تاثیر شناوری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی اسنتریک پاسخ های رشدی، التهابی و آسیب عضلانی عضله اسکلتیFHL موش های صحرایی

گلنوش صدق روحی [۱]✉، عباسعلی گائینی [۲]، محمدرضا کردی [۳]، مهدی هدایتی [۴]،مریم زرکش [۵]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی پردیس بین الملل کیش دانشگاه تهران
۲. استاد دانشگاه تهران
۳. دانشیار دانشگاه تهران
۴. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵. کارشناس مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله:۹۳/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۱/۲۶

چکیده

هدف:شناوری در آب سرد برای سرعت بخشیدن به بازیافت پس از تمرینات شدید و آسیب زا مورد توجه ورزشکاران قرارگرفته است. با توجه به اهمیت سلول های ماهواره ای و نقش پاسخ های التهابی در روند ترمیم، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر شناوری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی اسنتریک بر بیان ژن MyoD به عنوان شاخص فعال سازی سلول های ماهواره ای ،CK به عنوان شاخص غیر مستقیم آسیب و IL-6 و IL-10 بعنوان شاخص های التهابی در موش های نر بود. **روش شناسی:** ۳۰ سر موش جوان سالم ونژاد ویستار (دامنه وزنی ۱۰±۳۰۰ گرم) به طور تصادفی درپنج گروه شش تایی به عنوان نمونه انتخاب شدند. طرح تحقیق تجربی بود و آزمودنی ها پروتکل فعالیت ورزشی اسنتریک به مدت ۹۰ دقیقه را اجرا کردند. دو گروه دروهله های زمانی ۳ و ۴۸ ساعت بازیافت از فعالیت به همراه ۱۰ دقیقه شناوری در آب سرد و دو گروه با همان دوره های زمانی بازیافت بدون شناوری در آب سرد و یک گروه به عنوان کنترل بررسی شدند. تغییرات بیان ژن MyoD در عضله اسکلتی FHL و سطوح سرمی CK، IL-6 و IL-10در چهار گروه مقایسه شد. داده های بیان ژن با نرم افزار Rest و داده های سرمی با استفاده از آزمون T مستقل تجزیه و تحلیل شد. **نتایج:** نتایج نشان داد mRNA MyoD در گروه سه ساعت پس از فعالیت ورزشی اسنتریک همراه با شناوری در آب سرد افزایش یافت و سطوح IL-6 و IL-10 در این گروه نسبت به گروه سه ساعت بعداز فعالیت اسنتریک بدون شناوری در آب سرد کاهش معنی دار داشتند ولی تغییرات CK معنی دار نبود.تغییر معنی داری در mRNA MyoD و Ck, IL-6, IL-10 سرمی در ۴۸ ساعت پس از فعالیت اسنتریک همراه با شناوری مشاهده نشد. **بحث و نتیجه گیری:** بر اساس یافته های این تحقیق احتمالا استفاده از آب سرد در زمان بازیافت موجب فعال سازی سلول های ماهواره ای و کاهش پاسخ های التهابی درفاز اولیه آسیب پس از فعالیت ورزشی اسنتریک می شود.

کلید واژه‌ها: فعالیت ورزشی آسیب زا- فعالیت سلول های ماهواره ای- شناوری در آب سرد، التهاب

The effect of cold water immersion after eccentric exercise on myogenic, inflammatory and muscle damage responses In FHL skeletal muscle in rats

