Journal of Animal Biology, Autumn 2024; 17(1): 185-198

Research Article

The Effect of a Circuit Resistance Activity Session with Different Intensities on the Levels of Sphingosine one Phosphate in Plasma, Red Blood cells, Platelets and HDL in Young Men.

Morteza Darabian[1], Abbas Ghanbari Niaki[1*], Ali Khaleghian[2], Mohsen Darabian[3]

1- Department of Sports Physiology, Mazandaran University, Babolsar, Iran
2- Department of Biochemistry, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
3- Department of Cardiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
*Corresponding author: abbas.ghanbari.umz@gmail.com

Received: 1 August 2024 Accepted: 23 September 2024

DOI: 10.60833/ascij.2024.1130694

Abstract

The role of fats as a source of energy at low and moderate intensities is well known. Physical activity can affect non-triglyceride metabolism such as sphingolipids. Considering the spread of metabolic diseases and the role of sphingolipid metabolites and enzymes related to them, investigating the effect of sports activities on the production of sphingolipids can be a special treatment strategy for these complications. This study was conducted to investigate the effect of two different intensities of circuit resistance training on plasma S1P, red blood cell, and platelet and HDL levels in young men. The statistical population of the present study were young male students aged 19-22, non-athletes. The one-session activity instruction included three consecutive rounds of circuit resistance training at 10 stations. Considering the effect of intensity and duration of activity on the amount of stimulation and duration of release of sphingolipids from production sources, especially red blood cells, the variables were measured in 3 time intervals: before, immediately after, and 24 hours after training. HPLC method was used to measure the samples. Normal data were analyzed using the analysis of variance test for repeated measures at the significance level of $p < 0.05$. The results showed that the interaction between training groups and measurement times was not statistically significant. The amount of erythrocyte s1p changed significantly during the measurement times ($p = 0.018$). S1p levels in platelets, erythrocytes, and HDL did not show any significant effect at the measurement times. In both training groups, platelet s1p levels increased after training. In the 20% training group, the amount of s1p HDL increased after training. This increasing trend continued until 24 hours after training. Circuit-type resistance training will be effective in changing the levels of sphingolipids in plasma and their production sources.

Keywords: Circular resistance training, Intensity, Sphingosine 1 phosphate.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۳، صفحات ۱۹۸-۱۸۵

مقاله پژوهشی

تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی دایره‌ای با شدت‌های مختلف بر سطوح اسفنگوزین یک فسفات، در پلاسما، گلبول قرمز، پلاکت و HDL مردان جوان

مرتضی دارابیان[۱]، عباس قنبری نیاکی[۱*]، علی خالقیان[۲]، محسن دارابیان[۳]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- گروه قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

*مسئول مکاتبات: abbas.ghanbari.umz@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۲

DOI: 10.60833/ascij.2024.1130694

چکیده

نقش چربی‌ها به عنوان منبع انرژی در شدت‌های پایین و متوسط به خوبی شناخته شده است. فعالیت بدنی می‌تواند بر متابولیسم غیرتری‌گلیسیریدی مانند اسفنگولیپیدها اثر بگذارد. با توجه به گسترش بیماری‌های متابولیک و نقش متابولیت‌های اسفنگولیپید و آنزیم‌های مرتبط با آنها بررسی تاثیر فعالیت‌های ورزشی در تولید اسفنگولیپیدها می‌تواند راهکارهای درمانی ویژه‌ای برای این عوارض باشد. این مطالعه جهت بررسی اثر دو شدت مختلف تمرین مقاومتی دایره‌ای بر سطوح S1P پلاسما، گلبول قرمز، پلاکت و HDL مردان جوان انجام گرفت. جامعه آماری مطالعه حاضر دانشجویان مرد جوان ۲۲-۱۹ ساله غیر ورزشکار بودند. دستورالعمل فعالیت یک جلسه‌ای، شامل انجام سه نوبت متوالی تمرین مقاومتی دایره‌ای در ۱۰ ایستگاه بود. با توجه به تاثیر شدت و مدت فعالیت در میزان تحریک و مدت زمان انتشار اسفنگولیپیدها از منابع تولیدی به ویژه گلبول قرمز، متغیرهای در ۳ بازه زمانی قبل، بلافاصله بعد و ۲۴ ساعت بعد از تمرین اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری نمونه‌ها از روش HPLC استفاده شد. داده‌های نرمال با استفاده از آزمون تحلیل واریانس برای اندازه‌های تکراری در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ بررسی شد. نتایج نشان داد، تعامل بین گروه‌های تمرینی و زمان‌های اندازه‌گیری از نظر آماری معنی‌دار نشد. میزان s1p اریتروسیت در زمان‌های اندازه‌گیری تغییر معنی‌دار داشت ($p = ۰/۰۱۸$). سطوح s1p در پلاکت، اریتروسیت و HDL، در زمان‌های اندازه‌گیری تاثیر معنی‌داری نشان نداد. در هر دو گروه تمرینی سطح s1p پلاکت بعد تمرین افزایش داشت. در گروه تمرینی ۲۰ درصد، میزان HDL s1p بعد از تمرین بیشتر شد. این روند افزایشی تا ۲۴ ساعت بعد تمرین نیز ادامه داشت. تمرینات مقاومتی از نوع دایره‌ای در تغییر سطوح اسفنگولیپیدها در پلاسما و منابع تولیدی آنها موثر خواهد بود.

کلمات کلیدی: تمرین مقاومتی دایره‌ای، شدت، اسفنگوزین یک فسفات.

مقدمه

اسفنگولیپیدها جزء جدایی ناپذیر غشای سلولی همه ارگانیسم‌های یوکاریوتی را تشکیل می‌دهند (۳۶). اسفنگوزین‌یک‌فسفات (s1p)، یکی از فعال‌ترین اعضای بیولوژیکی این دسته لیپیدی است و

