). با توجه به داده‌های بیان ژن سه گیرنده SIPR_{1,2,3} می‌توان نتیجه گرفت که بیان این ۳ ژن در تارهای نوع تند بیشتر از نوع کند است، از طرف دیگر، اثر تمرین تحقیق حاضر احتمالاً بر تار نوع تند بیشتر از کند است. این ایجاد اختلاف در بیان ژن در بین تار تند و کند به دنبال تمرین مقاومتی می‌تواند مربوط به اثر این نوع تمرین بر نوع خاص تار عضلانی باشد (۲۳). به هر حال، برای رفع ابهامات یافته‌های پیشین به تحقیقات بیشتری نیاز است.

تمرین مقاومتی موجب افزایش معناداری در بیان ژن MyoD در عضله تند انقباض FHL و عضله SOL گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل شد. در مورد میوژنین، ۸ هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش معناداری در بیان این ژن در عضله FHL گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل شد و نیز تمرین مقاومتی موجب افزایش معناداری در بیان این ژن در عضله SOL گروه تمرین کرده نسبت به گروه کنترل شد. نشان داده شد که

1 - Zanin

2 - Revascularization

MyoD اغلب در تارهای عضله اسکلتی نوع دو تندانقباض بیان می‌شود، MyoD اصولاً نسخه‌برداری و تکثیر سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نیمه عمر کوتاه MyoD (۴۵-۲۰ دقیقه) نشان می‌دهد که دارای توانایی تنظیم سریع پیشرفت چرخه سلول است (۳۸). MyoD از طریق محرک‌های هایپرتروفی شامل ورزش، اضافه‌بار و آسیب، اغلب در ظرف ساعات ابتدایی اعمال محرک تغییر می‌یابد (۲۱). mRNA میوژنین در عضله اسکلتی کندانقباض اکسایشی فراوان است که نشان‌دهنده نقش بالقوه آن در تار نوع کند یا فعال‌سازی ترجیحی در خلال مراحل رشد عضله است (۴۳). نشان داده شده است که MRFs بیان ژن، تکثیر و تمایز میوبلاست‌ها را تنظیم می‌کند. MRFs اغلب در به کارگیری و فعال‌سازی سلول‌های پیش‌ساز عضله مثل سلول‌های ماهواره‌ای^۱ درگیرند، همچنین تکثیر و تمایز سلول‌های عضله اسکلتی به درون تارهای عضلانی بالغ را موجب می‌شوند (۳۸). تحقیقات گوناگونی نشان داد که به دنبال تمرین مقاومتی مقدار بیان mRNA عوامل میوژنیک MyoD و میوژنین افزایش می‌یابد. محققان مختلف نشان دادند که MyoD به عنوان مارکر تکثیری^۲ و میوژنین بعنوان مارکر تمایز است (۳۴،۳۷،۴۶). نتایج تحقیق نشان داد که همبستگی مثبت معناداری بین مقدار SIP پلاسمایی گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در عضله تمرین کرده FHL وجود دارد. همین‌طور همبستگی مثبت معناداری بین مقدار SIP پلاسمایی گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در عضله تمرین کرده SOL مشاهده شد. همبستگی معناداری بین SIP پلاسمایی و بیان میوژنین دیده نشد. در تحقیقات مختلف (۵۱،۴۰) از SIP به عنوان یک فاکتور رشدی یاد شد، زیرا این مولکول می‌تواند موجب افزایش تولید MyoD و کاهش آتروفی ناشی از عصب‌زدایی شود. در تحقیقی نشان داده شد که به دنبال تزریق SIP به درون عضله عصب‌زدایی شده، فقط بیان MyoD افزایش پیدا کرد (۵۱)، این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر که فقط ارتباط معناداری بین MyoD در عضله کند و تندانقباض و SIP پلاسمایی مشاهده شد، همسوست.