Abstract

Purpose: cold water immersion is considered to accelerate the recovery from damaging exercise for athletes. Given the importance of satellite cells and the role of inflammatory responses in regeneration process, the purpose of this study was to investigate the effect of cold water immersion on MyoD gene expression as an activation marker of satellite cells, CK as an indirect marker of damage and IL-6, IL-10 as inflammatory markers after eccentric exercise in male rats. **Methods:** 30 young and healthy male Wistar rats (Weight range= 300±10) were assigned randomly in 5 groups each consisting of 6 subjects. It was an experimental research and subjects participated in eccentric exercise protocol (90min). Then they were compared in tow groups with and without cold water immersion (10min), in 3 and 48 hours after exercise in changes of MyoD gene expression in FHL skeletal muscle and the level of serum CK,IL-6 and IL-10. We used Rest software for analyzing MyoD gene expression and independent T test for analyzing serum data's. **Results:** Results showed that mRNA MyoD has been increased three hours after eccentric exercise in cold water immersion group and the level of IL-6, IL-10 decreased significantly in that group in compare with the group of three hours after eccentric exercise without cold water immersion. There is no significant change in CK. There was no significant changes in mRNA MyoD and serum CK,IL-6,IL-10 in 48 hour after eccentric exercise and cold water immersion. **Conclusion**: Based on findings of the present study, cold water during recovery may cause the activation of satellite cells and decrease the inflammatory responses after eccentric exercise in early phase of damage**.**

Key words: damaging exercise- satellite cells- cold water immersion- inflammation

✉ **نویسنده مسئول:** گلنوش صدق روحی تلفن: ۰۹۱۲۲۰۳۳۹۹۵
آدرس: ؟؟؟
پست الکترونیکی g.sroohi@ut.ac.ir

مقدمه:

عضله اسکلتی ظرفیت بارزی برای سازگاری با نیازهای فیزیولوژیایی همانند رشد، تمرین و آسیب نشان می‌دهد. گروه کوچکی از سلول های میوژنیک تک هسته ای تمایز نیافته [۱-۳] تحت عنوان سلول های ماهواره ای در عضله اسکلتی بالغ وجود دارند که در این سازگاری ها نقش بسزایی دارند. این سلول ها در اطراف میوتیوب چند هسته ای و بالغ قرار دارند و توسط غشای پایه احاطه می شوند[۴] که اغلب خاموش هستند ولی در پاسخ به رشد، باز شکل گیری و آسیب(ایجاد آسیب عضلانی) جایی که پارگی در سارکولما، غشای پایه و بافت همبند اتفاق می افتد فعال می شوند و از بخش پروگزیمال تار عضله آسیب ندیده،زیر غشای پایه، به قسمت آسیب دیده مهاجرت می کنندتا در فرایند ترمیم شرکت کنند[۵و۶-۸]هر چند فعال شدن سلول های ماهواره ای بر اثر تمرین مقاومتی شدید نشان داده شده است(۱, ۲) اما نقش فعالیت ورزشی استریک وآسیب عضلانی بر فعال شدن و افزایش سلول های ماهواره ای نیز گزارش شده است[۹].حتی گزارش شده است پروتکل شدید دویدن در سراشیبی به اندازه ی یک فعالیت ورزشی مقاومتی شدید به تکثیر سلول ماهواره ای منجر می شود[۱۰].در حقیقت آسیب عضلانی ناشی از فعالیت ورزشی یک پاسخ ایمنی را در نتیجه نفوذ ماکروفاژها به ناحیه آسیب دیده آغاز می کند. نقش ماکروفاژها در فرایند ترمیم و ترشح عوامل سایتوکاینی بسیار مهم است چرا که در تنظیم منابع سلول های ماهواره ای درگیر می شوند[۵]. علاوه برنقشIL-6 درهایپرتروفی وتنظیم تکثیرسلولهای ماهواره ای ورشدهسته،نقش سازوکارSTAT3 / IL-6 نیزدرتکثیرسلول‌های ماهواره-ای اهمیت دارد[۱۱-۱۳]. در همین راستا افزایش در بیان , mRNA IL-6,mRNA IL-8 به دنبال دویدن در سراشیبی روی تردمیل گزارش شده است [۱۳]. همچنین انباشته شدن نوتروفیل ها، ماکروفاژها و IL-1Bبعد از یک جلسه فعالیت ورزشی استریک مشاهده شده است[۱۴, ۱۵]. از طرفی در جهت بررسی التهاب بعد از دوجلسه دویدن در سراشیبی، با دو هفته استراحت بین جلسات ،کاهش در IL-6و افزایش در IL-10 بعد از جلسه دوم در مردان تمرین نکرده مشاهده شد[۱۶, ۱۷].