مجموعه‌ای از فرآیندهای سلولی مانند رشد، تکثیر، تمایز، انتقال و سرکوب آپوپتوز را تنظیم می‌کند. این اسفنگولیپید، در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، تصلب شرایین، دیابت و پوکی استخوان نقش دارد (۱۹). در سال‌های اخیر، S1P به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی مهم عملکرد ماهیچه‌های اسکلتی ظاهر شد و نشان داده شد، متابولیسم آن به طور قابل توجهی تحت تاثیر ورزش قرار می‌گیرد (۲۵). اسفنگوزین‌یک‌فسفات در غلظت‌های نانومولار بالا در پلاسمای انسان یافت می‌شود که عمدتاً به HDL (۶۰–۵۰ درصد) و آلبومین (۴۰–۳۰درصد) متصل می‌شود. بخش ناچیز باقی مانده توسط لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم منتقل می شود (۲۱). سلول‌های اندوتلیال عروقی (ECs) و گلبول‌های قرمز منابع اصلی s1p در گردش هستند (۳۴). گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها، به دلیل فعالیت SphK بالا و فعالیت کم آنزیم‌های تجزیه‌کننده s1p، قادر هستند مقادیر زیادی از این اسفنگولیپید را ذخیره کنند. با این حال، پلاکت‌ها s1p را تنها پس از فعال شدن آزاد می‌کنند. از سوی دیگر، گلبول‌های قرمز و سلول‌های اندوتلیال به طور مشهود s1p را آزاد می‌کنند (۶). S1P و سرامیدها بیشترین لیپیدهای فعال زیستی هستند که مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این دو اسفنگولیپید از نظر عملکردی متضاد می‌باشند و قادر به ایجاد چندین مسیر سیگنالینگ مختلف برای تنظیم و تعیین سرنوشت سلولی هستند. به عنوان مثال، آبشارهای سیگنالی رشد یا مرگ سلولی را فعال می‌کنند (۲۳). S1P در تکثیر سلولی، مهاجرت، تهاجم و التهاب نقش دارد، و اغلب تاثیرات آن تقریبا مخالف اسفنگوزین و سرامید است (۲۹). اخیراً، نقش S1P در کنترل متابولیسم، آتروفی و بازسازی عضلات اسکلتی و همچنین اختلالات متابولیک به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. نقش محور S1P/S1PRs ، در بازسازی عضلات اسکلتی، خستگی، تجمع سرامید و مقاومت به انسولین قابل تامل می‌باشد (۸). یافته‌های متعددی نقش اسفنگولیپیدها را در روند تأخیر خستگی عضلات نشان می‌دهند (۲۰). بیان شده است که S1P قدرت، توده و متابولیسم عضلانی را افزایش می‌دهد (۳۲). اختلالات مرتبط با کاهش سطح S1P، با کاهش قدرت انقباضی ارتباط دارد (۱۱). به نظر می‌رسد که انتشار S1P برای هر سلول ویژه باشد و میزان s1p صادر شده از سلول‌های خونی بسیار بیشتر از سایر سلول‌ها است (۳۱). اگرچه پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز مقادیر زیادی فسفات پایه اسفنگوئید را ذخیره می‌کنند، اما تنها گلبول‌های قرمز به عنوان منبع مهمی از S1P پلاسما شناخته می‌شوند (۱۴). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که افرادی که دارای اختلالات متابولیک مانند فشار خون، مقاومت به انسولین و ... هستند، سطح پلاسمایی بافتی بالاتری از یک یا چند گونه از اسفنگولیپیدها را دارند. برخی از اسفنگولیپیدهای خاص، حتی به عنوان نشانگرهای زیستی و شاخص‌های پیش‌بینی کننده بیماری‌های قلبی‌عروقی در حال بررسی است (۳۳). بسیاری از محققان، ناهنجاری‌های مرتبط با چاقی در متابولیسم لیپید و اسفنگولیپیدها را با ایجاد مقاومت به انسولین مرتبط می‌دانند (۱۳). علاوه بر اثرات مستقیم تجمع سرامید سلولی بر مقاومت به انسولین، مطالعات اخیر قویاً نشان می‌دهد که افزایش محتوای درون سلولی سرامید تولید شده توسط سنتز و هیدرولیز برخی ترکیبات اسفنگولیپیدها (اسفنگومیلین و گلیکواسفنگولیپیدها) نیز ممکن است با تحریک میتوکندری منجر به مقاومت به انسولین گردد (۲۴). اگر چه فعالیت بیولوژیکی S1P و مکانیسم‌های عملکرد آن در سطح سلولی به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، اما هنوز هم اطلاعات زیادی در

مورد عوامل تنظیم غلظت گردش S1P و توزیع آن بین سلول های خونی، پلاسما و حامل‌های ویژه آن وجود ندارد. مطالعات انجام شده نشان داده است که ورزش تأثیر معنی‌داری بر متابولیسم S1P دارد. بیشتر مطالعات انجام شده تاثیر تمرین حاد استقامتی بر متابولیسم اسفنگولیپیدها را بررسی نموده‌اند (٤، ١٥ و ٢). مطالعات نشان داده‌اند که سطح S1P عضلانی متناسب با مدت تمرین افزایش می‌یابد که میزان این افزایش به شدت تمرین بستگی دارد. همچنین بیان شد؛ مشابه عضله اسکلتی، متابولیسم S1P در گردش نیز تحت تاثیر ورزش حاد قرار می‌گیرد (۳). با توجه به گسترش بیماریهای متابولیک، به ویژه آترواسکلروز و مقاومت به انسولین، و نقش متابولیتهای اسفنگولیپید و آنزیم‌های مرتبط با آنها در ایجاد و درمان این اختلالات، بررسی تاثیر فعالیتهای ورزشی در تولید و عرضه اسفنگولیپیدها می‌تواند راهکارهای درمانی ویژه‌ای برای این عوارض باشد. از سوی دیگر همانطور که اشاره شد، تاثیرات اسفنگولیپیدها به ویژه سرامید و S1P بر هایپرتروفی، آتروفی، ظرفیت ورزشی و خستگی عضلانی بررسی و تایید گردیده است (۱۱، ۱۸، ۳۳). بنابراین با توجه به تاثیرات تمرینات مقاومتی بر نیمرخ لیپیدی و لیپوپروتئینی، و همچنین نتایج پژوهش‌هایی که تاثیرات تمرینات مقاومتی به خصوص با عضلات درگیر بیشتر در تولید و عرضه اسفنگولیپیدها را نشان دادند، در این پژوهش تاثیر تمرین مقاومتی دایره‌ای (که تعداد عضلات درگیر در آن زیاد است) بر برخی از اسفنگولیپیدها بررسی گردید. ضمنا همانطور که در نتایج برخی از پژوهش‌ها اشاره شد، شدت و مدت تمرین در میزان تحریک و مدت زمان انتشار اسفنگولیپیدها از منابع تولیدی به ویژه گلبول قرمز موثر خواهد بود. به همین جهت، اثر دو شدت مختلف تمرین مقاومتی دایره‌ای با مدت تمرین متفاوت بر سطوح S1P در پلاسما و منابع احتمالی تولید آن (گلبول قرمز و پلاکت‌ها) بررسی گردید. با توجه به اهمیت چگونگی، نحوه انتشار و حمل اسفنگولیپیدها از منابع تولیدی و همچنین میزان انتقال و پاک‌شدگی آنها در پلاسما، متغیرهای مورد پژوهش در ۳ بازه زمانی قبل، بلافاصله بعد و ٢٤ ساعت بعد از تمرین اندازه‌گیری شدند.