نتایج تحقیق نشان داد که همبستگی مثبت معناداری بین مقدار SIP پلاسمایی گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در هیچ یک از گروه‌ها مشاهده نشد. همبستگی مثبت معناداری بین بیان ژن SIP1 در عضله FHL گروه تمرین و مقدار بیان میوژنین گروه تمرین کرده مشاهده شد. به علاوه همبستگی مثبت معناداری بین بیان ژن SIP1 در عضله FHL گروه کنترل و مقدار بیان میوژنین گروه تمرین کرده مشاهده شد. همچنین

1 - Satellite cells

2 - Prolifertion

همبستگی مثبت و غیرمعناداری بین بیان گیرنده S1P1 عضله نعلی گروه تمرین و میوژنین در عضله نعلی گروه تمرین دیده شد. همان طور که محققان قبلی نیز اشاره کردند، میوژنین به عنوان یک مارکر تمایز است (۳۴،۳۷،۴۶). از این رو وجود همبستگی مثبت بین این دو فاکتور و نیز عملکرد مشابه هر کدام در نتایج ما تایید شده است.

نتایج نشان داد که همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 در عضله FHL گروه تمرین کرده و بیان ژن MyoD در همان عضله و گروه وجود دارد. به علاوه، همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 و بیان ژن MyoD در عضله SOL گروه کنترل وجود دارد. اما همبستگی مثبت و غیرمعناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 در عضله FHL و بیان ژن MyoD گروه کنترل دیده شد. همین طور، همبستگی مثبت و غیرمعناداری بین بیان ژن گیرنده S1P2 و بیان ژن MyoD در عضله SOL گروه تمرین کرده وجود دارد. دوناتی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که پاسخ تکثیری ایجاد شده از طریق S1P اغلب از طریق گیرنده S1P2 ایجاد می شود (۱۱). ایشی^۱ و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که گیرنده S1P2 در تکثیر سلولی درگیر است (۱۷). از این رو رابطه مثبت و معنادار از یک طرف و نیز ارتباط میوژنین و S1P2 با تکثیر سلولی از طرف دیگر با نتایج ما همسوست. اما در تحقیق دیگری دوناتی و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که S1P می تواند تمایز میتوزنی سلول های C2C12 را تنظیم کند. در این تحقیق نشان داده شد که S1P می تواند به عنوان یک فاکتور مورفولوژیکی در مهار تکثیر سلولی و ایجاد تمایز میتوزنی از طریق اتصال به گیرنده S1P2 در عضلات اسکلتی عمل کند (۱۰)، که نتایج این تحقیق با یافته های ما که همبستگی زیادی بین عوامل تکثیر سلولی و S1P2 مشاهده شد، مغایر است. باید توجه کرد روش های این دو تحقیق متفاوتند.

نتایج نشان داد که همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن MyoD در عضله FHL کنترل مشاهده شد. همچنین همبستگی مثبت و غیرمعناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن MyoD در عضله SOL تمرین کرده مشاهده شد. در عین حال همبستگی مثبت و معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن میوژنین در عضله SOL گروه کنترل وجود دارد. همبستگی مثبت و غیر معناداری بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن میوژنین در عضله SOL گروه کنترل مشاهده شد. وجود همبستگی (نه

در همه گروه‌ها) بین بیان ژن گیرنده S1P3 و بیان ژن میوژنین شاید بتوان گفت که گیرنده S1P3 نیز مثل گیرنده S1P1 در تمایز سلولی درگیر است. در تحقیقی دوناتی و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کردند که غلظت S1P پلاسمایی برای اشغال و اشباع گیرنده‌های S1PR کافی است. S1P در پلاسمای پستانداران در دامنه غلظتی بین ۰/۱-۰/۶ nmol وجود دارد، که اصولاً برای اشغال کامل اغلب S1PRS کافی است (۱۱). به دنبال تمرین مقاومتی افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد، اما نبود همبستگی قوی بین عوامل میوژنیک و S1P پلاسمایی از یک طرف و همبستگی‌های معنادار بین بیان گیرنده‌های S1PR و فاکتورهای میوژنیک MyoD و میوژنیک از طرف دیگر می‌تواند این فرضیه را قوت بخشد که افزایش فعالیت میوژنیک S1P به دنبال تمرین مقاومتی بیشتر به افزایش بیان نوع خاصی از گیرنده‌های آن مربوط است تا افزایش مقدار S1P پلاسمایی، که جزئیات و سازوکارهای دقیق آن به تحقیقات آینده موکول می‌شود. از نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که سازوکارهای تمرینی و مکمل‌های ورزشی که بتواند موجب افزایش فعالیت این مسیر شود می‌تواند در مسیر هایپرتروفی عضلانی درگیر باشد.