هم چنین،از دیگر عوامل وابسته به آسیب عضلانی، افزایش فعالیت آنزیم های CK وLDH در دوره های زمانی گوناگون پس از فعالیت ورزشی گزارش شده است که در این بین افزایش تاخیری ومعنا دارآنزیم CK پلاسمایی پس از یک ونیم تا دوروز بعد از فعالیت ورزشی استریک یک الگوی دو مرحله ای (فازی) را برای فعالیت آنزیم معرفی می کند[۱۸]. فرایند ترمیم عضله اسکلتی در پستانداران با فرایند فرسایشی[1] مشخص می شود که هم زمان با آن، نکروز و پاسخ های التهابی در تارهای عضله فعال می شود. سپس، فعالیت سلول های میوژنیک برای تکثیر، تمایز و هم جوشی به تارهای نکروز شده در مرحله بازیافت ادامه می یابد تا ترمیم یا تشکیل تار جدید میسر شود[۱۹].بنا بر این، بازیافت پس از فعالیت های ورزشی آسیب زا جایگاه ویژه ای در برنامه تمرینی ورزشکاران دارد و چون ورزشکاران معمولا پس از این گونه فعالیت ها با پدیده کوفتگی تاخیری مواجه می شوند که با درد، آزردگی، و کاهش ظرفیت تولید نیرو همراه است[۲۰]، به دنبال روش های سریع بازیافت هستند.

از جمله روش های بازیافت که مورد استفاده ورزشکاران در این خصوص قرار گرفته است ، می توان به استفاده از سرما پس از فعالیت اشاره کرد. شناوری در آب سرد[2] (CWI) تکنیکی است که به جهت تسهیل در زمان بازیافت در محیط های حرفه ای ورزشی استفاده می شود. هرچند، این شیوه بازیافت درصورتی استفاده می شود که فواید و سازوکار عملکرد آن هنوز از نظر علمی به طورکامل روشن نشده است[۲۰-۲۳].سرما درمانی، مویرگ ها را تنگ می کند، و لذا نفوذپذیری مویرگ ها و جریان خون را کاهش می دهد و از این رو تورم و پاسخ التهابی را تضعیف می کند[۲۲]. کاهش تورم و التهاب با کاهش متابولیسم و تولید متابولیت ها همراه است که به نوبه خود درجه آسیب را کاهش می دهد. البته برخی محققان نشان داده اند کاهش التهاب فیزیولوژیایی پس از فعالیت ورزشی آسیب زا، به تضعیف سازگاری های ناشی از آن فعالیت منجر می شود[۲۴](۳). از طرف دیگر، انقباض عروقی ناشی از سرما، محصولات زائد را از ناحیه آسیب دور می کند و گرم شدن مجدد با جریان خون جدید، التیام را تسهیل می کند. استفاده از روش های گوناگون سرمادرمانی، پاسخ های فیزیولوژیایی دیگری از جمله کاهش دمای بافت ها، ضربان و برون ده قلب، و آثار بی حسی منجر به تغییر احساس درد را نیز به دنبال داشته است[۲۵, ۲۶]. با وجود این، به نظر می رسد تاثیر شناوری در آب سرد بر عملکرد ورزشی نتایج