مواد و روش‌ها

روش تحقیق حاضر از طبقه مطالعات نیمه تجربی و از نوع کاربری بود. جامعه آماری تحقیق حاضر مردان جوان ۲۲-۱۹ ساله غیر ورزشکار شرکت‌کننده در کلاسهای تربیت‌بدنی عمومی دانشگاه دامغان بودند که حداقل در ٦ ماه قبل از انجام پژوهش فعالیت منظم ورزشی نداشتند. برای انجام این پژوهش ابتدا با انجام فراخوان، از دانشجویان داوطلب شرکت در این پژوهش درخواست شد؛ پرسش‌نامه مشخصات فردی، اطلاعات لازم در مورد سابقه‌ی بیماری، میزان فعالیت و سابقه‌ی ورزشی خود را تکمیل و رضایت خود را جهت شرکت در این پژوهش اعلام کنند. از بین افراد ۸ نفر نمونه به طور تصادفی منظم انتخاب و در ۲ نوبت تمرین دایره‌ای مقاومتی با شدت پایین (۲۰ درصد یک تکرار بیشینه) و شدت متوسط به بالا (٦٠ درصد یک تکرار بیشینه) را اجرا کردند. مشخصات آزمودنی ها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.. جهت آشنایی با محیط کار و درک فشار تمرین، آزمودنیها دو هفته قبل از آزمون به تعداد ۲ جلسه الگوی تمرینی را انجام دادند. یک تکرار بیشینه (1RM) در حرکات منتخب، با استفاده از معادله کریمر یک هفته قبل از اجرای آزمون اصلی و به تعداد ۲ جلسه محاسبه شد (۱۰، ۱۲). جلسه تمرینی شامل ۱۵دقیقه گرم کردن عمومی و اختصاصی و سپس انجام حرکات دهگانه (پرس سینه، اسکوات، جلو بازو،

پرس پا، پشت بازو، جلو ران، قایقی، پشت ران، سرشانه هالتر و ساق پا) تمرین مقاومتی دایره‌ای بدون توقف در ایستگاه ها بود. مدت انجام برای هر ایستگاه در تمرین ۲۰ درصد یک تکرار بیشینه ٤٥ ثانیه و در تمرین ٦٠ درصد یک تکرار بیشینه ۲۰ ثانیه در نظر گرفته شد. آزمودنی‌ها حرکات را در ۳ دور و با استراحت ۱۲۰ ثانیه بین هر دور انجام دادند (۲۲). بین اجرای دو برنامه تمرینی با شدت‌های ۲۰ و ٦٠ درصد یک تکرار بیشینه، فاصله زمانی دو هفته جهت پاکسازی در نظر گرفته شد. با توجه به تاثیر محتمل درصد چربی رژیم غذایی در نتایج آزمون، میزان چربی مصرفی در رژیم غذایی آزمودنی‌ها از یک هفته قبل از آزمون، حدود ۳۰ درصد در نظر گرفته شد. در روز آزمون، آزمودنی‌ها پس از مصرف صبحانه یکسان در ساعت ۷:۳۰ صبح، در ساعت۸:۳۰ وارد سالن ورزشی شدند. ضربان قلب و میزان اکسیژن خون استراحت اندازه‌گیری و ثبت شد. در ساعت ۹:۰۰ خون‌گیری قبل تمرین به عمل آمد. ۱۰ دقیقه پس از اتمام خون‌گیری، آزمودنی‌ها به مدت ۱۰ دقیقه به صورت گروهی گرم کردند. در تمرین با شدت ۲۰ درصد یک تکرار بیشینه، آزمودنی‌ها حرکات مختص هر ۱۰ ایستگاه را به مدت ٤٥ ثانیه و پشت سر هم انجام دادند. چینش دستگاهها به گونه‌ای بود که در کمترین زمان ممکن ایستگاه بعدی آغاز گردد. پس از پایان دور اول، بلافاصله ضربان قلب و میزان اکسیژن خون اندازه‌گیری شد. بین هر دور، ۱۲۰ ثانیه استراحت نیمه فعال شامل ایستادن و راه رفتن انجام شد. دورهای دوم و سوم نیز به همین ترتیب اجراشد. ۲ هفته بعد، برنامه تمرینی گروه ٦٠ درصد یک تکرار بیشینه با این تفاوت که حرکات در هر ایستگاه ۲۰ ثانیه به طول می‌انجامید، اجرا شد. خون‌گیری در حالت نشسته و از ورید حفره آرنج (آنتیکوبیتال) انجام و نمونه داخل لوله های پلاستیکی ٤.۳ میلی لیتری حاوی ۰.٤۳ میلی لیتر محلول سیترات سدیم (به عنوان ضد انعقاد) قرار گرفت. بلافاصله پس از نمونه‌گیری، خون به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پلاسما به یک لوله پلاستیکی تازه منتقل شد. قسمت غنی از لکوسیت کاملاً برداشته شد. گلبولهای قرمز جدا شده معلق در محلول NaCl ۰/۹ درصد، به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس لایه فوقانی و همچنین قشر زیرین آن جدا گردید. گلبول‌های قرمز جدا شده در نیتروژن مایع منجمد شد. پلاسمای جدا شده در دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلاکت ها جدا شوند. سپس لایه شناور به یک لوله پلاستیکی منتقل و برای بدست آوردن پلاسمای عاری از پلاکت، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شد. تمام نمونه‌ها تا زمان تجزیه و تحلیل، در دمای منهای ۸۰ درجه سانتیگراد ذخیره شدند (۲). برای اندازه‌گیری سطوح S1P از روش HPLC استفاده شد. (٦۳، ۹۲). جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های هر متغیر، از آزمون شاپیروویلک و در بخش آمار توصیفی، از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. برای بررسی تفاوت میانگین‌های قبل از فعالیت، بعد از فعالیت و ۲٤ ساعت بعد از فعالیت از آزمون تحلیل واریانس برای اندازه‌های تکراری با عامل بین گروهی(برای تفاوت ۲ شدت تمرین) استفاده شد. آزمون تعقیبی بانفرونی مقایسه‌های جفتی متغیرها را نشان داد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار با ضریب خطای $p <$ ۰/۰۵ گزارش شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) استفاده گردید.

جدول ۱– شاخص های آنتروپومتریک

Table 1. Anthropometric indices

Age (year)	Height (cm)	Weight (kg)	BMI (kg/m2)
20.33 ± 0.81	174.83 ± 5.03	77.16 ± 4.66	25.45 ± 1.75