منابع و مأخذ

1. Ahmadizad, S., El-Sayed, M.S., and Maclaren, D.P. (2006). "Responses of platelet activation and function to a single bout of resistance exercise and recovery". *Clin Hemorheol Microcirc*, 35; PP: 159–168.
2. Arana, L., Gangoiti, P., Ouro, A., Trueba, M., and Gómez-Muñoz, A. (2010). "Ceramide and ceramide 1-phosphate in health and disease". *Review. Lipids in Health and Disease*. PP:9-15.
3. Bencini, C., Squecco, R., Piperio, C., Formigli, L., Meacci, E., Nosi, D., Tiribilli, B., Vassalli, M., Quercioli, F., Bruni, P., Zecchi, O.S., Francini, F. (2003). "Effects of sphingosine 1-phosphate on excitation-contraction coupling in mammalian skeletal muscle". *J Muscle Res Cell Motil*. 24; PP: 539–554.
4. cccchii o-Zabielska, A., Baranowski, M., Zabielski, P., and Go'rski, J. (2008). "Effect of Exercise Duration on the Key Pathways of Ceramide

Metabolism in Rat Skeletal Muscles". Journal of Cellular Biochemistry, 105; PP: 776-784.

5. Borst, S.E., De Hoyos, D.V., Garzarella, L., Vincent, K., Pollock, B.H., Lowenthal, D.T., and Pollock, M.L. (2001). "Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins". *Med. Sci. Sports Exerc, 33(4); PP: 648-653.*

6. Coppola, A., Ludovico, C., Liliana, dalla Mora., Francesco, M., Limongelli, Antonio Grassia., Luigia, Mastrolorenzo., Giorgio, Gombos., and Giacomo, Lucivero. (2005). "Vigorous exercise acutely changes platelet and B-lymphocyte CD39 expression". *J Appl Physiol, 98; PP: 1414-1419.*

7. Danieli-Betto, D., Germinario, E., Esposito, A., Megighian, A., Midrio, M., Ravara, B., Damiani, E., Libera, L., Sabbadini, R., and Betto, R. (2005). "Sphingosine 1-phosphate protects mouse extensor digitorum longus skeletal muscle during fatigue". *Am J Physiol Cell Physiol, 288; PP: 1367-1373.*

8. Danieli-Betto, D., Peron, S., Germinario, E., Zanin, M., Sorci, G., Franzoso, S., Sandonà, D., and Betto, R. (2010). "Sphingosine 1-phosphate signaling is involved in skeletal muscle regeneration". *Am J Physiol Cell Physiol, 298; PP: 550-558.*

9. Dobrzyn, A., Endzian-Piotrowska, M., Gorski, J. (2004). "Effect of Endurance Training on the Sphingomyelin-Signaling Pathway Activity in the Skeletal Muscles of the Rat". *Journal of Physiology and Pharmacology, 55(2); PP: 305-313.*

10. Donati, C., Bruni, P. (2006). "Sphingosine 1-phosphate regulates cytoskeleton dynamics: Implications in its biological response". *Biochimica et Biophysica Acta, 1758; PP : 2037-2048.*

11. Donati, C., CenCetti, F., Nincheri, P., Bernacchioni, C., Brunelli, S., Clementi, E., Cossu, G., Bruni, P. (2007). "Sphingosine 1-Phosphate Mediates

Proliferation and Survival of Mesoangioblasts". Stem cells, 25; PP: 1713–1719.

12. Dyatlovitskaya, E.V. and Kandyba, A.G. (2004). "Bioeffector Sphingolipids as Stimulators of Cell Growth and Survival". *Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 30(3); PP: 201–206.*

13. Dyatlovitskaya E.V. (2007). "The Role of Lysosphingolipids in the Regulation of Biological Processes". *Biochemistry (Moscow), 72(5); PP: 479–484.*

14. Formigli, L., Sassoli, C., Tani, A., Squecco, R., Francini, F., Meacci, E., Zecchi-Orlandini, S. (2010). "Skeletal muscle repair/regeneration after eccentric contraction-induced damage: effects of SIP". *IJAE, 115(1/2) (Supplement)*

15. Ghanbari-Niaki, A., Mohammadi, S. (2009-2010). "Effect of 4 Weeks of an Aerobic (RAST) Training on Hematological Changes in Male Kick-Boxers". *Journal of Applied Exercise Physiology (Journal of Sports Science), 5 (10); PP: 75-87. [Article in Farsi].*