متضادی داشته است. در این رابطه برخی محققان آثار مثبتی را نشان داده اند[۲۷, ۲۸] . در حالی که دیگران تغییرات چشمگیری را در عملکرد مشاهده نکرده اند[۲۲-۲۴].با وجود این بررسی پژوهش های پیشین نشان می دهد مطالعات بسیار اندکی به بررسی فعال سازی یا تکثیر سلول های ماهواره ای و فاکتورهای التهابی با استفاده از روش های مختلف استفاده علمی از آب در دوره های بازیافت پرداخته اند. فیاض میلانی و همکارانش (۲۰۱۱) تاثیر ۱۰ دقیقه شناوری در آب سرد (۱۰درجه) در بخش میوفیبریلی و سیتوزولی HSPدر سطح پروتیین و بیان ژن بعداز ۴۵ دقیقه دویدن در سراشیبی روی تردمیل در موش ها بررسی کردند. مهم ترین یافته این پژوهش نشان می دهد استفاده از غوطه وری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی، در بیان پروتئین HSP25 در عضله اسکلتی تاخیر ایجادمی‌کند. این یافته‌ها غیر مستقیم نشان می‌دهند استفاده از غوطه وری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی می‌تواند پاسخ عضله اسکلتی به آسیب ناشی از فعالیت ورزشی را افزایش دهد و دوره‌های بازیافت را به تعویق اندازد. به علاوه، به کارگیری شنا وری در آب سرد تاثیری در افت یا بهبود عملکرد آزمودنی ها نداشت[۵۷] . از سوی دیگر محمدنیا احمدی و همکارانش در سال(۲۰۱۴) تاثیر استفاده از آب سرد و آب با دمای طبیعی هنگام تمرین مقاومتی در موش ها نشان داد کاهش معنی دار مایوستاتین عضله FHL در گروه آب سرد و افزایش نسبت مایوستاتین به MyoD می تواند در افزایش قدرت موثر باشد[۵۸].

باتوجه به نقش سلول های ماهواره ای در دوره بازیافت و اهمیت سایتوکاین هادر ارتباط با التهاب و ارتباط آنزیم CKبه عنوان یک شاخص غیر مستقیم آسیب، دراین مطالعه استفاده از آب سرد متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی استریک نامتعارف ونقش آن در روند بازیافت سه و ۴۸ ساعت پس از فعالیت ورزشی بررسی می شود.

روش تحقیق:

روش پژوهش از نوع تجربی با مدل حیوانی است.جامعه آماری متشکل از موش های نر صحرایی نژاد ویستار (۱۴۸۴۸) موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی بودند. پس از یک هفته آشنایی با محیط زندگی و دو هفته آشناسازی با نوارگردان و حوضچه آب سرد، آزمودنی ها (۳۰ سر موش صحرایی) به طور تصادفی در پنج گروه شش تایی به عنوان نمونه مورد مطالعه قرار گرفتند. از این میان، یک گروه به عنوان کنترل، دو گروه در دو مرحله زمانی سه و۴۸ساعت بازیافت پس از فعالیت ورزشی آسیب زا و دو گروه در همان دومرحله زمانی پس از شنا وری در آب سرد به دنبال فعالیت ورزشی آسیب زا بررسی شدند. سه و ۴۸ ساعت به عنوان زمان های بازیافت جهت بررسی فاز اولیه و فاز ثانویه آسیب انتخاب شد.

شرایط نگهداری و سازگاری با محیط:

حیوانات به صورت چهارتایی در قفسهای تیپ ۳ مخصوص جوندگان نگه داری شدند. غذای حیوانات به صورت پلت و آب آشامیدنی روزانه در بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری مخصوص جوندگان در اختیار آنها قرار گرفت. دمای محیط بین ۱۹ تا ۲۳ درجه سانتی گراد و میزان رطوبت بین ۴۵ تا ۶۰ درصد کنترل شد. برای تنظیم چرخه روشنایی- تاریکی از تایمر خودکار استفاده شد. با درنظرگرفتن آنکه جوندگان در چرخه تاریکی فعال هستند، در این چرخه از نظر فعالیت ورزشی نیز عملکرد بهتری دارند. لذا، برای سهولت کار پژوهشگر، چرخه روشنایی- تاریکی حیوانات به مدت یک هفته معکوس شد. پس از انتقال حیوانات، برای سازگاری با شرایط جدید آزمودنی ها برای مدت یک هفته بدون هیچ مداخله‌ای در آزماشگاه حیوانات قرار گرفتند.در مجموع سازگاری با محیط، دو هفته در نظرگرفته شد.