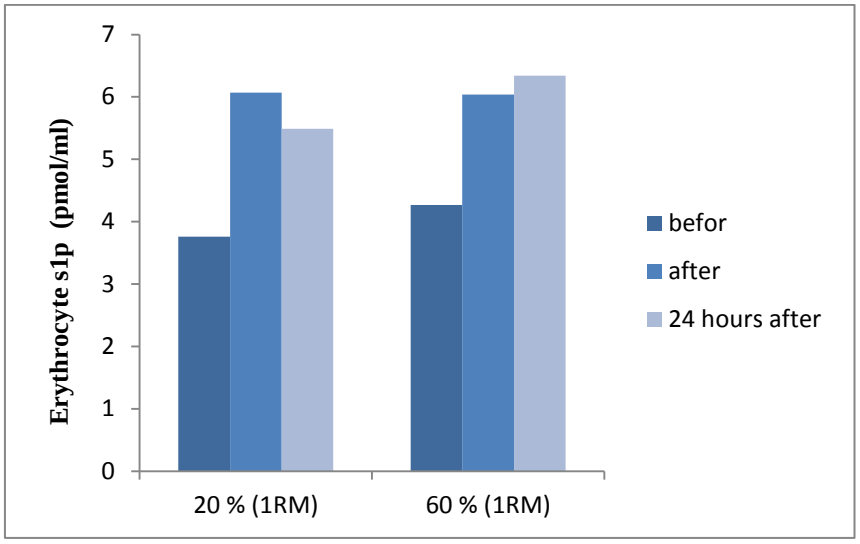
نتایج

تغییرات سطوح S1P و سرامید در اریتروسیت و پلاسما در زمان‌های اندازه‌گیری در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌های تکراری نشان داد یک جلسه تمرین دایره‌ای مقاومتی (با شدت‌های ۲۰ درصد و ٦۰ درصد یک تکرار بیشینه) بر میزان s1p اریتروسیت در زمان‌های اندازه‌گیری تاثیر معنی‌دار داشته است (p=۰/۰۱۸). این معنی‌داری بین زمان قبل از فعالیت با زمان‌های بلافاصله بعد از فعالیت (p=۰/۰۳۲) و ۲٤ ساعت بعد از فعالیت (p=۰/۰٤۳) مشاهده شد. سطوح s1p در پلاکت، اریتروسیت و HDL در زمان‌های اندازه‌گیری تاثیر معنی‌داری نشان نداد. اثر تعاملی بین شدت و زمان تمرین در هیچکدام از گروه‌ها مشاهده نشد. در هر ۲ گروه، S1P اریتروسیت در نقطه بعد از تمرین نسبت به نقطه قبل تمرین افزایش داشت. در گروه ٦۰ درصد، این افزایش در زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین نیز همچنان ادامه داشت. در هر ۲ گروه سطح S1P در نقاط ۲٤ ساعت بعد تمرین نسبت به سطح پایه بالاتر بود (شکل ۱). سطح S1P پلاکت در هر ۲ گروه، بعد از تمرین نسبت به نقطه قبل تمرین افزایش و در زمان ریکاوری کاهش پیدا کرد. این کاهش برای گروه ۲۰ درصد به گونه‌ای بود که از سطح پایه نیز کمتر شد (شکل ۲). در گروه ۲۰ درصد، سطح S1P متصل به لیپوپرتئین پر چگال (HDL) بعد از تمرین نسبت به سطح پایه افزایش تدریجی نشان داد. این افزایش با شیب بیشتر تا زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین ادامه یافت. علی‌رغم این تغییرات افزایشی و ماندگاری آن طی ۲٤ ساعت، تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. در گروه ٦۰ درصد، کاهش مشاهده شد و تا زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین، تا حدودی جایگزین شد ولی به حد پایه نرسید (شکل ۳). به نظر می رسد در گروه ۲۰ درصد، میل به کاهش در سطح S1P پلاسمائی در نقاط بلافاصله و ۲٤ ساعت بعد تمرین قابل وجود دارد. در حالیکه این تغییرات در گروه ٦۰ درصد نسبت به سطح پایه افزایشی بوده است. هر چند این تغییرات معنی‌دار نبود ولی نشان می‌دهد شدت متوسط به بالا می‌تواند سطح S1P پلاسما را بالا ببرد (شکل ٤).

جدول ۲- نتایج S1P اریتروسیت، پلاکت، پلاسما و HDL (پیکو مول بر میلی لیتر)

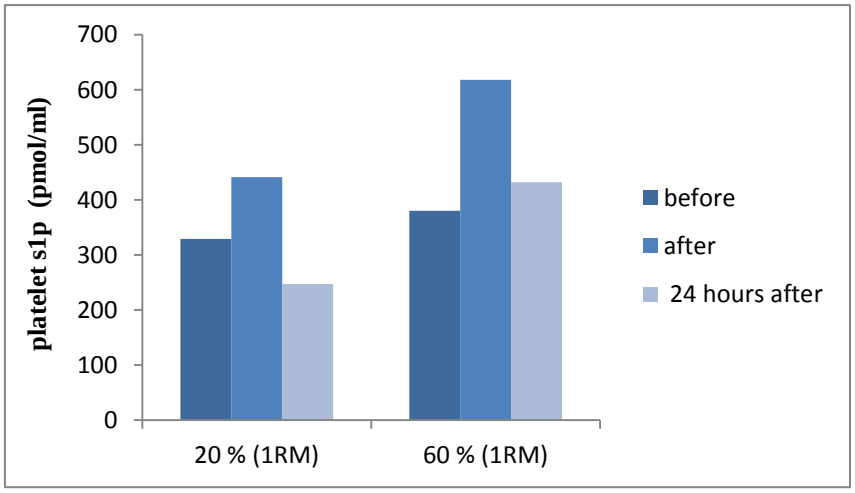
Table 2. S1P results of erythrocyte, platelet, plasma and HDL (pmol/ml)

S1P (pmol/ml)						
group	20 % (1RM)			60 % (1RM)		
time	before training	After training	24 hours after training	before training	After training	24 hours after training
erythrocyte	3.76 ± 1.67	6.07 ± 2.82	5.49 ± 1.87	4.27± 1.28	6.04 ± 3.17	6.34 ± 2.69
platelet	328.85 ± 123.00	441.23 ± 143.90	246.91 ±475.25	379.95± 177.04	617.61± 462.84	431.63 ± 251.91
plasma	193.63 ± 42.49	178.92 ± 69.66	161.77 ± 73.61	214.33± 54.28	222.04 ± 60.58	235.38 ± 42.91
HDL	344.34 ± 208.75	358.80 ± 180.28	524.62 ± 222.44	406.74± 179.30	225.37 ± 199.10	316.07 ± 11.32



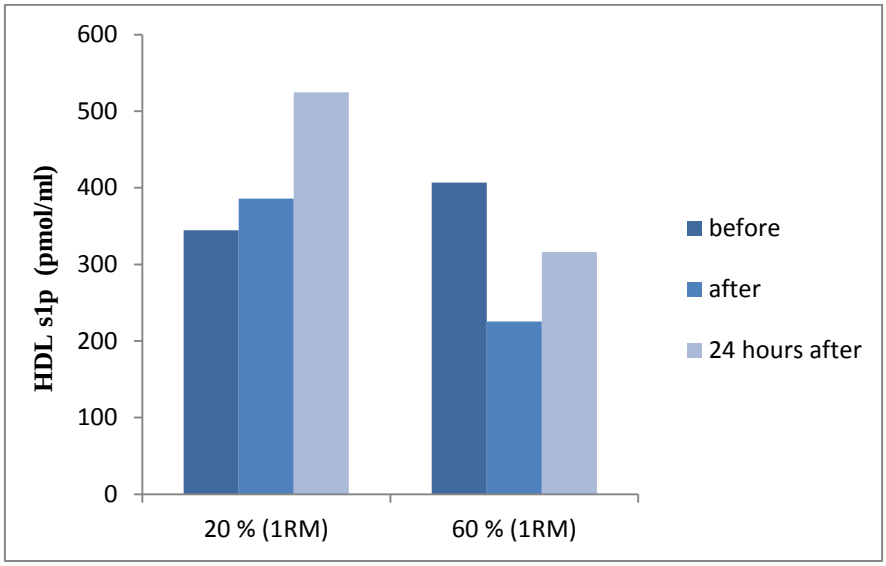
شکل ۱- اسفنگوزین یک فسفات اریتروسیت(پیکو مول بر میلی لیتر)