16. Gräler, M.H. (2010). "Targeting Sphingosine 1-phosphate (SIP) Levels and SIP Receptor Functions for Therapeutic Immune Interventions". *Cell Physiol Biochem, 26; PP: 79-86.*

17. Hannun, A.Y and Obeid, L.M. (2008). "Principles of bioactive lipid signaling: lessons from sphingolipids". *Nature Reviews, molecular cell biology, 9; PP: 139-150.*

18. Hilberg, T., Glaser, D., Koksche, M., Schmidt, V., Sossdorf, M., and Gabriel, H.H. (2004). "Differentiation of platelet-leukocyte conjugates formation by short term exercise". *Clin Hemorheol Microcirc, 31; PP: 217-226.*

19. Huwiler, A., Kolter, T., Pfeilschifter, J., Sandho, K. (2000). "Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1485; PP: 63-99.

20. Igarashi J, Erwin P.A. Dantas, A.V., Chen, H., and Michel, T. (2003). "VEGF induces SIP1 receptors in endothelial cells: Implications for cross-talk between sphingolipid and growth factor receptors". *PNAS*, 100(19); PP: 10664-10669.

21. Ishii, I., Fukushima, N., Ye, X., and Chun, J. (2004). "LYSOPHOSPHOLIPID RECEPTORS: Signaling and Biology". *Annu. Rev. Biochem*, 73; PP: 321-54.

22. Kim, R.H., Takabe, K., Milstien, S., Spiegel, S. (2009). "Export and functions of sphingosine-1-phosphate". *Biochimica et Biophysica Acta*, PP: 692-696.

23. Koopman, Rene', Zorenc, A.H.G., Gransier, R.J.J., Cameron-Smith, D., and van Loon, L.J.C. (2006). "Increase in S6K1 phosphorylation in human skeletal muscle following resistance exercise occurs mainly in type II muscle fibers". *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290; PP: 1245-1252.

24. Kraemer, W.J., and Ratamess, N.A. (2005). "Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training". *Sports Med*, 35 (4); PP: 339-361.

25. Lahiri, S., and Futerman, A.H. (2007). "The metabolism and function of sphingolipids and glycosphingolipids". *Cell. Mol. Life Sci*, 64.

26. Lai, W., Melendez, A., Leung, B. (2010). "Role of sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate in inflammatory arthritis". *World J Biol Chem*, 26, 1(11); PP: 321-326.

27. Ma, M., Chen, J.L., Wang, G.G., Wang, H., & Lu, Y., Li, J.F., Yi, J., Yuan, Y.J., Zhang, Q.W., Mi, J., Wang, L.Sh., Duan, L.H. & Wu, C.T. (2007). "Sphingosine kinase 1 participates in insulin signaling and regulates glucose

metabolism and homeostasis in KK/Ay diabetic mice". Diabetologia, 50; PP: 891-900.

28. Marx, JO., Ratamess, NA., Nindl, BC., et al. (2001). "Low-volume circuit versus high-volume periodized resistance training in women". *Med Sci Sports Exerc, 33; PP: 635-43.*

29. Means, C.K., and Brow, J.H. (2009). *Sphingosine-1-phosphate receptor signaling in the heart. Cardiovascular Research, 82; PP: 193-200.*

30. Min, JK., Yoo, HS., Lee, EY., Lee, WJ., Lee, YM. (2002). "Simultaneous quantitative analysis of sphingoid base 1-phosphates in biological samples by o-phthalaldehyde precolumn derivatization after dephosphorylation with alkaline phosphatase". *Anal Biochem, 303; PP: 167-175.*

31. Nagata, T., Partridge, T.A., Matsuda, R., and Zammit, P.S. (2006). "Entry of muscle satellite cells into the cell cycle require sphingolipid signaling". *The Journal of Cell Biology, 174(2); PP: 245-253.*

32. Nagata, Y., Kobayashi, H., Umeda, M., Ohta, N., Kawashima S., Zammit, P., and Matsuda, R. (2006). "Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells". *J. Histochem. Cytochem, 54; PP: 375-384.*

33. P'ebay, A., Bonder, C.S., Pitson, S.M. (2007). "Stem cell regulation by lysophospholipids". *Prostaglandins & other Lipid Mediators, 84; PP: 83-97.*