آشناسازی با نوارگردان

برای آشناسازی حیوانات با نوارگردان، ۵ تا ۷ جلسه (روزانه به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر در دقیقه در شیب صفر درجه) برای راه رفتن و دویدن حیوانات درنظرگرفته شد. در این مرحله حیوانات با شوک بادی بر دویدن شرطی شدند. تلاش بر این بود که پدیده "ایستادن و رفتن[۳]" که در بیشتر موش ها رایج است در این دوره برطرف شود. در غیراین صورت ایستادن پیاپی حیوانات در مدت فعالیت ورزشی امکان استراحت را برای آن ها فراهم می‌کرد و امکان بررسی یک فعالیت ورزشی یکسان را در تمام آزمودنی ها از بین می‌برد. این مشکل از راه تکرار و شرطی سازی مناسب برطرف شد.

سازگاری با شنا وری در آب سرد

از آنجا که قراردادن حیوان در آب سرد یکی از روشهای

کلاسیک ایجاد استرس در جوندگان است، لازم بود که حیوانات به تدریج با غوطه وری در آب سرد سازگار شوند. لذا، در طول مدت سازگاری با نوارگردان حیوانات به صورت یک روز در میان در حوضچه قرارگرفتند. در جلسات اول دمای آب معادل دمای محیط (حدود ۲۰ درجه سانتی گراد) درنظرگرفته شد. تا استرس قرارگرفتن در آب و یک فضای بسته در حیوانات به حداقل برسد. زمان قرارگیری در حوضچه به تدریج از سه دقیقه به ۱۰ دقیقه رسانده شد. در این میان، دمای حوضچه نیز به تدریج طی جلسات کاهش یافت تا درنهایت حیوانات با قرارگرفتن در آب ۱۰ درجه تا حد امکان سازگار شوند.

پروتکل فعالیت ورزشی (دویدن در سراشیبی بر روی نوارگردان)

حیوانات برای مدت ۹۰ دقیقه در شیب منفی ۱۶ درجه و با سرعت ۲۰ متر دردقیقه دویدند. در این مدت به حیوانات اجازه داده نمی شد که به انتهای نوارگردان برسند تا بتوانند استراحت کنند. برای تحریک حیوانات برای دویدن از شوک بادی استفاده شد که نسبت به شوک الکتریکی آزارکمتری به حیوان می‌رساند و استفاده از آن مطابق با کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی است. اگر آزمودنی به هر دلیلی از دویدن امتناع می‌کرد، از مجموع آزمودنیها حذف می‌شد. به طور متوسط ۱۲ درصد آزمودنی ها از طرح تحقیق کنار گذاشته شدند[۱۸][۵۷] .

پروتکل شنا وری در آب سرد

بلافاصله پس از فعالیت ورزشی گروه های مورد نظر در آب سرد قرار گرفتند. تانک طوری طراحی شده بود که حیوانات تا ناحیه گردن در آب باشند بدون آنکه امکان شناکردن داشته باشند. دمای آب در ۱۰ درجه تنظیم شد. حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه در حوضچه می‌ماندند[۵۷].

نحوه نمونه گیری و نگهداری نمونه ها

در مراحل زمانی موردنظر، موشهای صحرایی با استفاده از کوکتل کتامین (۷۵میلی گرم / کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰میلی گرم / کیلوگرم) بیهوش شدند.پس از خونگیری از قلب(به میزان ۸cc) با جدا کردن قلب حیوانات معدوم شدند و بلافاصله عضله FHL حیوانات جدا شد. پس از نمونه گیری، نمونه‌های خونی سانتریفیوژ، سرم استخراج، و برای سنجش متغیرهای خونی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند. نمونه‌های عضلانی برای سنجش سطح mRNAپس از استخراج به سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفتند. عضلات تا زمان آماده سازی نمونه در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