Fig 1. Erythrocyte s1p (pmol/ml)



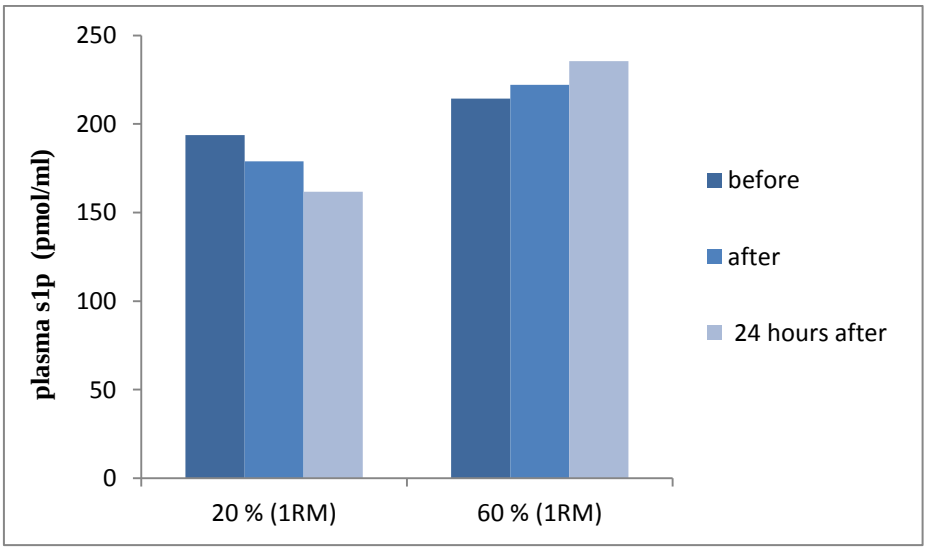
شکل ۲- اسفنگوزین یک فسفات پلاکت(پیکو مول بر میلی لیتر)

Fig 2. platelet s1p (pmol/ml)



شکل ۳- اسفنگوزین یک فسفات HDL (پیکو مول بر میلی لیتر)

Fig 3. HDL s1p (pmol/ml)



شکل ٤- اسفنگوزین یک فسفات پلاسما(پیکو مول بر میلی لیتر)

Fig 4. plasma s1p (pmol/ml)

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد اثر تعاملی بین شدت و زمان تمرین در سطوح s1p اریتروسیت وجود نداشت. در حالیکه بین زمان‌های اندازه‌گیری تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. تمرین دایره‌ای مقاومتی باعث افزایش سطح s1p اریتروسیت گردید. این افزایش در شدت ۲۰ درصد یک تکرار بیشینه ٦١/٣ درصد و در گروه ٦٠ درصد یک تکرار بیشینه ٤١/٤ درصد بود. گلبول‌های قرمز به عنوان منبع مهمی

از s1p پلاسما در نظر گرفته می‌شوند (۱٤). بارانوفسکی و همکاران در سال ۲۰۱۵، تاثیر یک نوبت ورزش ٦۰ دقیقه‌ای در یک ارگومتر قایقرانی با ٦۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به صورت درجه‌بندی شده تا زمان خستگی را بر محتوای s1p سنجیدند. محتوای s1p، ۱۲ درصد افزایش داشت که البته معنی‌دار نبود. افزایش SA1P و اسفنگانین نیز در اریتروسیست مشاهده شد. افزایش SA1P فقط در ۳۰ دقیقه پس از تمرین تفاوت معنی‌دار داشت ($p<0.05$)(۳). هادن و همکاران نیز در سال ۲۰۲٤ با انجام یک نوبت تمرین دوچرخه‌سواری با شدت فزاینده تا خستگی، افزایش سطح s1p اریتروسیت را در دوچرخه‌سواران تمرین‌کرده گزارش کردند. البته آنها همچنین بیان کردند انجام همان پرتکل تمرینی در شرایط هایپوکسی، s1p گلبول قرمز را بعد فعالیت کاهش داد (۱۵). بر اساس نتایج پژوهش، تمرین دایره‌ای مقاومتی میزان s1p اریتروسیت را افزایش داد. لیکن این افزایش برای گروه ۲۰ درصد بالاتر بود. این نتیجه می‌تواند بیان کننده تاثیر شدت و مدت تمرین بر تولید s1p اریتروسیت باشد. در گروه ۲۰ درصد یک تکرار بیشینه، مدت تمرین حدود ۲۷ دقیقه به طول انجامید. در حالیکه مدت تمرین برای شدت دیگر حدود ۱۵ دقیقه در نظر گرفته شده بود. در پژوهشی مدت و شدت یک جلسه فعالیت را بر تغییرات سطح اسفنگولیپیدها در ورزشکاران استقامتی بررسی کردند. آنها مشاهده کردند بیشترین افزایش در زمان ۳۰ دقیقه بعد از شروع تمرین ایجاد شد (۲). از آنجا که گلبول قرمز به همراه سلولهای اندوتلیال مسئول اصلی کنترل سطح s1p خون هستند (۱٦)، احتمالا مدت تمرین در میزان تولید آن در اریتروسیت موثر خواهد بود. افزایش ناشی از تمرین در محتوای S1P عضلانی می‌تواند ناشی از دسترسی بیشتر بستر مورد نیاز برای سنتز آن باشد. تجمع اسفنگوزین پس از تمرین در عضله اسکلتی موش و انسان و همچنین در میوکارد موش مشاهده شد(٤). بنابراین میزان تولید S1P در اریتروسیت وابسته به سطح اسفنگوزین جهت فسفریله شدن با SphKs است. افزایش اسفنگوزین متناسب با تجزیه و کاهش سرامید خواهد بود. این کاهش می‌تواند به دلیل فعالیت سرامیداز قلیایی و عملکرد آن در تولید اسفنگوزین مورد نیاز برای تولید s1p در گلبول‌های قرمز باشد (۳۵). در پژوهش حاضر افزایش سطح S1P اریتروسیت در شدت ۲۰ درصد بیشتر از شدت ٦۰ درصد بود. این اختلاف می‌تواند به دلیل به کارگیری بیشتر تارهای اکسیداتیو در شدت پایین باشد. محتوای S1P بالا را در بیوپسی‌های عضلانی گرفته‌شده از افرادی که یک تمرین ۹۰ دقیقه‌ای با ۵۰ درصد VO2 max روی یک چرخ ارگومتر انجام دادند، گزارش شد (٤). سطح S1P اریتروسیت در زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین نسبت به سطح پایه افزایش داشت. این نتایج با نتایج تحقیق بارانوفسکی و همکاران که در آن سطح S1P بعد از ۲٤ ساعت فعالیت به سطح پایه بازگشت، متفاوت بود. احتمال دارد علت این تفاوت در نوع آزمودنی‌ها باشد. آزمودنی‌های آنها افراد تمرین کرده استقامتی بودند. کازیاک و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیان کردند افزایش سطح S1P پلاسما ناشی از تمرینات استقامتی با افزایش فعالیت SphK در گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها و افزایش انتشار S1P از گلبول‌های قرمز مرتبط است (۱۷). احتمال دارد بازگشت سطح S1P اریتروسیت به سطح پایه با میزان انتشار آن مرتبط باشد. نتایج پژوهش نشان داد یک جلسه تمرین دایره‌ای مقاومتی بر میزان s1p پلاکت در نقاط اندازه‌گیری تاثیر معنی‌داری نداشته است (p=۰/۱۲۷). البته سطح s1p پلاکت بعد از تمرین افزایش داشت. این افزایش برای گروه ٦۰ درصد تقریبا دو برابر بود. بارانوفسکی و همکاران در سال