34. Pietrangelo, T., Puglielli, C., Mancinelli, R., Beccafico, S., Fanò, G., Fulle, S. (2009). "Molecular basis of the myogenic profile of aged human skeletal muscle satellite cells during differentiation". *Experimental Gerontology, 44; PP: 523-531.*

35. Pyne, N.J., Pyne, S. (2009). "Sphingosine 1-phosphate, lysophosphatidic acid and growth factor signaling and termination". *Biochimica et Biophysica Acta, 1781; PP: 467-476.*

36. Rapizzi, E., Donati, C., Cencetti, F., Nincheri, P., Bruni, P. (2008). "Sphingosine 1-phosphate differentially regulates proliferation of C2C12 reserve cells and myoblasts". *Mol Cell Biochem*, 314; PP: 193-199.
37. Raue, U., Slivka, D., Jemiolo, B., Hollon, C., and Trappe, S. (2006). "Myogenic gene expression at rest and after a bout of resistance exercise in young (18-30 yr) and old (80-89 yr) women". *J Appl Physiol*, 101; PP: 53-59.
38. Rescan, P.Y. (2001). "Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates". *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 130(1); PP:1-12.
39. Sabbadini, R.A., Danieli-Betto, D., Betto, R. (1999). "The role of sphingolipids in the control of skeletal muscle function: a review". *Ital J Neurol Sci*, 20; PP: 423-430.
40. Safdar, A., Yardley, N.J., Snow, R., Melov, S., Tarnopolsky, MA. (2008). "Global and targeted gene expression and protein content in skeletal muscle of young men following short-term creatine monohydrate supplementation". *Physiol Genomics*, 32; PP: 219-228.
41. Sanchez, T., and Hla, T. (2004). "Structural and Functional Characteristics of S1P Receptors". *Journal of Cellular Biochemistry*, 92; PP: 913-922.
42. Serra, M., Saba, J.D. (2010). "Sphingosine 1-phosphate lyase, a key regulator of sphingosine 1-phosphate signaling and function". *Advances in Enzyme Regulation*, 50; PP: 349-362.
43. Stewart, CE., Rittweger, J. (2006). Adaptive processes in skeletal muscle: molecular regulators and genetic influences. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 6(1); PP: 73-86.
44. Takuwa, Y., Okamoto, Y., Yoshioka, K., Takuwa, N. (2008). "Sphingosine-1-phosphate signaling and biological activities in

the cardiovascular system". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1781; PP: 483-488.

45. Tayebi, SM., Hanachi, P., Ghanbari-Niaki, A., Nazar Ali, P., Ghorbanalizadeh Ghaziani., F. (2010). Ramadan Fasting and Weight-Lifting Training on Vascular Volumes and Hematological profiles in young male weight-lifters. *Global Journal of Health Science*, 2 (1); PP: 160-6.

46. Tidball G.J. (2005). Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. *J Appl Physiol*, 98; PP: 1900-1908.

47. Trenerry, M.K., Gatta, P.A., Larsen, A.E., Garnham, A.P., and Cameron-Smith, D. (2011). Impact of exercise resistance training on interleukine-6 and JAK/STAT in young men. *Muscle Nerve*, 43; PP: 385-392.

48. Venkataraman, K., Lee, Y., Michaud, J., Thangada, S., Ai, Y., Bonkovsky, H.L., Parikh, N.S., Habrukowich, C., and Hla, T. (2008). Vascular Endothelium as a Contributor of Plasma Sphingosine-1- Phosphate. *Circ Res*, 102(6); PP: 669-676.

49. Watterson, K., Sankala, H., Milstien, S., Spiegel, S. (2003). Pleiotropic actions of sphingosine-1-phosphate. *Progress in Lipid Research*,

50. Yatomi, Y. (2008). Plasma sphingosine 1-phosphate metabolism and analysis. Review. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780; PP: 606-611.

51. Zanin, M., Germinario, E., Dalla, L., Sandona, D., Sabbadini, R.A., Betto, R., Danieli-Betto, D. (2008). Trophic action of sphingosine 1-phosphate in denervated rat soleus muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 294; PP: 36-46.

52. Zeidan, Y.H and Hannun, Y.A. (2007). Translational aspects of sphingolipid metabolism. *Trends Mol Med*, 13(8); PP: 327-36.