سنجش میزان تغییرات بیان ژن MyoD عضله در سطح mRNA

نمونه های بافتی از عضله FHL موش های صحرائی جداسازی و وزن آن ها اندازه گیری شد. نمونه های جداسازی شده بلافاصله در ازت مایع منجمد شدند، به طوری که فاصله زمانی بین جداسازی تا انجماد کمتر از سه دقیقه باشد. سپس این نمونه ها جهت استخراج RNA به آزمایشگاه انتقال داده شدند.برای بررسی بیان ژن های مورد نظر با استفاده از تکنیک SYBER Green Real-time PCR، ابتدا RNA تام سلولی[۴] از بافت ها با استفاده از کیت محلول RNX-Plus (شرکت سناژن، ایران)، از عضله FHL موش های صحرایی بر اساس دستورالعمل های سازندگان، استخراج گردیدو واکنش رونویسی معکوس[۵] انجام شد و cDNA تولید شده، به عنوان نمونه DNA الگو[۶] برای انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. به علاوه RNA استخراج شده از بافت عضله به عنوان کنترل مثبت برای ژن GAPDHمورد آزمایش استفاده شد. در مرحله بعد RNA استخراج شد و نمونه حاوی RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

برای سنتز cDNA، ۱µl از RNA تام با استفاده از RevertAid M-MuLV و پرایمرهای random hexamer، نسخه برداری معکوس شد. برای تبدیل RNA به cDNA نیاز به پرایمری است که با mRNA هیبرید شود و توسط آنزیم DNA پلیمراز وابسته به RNA دنباله آن ساخته شود تا کپی cDNA ایجاد گردد. پرایمری که برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده می شود، می تواند به طور اختصاصی طراحی شود تا به یک ژن خاص هیبرید شود یا اینکه عمومی باشد و به همه mRNA ها متصل گردد. در این مطالعه، از پرایمر هگزامر تصادفی[۷] استفاده شده است.

روش کمی Real-time PCR

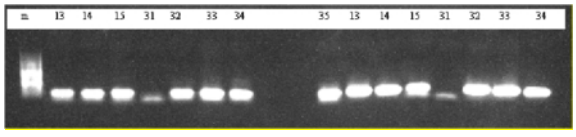
برای real-time PCR با استفاده از برنامه نرم افزاری Genrunner ورژن ۳.۰۵ (جدول ۳-۳) توالی پرایمرها انتخاب شدند. پرایمرهای استفاده شده برای ژن MyoD و

GAPDH از شرکت تکاپوزیست خریداری شدند. برای تثبیت کفایت پرایمرها، ۵ سری رقت از cDNAتهیه شد که دارای نسخه هائی ازMyoD و GAPDH (۱، ۱/۵، ۱/۲۵، ۱/۱۲۵ و ۱/۶۲۵) و کفایت ۰/۹ بود. برای انجام Real-Time PCR، ۲۰ µL از مخلوط اصلی دارای ۱۲/۵ µL از SYBR Green PCR Master Mix، ۱µL از پرایمر forward (۳۰۰nM)،۱µL از پرایمر reverse (۳۰۰nM)، و۸/۵µL آب تهیه شد، ۲ میکرولیتر از رقت های منحنی استاندارد یا cDNA معکوس نسخه برداری شده به مخلوط اصلی PCR اضافه شد تا یک حجم نهائی ۲۵ µL حاصل گردد.

جدول۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

نام پرایمر	توالی پرایمر
MyoD F	5'-AGCACTACAGCGGCGACT-3'
MyoD R	5'-AGGCAGTCTAGGCTCGACAC-3'
GAPDH F	5'-AGCAAGAGAGAGGCCCTCAGT-3'
GAPDH R	5'-TTGTGAGGGAGATGCTCAGTGT-3'