۲۰۱۵ گزارش کردند در۳۰ دقیقه ابتدایی تمرین بر روی ارگومتر قایقرانی با شدت ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، سطح s1p پلاکت افزایش یافته بود. اما در پژوهش هادن و همکاران بیان شد سطح s1p پلاکت در ۳۰ دقیقه تمرین دوچرخه‌سواری درجه بندی شده تا خستگی کاهش داشت. البته در زمان ۳۰ دقیقه استراحت میزان s1p پلاکت از سطح پایه بالاتر بود. باید توجه داشت این پژوهش بر روی ورزشکاران استقامتی انجام گرفت. تفاوت افراد تمرین کرده و افراد بدون تمرین در سطح s1p پلاکت و یا در سرعت انتشار آن در خون می‌تواند دلیلی برای این تناقض باشد. نتایج پژوهش نشان داد یک جلسه تمرین دایرهای مقاومتی با شدت های پایین و متوسط به بالا، بر میزان s1p پلاسما در زمان‌های قبل از تمرین، بعد از تمرین و ۲۴ ساعت بعد از تمرین تاثیر معنی‌داری نداشته است (p=۰/۹۷۳). در گروه ۲۰ درصد سطح s1p بعد از تمرین کاهش ناچیز داشت و پس از ۲۴ ساعت به پایین‌تر از سطح پایه رسید. در گروه ۶۰ درصد نیز بعد تمرین و ۲۴ ساعت بعد تمرین افزایش اندک در سطح s1p مشاهده شد. در تحقیق بارانوفسکی و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز آزمودنی ها که با شدت ۶۵ درصد بر روی ارگومتر قایقرانی فعالیت کردند، سطح s1p پلاسما به صورت صعودی تا ۶۰ دقیقه فعالیت افزایش کمی داشت. همان گروه اثر شدت تمرین را بر میزان s1p پلاسما بررسی نمودند. در پژوهش آنها آزمودنی ها جمع کردن یک پا را با شدت‌های ۲۵، ۵۵ و ۸۵ حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. پس از ۳۰ دقیقه فعالیت در شدت ۲۵ درصد، میزان s1p پلاسما کاهش و در شدت ۸۵ درصد افزایش یافت. این یافته با نتیجه گروه ۲۰ درصد و ۶۰ درصد پژوهش حاضر همخوانی دارد. بنابراین احتمالا شدت تمرین بر میزان تغییرات s1p پلاسما تاثیر دارد و تنها در شدت بالاتر افزایش می‌یابد. این افزایش با افزایش سطح اسفنگوزین پلاسما همراه است. میزان اسفنگوزین عضله فعال در شدت ۸۵ درصد زیاد شد. بنابراین افزایش اسفنگوزین به عنوان پیش ساز s1p در عضله و متعاقب آن افزایش در سطح گردش خون، می‌تواند افزایش s1p پلاسما در شدت بالا را توجیه نماید (۳). سلولهای اندوتلیال عروقی علاوه بر تولید s1p، قادر به تجزیه آن هم هستند. این سلولها از طریق فعالیت لیپید فسفات فسفوریلاز، اسفنگوزین یک فسفات را تجزیه می کند (۱۶۶). ورزش تعامل بین تخریب و انتشار s1p در اندوتلیال عروقی را تغییر می‌دهد (۱). بنابراین، علت عدم افزایش s1p در پلاسما بعد از تمرین و همچنین کاهش آن حتی پایین‌تر از سطح پایه بعد از ۲۴ ساعت ریکاوری می‌تواند به دلیل فعالیت تخریبی اندوتلیال بر این اسفنگولیپید باشد. در پژوهش هادن و همکاران همانند پژوهش حاضر در دوره ریکاوری سطح s1p پلاسما کاهش یافت. آنها بیان نمودند دلیل این کاهش می‌تواند کاهش s1p متصل به آلبومین باشد (۱۵). اخیراً نشان داده شده است که کبد اولین اندام مسئول پاکسازی s1p از خون است که تغییرات سریع این اسفنگولیپید در گردش خون را توضیح می‌دهد(۱۶۷). کاهش سطح s1p پس از ریکاوری می‌تواند به دلیل نقش کبد در تخریب آن باشد. مشاهدات اخیر نشان می‌دهد که ورزش بر متابولیسم s1p در سایر بخش‌های گردش خون نیز تأثیر می‌گذارد. محتمل‌ترین بخش‌ها، بسترهای عروقی ریوی و کبدی هستند که محل‌های اصلی تخریب و آزادسازی s1p در گردش هستند (۱۷). نتایج پژوهش نشان داد میزان HDL s1p در زمان‌های اندازه‌گیری بعد از یک جلسه تمرین دایره‌ای مقاومتی با ۲ شدت مختلف تغییر معنی‌داری نداشته است (p=۰/۳۴۳). در گروه ۲۰ درصد، سطح s1p بعد از تمرین و پس از ۲۴ ساعت ریکاوری افزایش داشت. لیکن در گروه

۶۰ درصد، کاهش s1p در HDL مشاهده شد. پژوهش‌های زیادی در خصوص تغییرات سطح s1p متصل به HDL پس از یک نوبت فعالیت انجام نشده است. هادن و همکاران در پژوهش سال ۲۰۲۴ گزارش کردند یک نوبت تمرین دوچرخه‌سواری با شدت فزاینده تا خستگی، افزایش سطح HDL-s1p را در افراد تمرین کرده نشان داد. کازیاک و همکاران در سال ۲۰۱۸ در پژوهشی هشت هفته تمرین استقامتی بر روی یک ارگومتر قایقرانی با شدت بین ۶۰ تا ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی برای سه جلسه ۶۰ تا ۷۰ دقیقه در هفته را بر روی آزمودنی‌های تمرین نکرده اجرا نمودند. نتایج نشان داد سطح s1p پلاسما افزایش و سطح اسفنگوزین پلاسما کاهش معنی‌دار داشت. در سطح s1p متصل به HDL نیز افزایش معنی‌دار مشاهده شد. آنها نتیجه گرفتند افزایش s1p پلاسما به طور کامل ناشی از افزایش مقدار s1p متصل به HDL بود. آنها این موضوع را با توجه عدم تغییر میزان آن در LDL و LPDP بیان نمودند. این تغییرات با فعال شدن اسفنگوزین کیناز در گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها و افزایش انتشار S1P از گلبول‌های قرمز همراه بود (۱۷). HDL پذیرنده ترجیحی S1P است که توسط گلبول‌های قرمز آزاد می‌شود. این لیپوپروتئین در مقایسه با آلبومین، LDL یا VLDL القاکننده بسیار قوی‌تری برای خروج S1P از گلبول‌های قرمز است (۶). بیماران مبتلا به کم‌خونی، کاهش انتخابی S1P متصل به HDL در پلاسما را نشان می‌دهند که با تزریق گلبول قرمز معکوس می‌شود (۲۸). مطابق پژوهش کازیاک و همکاران، در پژوهش حاضر نیز افزایش S1P متصل به HDL، ایجاد شد. این داده‌ها در صورتی قابل توجیه است که HDL بتواند S1P بیشتری را نسبت به شرایط معمولی حمل نماید. نسبت مولی بین ApoM پلاسما و S1P مرتبط با HDL تا ۳:۱ بالا بود (۹). ستلر و همکاران در پژوهشی در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که تزریق پلاسمای انسانی با گلبول‌های قرمز بارگذاری شده با S1P می‌تواند غلظت این اسفنگولیپید را در HDL تا ٤ برابر افزایش دهد (۲۷). درگروه تمرین مقاومتی با شدت ۲۰ درصد، افزایش S1P متصل به HDL مشاهده گردید. این افزایش بعد از تمرین نیز به صورت صعودی ادامه یافت. سطح HDL s1p در زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین حدود ۵۰ درصد از سطح پایه آن بیشتر بود. همانطور که قبلا اشاره شد، گلبول‌های قرمز به عنوان منبع مهمی از s1p پلاسما در نظر گرفته می‌شوند. در گروه ۲۰ درصد، سیر صعودی افزایش s1p بعد از تمرین و در دوره ریکاوری، در اریتروسیت و HDL همبستگی نزدیکی داشت. در اریتروسیت نیز در دوره ریکاوری سطح s1p حدود ۶۰ درصد زیاد شد. نکته جالب توجه اینکه در همین گروه در میزان s1p پلاکت در زمان ۲٤ ساعت بعد تمرین نسبت به سطح پایه کاهش مشاهده شد. بنابراین می‌توان بیان کرد احتمالا s1p تولید شده توسط اریتروسیت نقش مهمی در افزایش s1p متصل به HDL دارد. ضمنا با توجه به اینکه تفاوت قابل توجهی در محتوای s1p پلاسما در گروه‌های تمرینی در زمان‌های بعد تمرین و ریکاوری مشاهده نشد می‌توان بیان کرد احتمالا قسمت عمده s1p آزاد شده از منابع تولیدی به ناقل‌های آن و به طور اخص HDL متصل می‌گردد. بیان شده است که تغییرات متوسط در محتوای s1p در HDL با تغییرات قابل توجهی در ظرفیت محافظتی قلبی این لیپوپروتئین همراه است (۷). مطالعات انجام شده نشان داده است که s1p متصل به HDL یک عامل محافظت کننده قلبی قوی است (۲۶). علاوه بر این، ستلر و همکاران در سال ۲۰۱۵ دریافتند که اختلال عملکرد HDL در بیماری عروق کرونر با کاهش محتوای s1p مرتبط است و

می‌توان آن را با بارگیری s1p اصلاح کرد. مزایای ورزش هوازی در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی‌عروقی کاملاً ثابت شده است (۵). بنابراین، با توجه به نتایج مطالعه حاضر، انجام تمرینات مقاومتی با شدت پایین نیز می‌تواند با افزایش s1p متصل به HDL بر اثرات محافظتی آن بر قلب و عروق موثر باشد. این افزایش بعد از یک وهله تمرین و در دوره ریکاوری ۲۴ ساعته مشاهده شد. اثرات سازگاری آن در تمرینات چند هفته‌ای می‌تواند در پژوهش‌های آتی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

بنا بر نتایج پژوهش، مدت و شدت تمرین در میزان تغییرات اسفنگوزین یک فسفات در پلاسما و منابع تولیدی آن موثر خواهد بود. پیشنهاد می‌گردد در پژوهش‌های آتی، تغییر در زمان تمرین متعاقب تغییر در شدت، تعداد ایستگاه‌ها و زمان استراحت بین هر دور تمرین صورت پذیرد. ضمنا با توجه به تغییرات سطوح s1p پس از یک جلسه تمرین دایره‌ای مقاومتی، پیشنهاد می‌گردد، تغییرات در سطوح این لیپیدها در یک دوره چند هفته‌ای این نوع تمرین بررسی گردد.

منابع

1. Aoki S., Yatomi Y., Ohta M., Osada M., Kazama F., Satoh K., Ozaki Y., 2005. Sphingosine 1-Phosphate–Related Metabolism in the Blood Vessel. *Journal of biochemistry*, 138(1):47-55

2. Baranowski, M., Charmas, M., Długołęcka, B., Górski, J., 2011. Exercise increases plasma levels of sphingoid base-1 phosphates in humans. *Acta physiologica*, 203(3):373-380

3. Baranowski M., Błachnio Z.A.U., Charmas M., Helge J.W., Dela F., Książek M., Długołęcka B., Klusiewicz A., Chabowski, A., Górski, J., 2015. Exercise increases sphingoid base-1-phosphate levels in human blood and skeletal muscle in a time- and intensity-dependent manner. *European journal of applied physiology*, 115(5):993–1003.

4. Bergman B.C., Brozinick J.T., Strauss A., Bacon S., Kerege A., Bui H.H., Sanders P., Siddall P., Wei T., Thomas M. K., Kuo M.S., Perreault L. 2016. Muscle sphingolipids during rest and exercise: a C18:0 signature for insulin resistance in humans. *Diabetologia*, 59(4):785–798.

5. Blair S.N., Morris J.N., 2009. Healthy hearts--and the universal benefits of being physically active: physical activity and health. *Annals of epidemiology*, 19(4): 253–256.

6. Bode, C., Sensken S.C., Peest U., Beutel G., Thol F., Levkau B., van D.G .M., 2010. Erythrocytes serve as a reservoir for cellular and extracellular sphingosine 1-phosphate. *Journal of cellular biochemistry*, 109(6):1232-1243.

7. Brinck J.W., Thomas A., Lauer E., Jornayvaz F.R., Brulhart M.M.C., Prost J.C., Pataky Z., Löfgren P., Hoffstedt J., Eriksson M., Pramfalk C., Morel S., Kwak B.R., VanEck M., James R.W., Frias M. A., 2016. Diabetes Mellitus Is Associated With Reduced High-Density Lipoprotein Sphingosine-1-Phosphate Content and Impaired High-Density Lipoprotein Cardiac Cell Protection. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 36(5):817–824.

8. Cordeiro A.V., Silva V. R., Pauli J. R., da Silva A.S., Cintra D.E., Moura L.P., Ropelle E.R., 2019. The role of sphingosine-1-phosphate in skeletal muscle: Physiology, mechanisms, and clinical perspectives. *Journal of cellular physiology*, 234(7): 10047-10059.

9. Christoffersen C., Obinata, H., Kumaraswamy S.B., Galvani S., Ahnström J., Sevvana M., Dahlbäck B., 2011. Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(23):9613-9618.

enhances satellite cell activation in dystrophic muscles through a S1PR2/STAT3 signaling pathway. *PloS one*, *7*(5), e37218

19. Maceyka M., Harikumar K.B., Milstien, S., Spiegel S., 2012. Sphingosine-1-phosphate signaling and its role in disease. *Trends in cell biology*, 22(1):50-60.

20. Nikolova K.M.N., Reid M.B., 2011. Sphingolipid metabolism, oxidant signaling, and contractile function of skeletal muscle. *Antioxidants & redox signaling*, 15(9):2501-2517.

21. Okajima F. 2002. Plasma lipoproteins behave as carriers of extracellular sphingosine 1-phosphate: is this an atherogenic mediator or an anti-atherogenic mediator? *Biochimica et biophysica acta*, 1582(1-3):132–137.

22. Rashidlamir A., Ghanbari-niaki A., 2010. Effect of 8-week circuit training on lymphocyte AGRP gene expression in well-trained wrestlers. *Daneshvar*, 18(4):67-72. [In Persian]

23. Romero-Guevara R., Cencetti F., Donati C., Bruni P. 2015. Sphingosine 1-phosphate signaling pathway in inner ear biology. New therapeutic strategies for hearing loss? *Frontiers in aging neuroscience*, 7:60-73.

24. Roszczyc-Owsiejczuk K., Zabielski P., 2021. Sphingolipids as a Culprit of Mitochondrial Dysfunction in Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 12: 635175.

25. Sanllehí P., Abad J.L., Casas J., Delgado A. 2016. Inhibitors of sphingosine-1-phosphate metabolism (sphingosine kinases and sphingosine-1-phosphate lyase). *Chemistry and physics of lipids*, 197:69–81.

26. Sattler K., Levkau B., 2009. Sphingosine-1-phosphate as a mediator of high-density lipoprotein effects in cardiovascular protection. *Cardiovascular research*, 82(2):201–211.

10. Cooke W.H., Carter J.R., 2005. Strength training does not affect vagal–cardiac control or cardiovagal baroreflex sensitivity in young healthy subjects. *European journal of applied physiology*, 93(5-6):719-725

11. Donati C., Cencetti F., Bruni P., 2013. Sphingosine 1-phosphate axis: a new leader actor in skeletal muscle biology. *Frontiers in physiology*, 4:338-346.

12. Ghanbari N.A., Ardeshiri S., Aliakbari B.M., Saeidi A., 2016. Effects of circuit resistance training with crocus sativus supplementation on insulin and estradiol hormones response. *The Horizon of Medical Sciences*, 22(2):125-130. [In Persian]

13. Green C.D.; Maceyka M.; Cowart L.A., Spiegel S., 2021. Sphingolipids in metabolic disease: The good, the bad, and the unknown. *Cell Metab*., 33:1293–130.

14. Hänel P., Andréani P., Gräler M. H., 2007. Erythrocytes store and release sphingosine 1-phosphate in blood. *The FASEB Journal*, 21(4):1202-1209

15. Hodun K, Czuba M, Płoszczyca K .2024. The effect of normobaric hypoxia on acute exercise-induced changes in blood sphingoid base-1-phosphates metabolism in cyclists. *Biol Sport*., 41(2):37–45.

16. Książek M., Chacińska M., Chabowski A., Baranowski M. 2015. Sources, metabolism, and regulation of circulating sphingosine-1-phosphate. *Journal of lipid research*, 56(7):1271–1281.

17. Książek M., Charmas M., Klusiewicz A., Zabielski P., Długołęcka B., Chabowski A., Baranowski M., 2018. Endurance training selectively increases high-density lipoprotein-bound sphingosine-1-phosphate in the plasma. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 28(1):57-64.

18. Loh K. C., Leong W.I., Carlson M.E., Oskouian, B., Kumar, A., Fyrst H., Saba J.D. 2012. Sphingosine-1-phosphate

phosphate metabolism on the cell surface and in the extracellular space. *Cellular signalling*, 19(2):229-237.

32. Weske S., Vaidya M., Reese A., von W.L K., Keul P., Bayer J. K., Scatena M., 2018. Targeting sphingosine-1-phosphate lyase as an anabolic therapy for bone loss. *Nature Medicine*, 24(5):667-678.

33. Xia J. Y., Holland W. L., Kusminski C. M., Sun K., Sharma A. X., Pearson M. J., Scherer P. E., 2015. Targeted induction of ceramide degradation leads to improved systemic metabolism and reduced hepatic steatosis. *Cell metabolism*, 22(2):266-278.

34. Xiong Y., Yang P., Proia R.L., Hla T. 2014. Erythrocyte-derived sphingosine 1-phosphate is essential for vascular development. *The Journal of clinical investigation*, 124(11):4823–4828.

35. Xu R., Sun W., Jin J., Obeid L.M., Mao C., 2010. Role of alkaline ceramidases in the generation of sphingosine and its phosphate in erythrocytes. *FASEB J*, 24: 2507-251,

36. Yang J., Yu Y., Sun S., Duerksen-Hughes P.J. 2004. Ceramide and other sphingolipids in cellular responses. *Cell biochemistry and biophysics*, 40(3):323–350.

27. Sattler K., Gräler M., Keul, P., Weske S., Reimann C.M., Jindrová H., Kleinbongard P., Sabbadini R., Bröcker-Preuss M., Erbel R., Heusch G., Levkau B. 2015. Defects of High-Density Lipoproteins in Coronary Artery Disease Caused by Low Sphingosine-1-Phosphate Content: Correction by Sphingosine-1-Phosphate-Loading. *Journal of the American College of Cardiology*, 66(13):1470–1485.

28. Selim S., Sunkara M., Salous A.K., Leung S.W., Berdyshev E. V., Bailey A., Campbell C.L., Charnigo R., Morris A.J., Smyth S.S., 2011. Plasma levels of sphingosine 1-phosphate are strongly correlated with haematocrit, but variably restored by red blood cell transfusions. *Clinical science (London, England)*, 121(12):565–572.

29. Snider J.M., Luberto C., Hannun Y.A. 2019. Approaches for probing and evaluating mammalian sphingolipid metabolism. *Analytical biochemistry*, 575: 70-86

30. Takehara M., Bandou H., Kobayashi K., Nagahama M. 2020. Clostridium perfringens α-toxin specifically induces endothelial cell death by promoting ceramide-mediated
apoptosis. *Anaerobe*, 65, 102262

31. Tani M., Ito M., Igarashi Y., 2007. Ceramide/sphingosine/sphingosine 1-