قبل از انجام Real-time PCR ابتدا به وسیله روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) توالی ژن هدف (MyoD) و ژن مرجع(GAPDH)تکثیرگردید. محلول واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ µl شامل ۱۰۰ ng DNA ژنومی،۴۰ Pmol از هر یک از پرایمر ها، ۱/۵mmol/L ,MgCl2 mmol/L dNTP۰/۲و ۰/۲۵ واحد از آنزیم Taq پلیمراز تهیه شد. تکثیر قطعه مورد نظر در دستگاه ترموسایکلر (شرکت Corbet، کشور استرالیا) طبق برنامه ذیل انجام گرفت. مرحله واسرشت اولیه در دمای C° ۹۵به مدت ۶ دقیقه، مرحله تکثیر (۳ سیکل) در دمای C° ۹۵ به مدت ۵۰ ثانیه، C°۶۰ به مدت ۴۵ ثانیه و C° ۷۲ به مدت ۵۵ ثانیه انجام شد. سپس، مرحله طویل‌سازی نهایی در دمای C° ۷۲به مدت ۵ دقیقه انجام شد. برای حصول اطمینان از تکثیر موفقیت آمیز قطعه ژنی مورد نظر، قطعات حاصل به روش الکتروفورز در ژل آگارز۱٪ قابل تفکیک بودند و قطعات DNA با دستگاه ژل خوان (شرکت Optico، کشور هلند) بررسی شدند (شکل یک).



شکل۱. تصویری از قطعات PCR شده ژن مورد بررسی

پروتکل PCR با استفاده از دستگاه Real-time PCRRotor-Gene 6000 (کوربت، سیدنی، استرالیا) و با دناتوراسیون ابتدائی (۵ دقیقه در ^{o}۹۵ سانتی گراد) و سپس ۳ مرحله تکثیر (۱۵ ثانیه در ^{o}۹۵ سانتی گراد و سپس ۶۰ ثانیه در ^{o}۵۹ سانتی گراد) که برای ۴۰ بار تکرار گردید، انجام شد. تعیین میزان Real-time بوسیله اندازه گیری فعالیت فلورسانس پایش شد. تفکیک، بوسیله گرمادهی آهسته نمونه ها از ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی گراد و یادداشت پیوسته کاهش در فلورسانس SYBR green، انجام گردید. چرخه آستانه (Ct)، چرخه ای است که در آن افزایش در فلورسانس برای اولین بار به بالای خط پایه رسیده که برای هر نمونه، تعیین شده است. سطوح mRNAMyoD بر پایه کفایت PCR و انحراف Ct از نمونه‌های ناشناخته در مقابل کنترل، تخمین زده شد. برای این آنالیز، GAPDH به عنوان ژن مرجع انتخاب شد. هر دور PCR، شامل کنترل بدون الگو و تکثیر نمونه های کنترل و آزمایشگاهی می‌باشد. برای کنترل ارزیابی داخلی از duplicate استفاده شد. سطوح بیان نسبی MyoD به وسیله نرم افزار رست بررسی شد.

همچنین برای سنجش غلظت های کراتین کیناز و سایتوکاین ها از روش الایزا و دستگاه ELISA Reader, SUNRISE, TECAN ساخت کشور اتریش و کیت های IL-6 با شماره کاتالوگ (SL0426Ra) و IL-10با شماره کاتالوگ (SL0415Ra) و CK با شماره کاتالوگ (PAD-CK96) استفاده شد.

روش های آماری

با استفاده از آزمون شاپیرو بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها ی حاصل از این مطالعه بررسی شد و بر اساس میانگین و انحراف استاندارد دسته بندی و توصیف شد. برای مقایسه تغییر CK و اینترلوکین ها در گروه شناوری درآب و بدون شناوری از آزمون تی مستقل استفاده شد. آزمونهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS16 اجرا شدند. برای بررسی معنی داری نتایج حاصل از بیان ژن از نرم افزار rest استفاده شد.

نتایج:

در جدول یک اطلاعات توصیفی مربوط به IL-6،CK و IL-10 در گروه های کنترل، فعالیت ورزشی و فعالیت ورزشی همراه با شناوری در آب سرد در سه ساعت و ۴۸ ساعت پس از فعالیت استریک ارائه شده است.

جدول ۱. اطلاعات توصیفی و مقایسه میانگین داده ها

متغیر ها	گروه ها	میانگین± انحراف استاندارد
CK (U/L)	کنترل	۱۵۴.۶۶۷±۴۴۶۸۲۶۹
	۳ ساعت بازیافت	۱۵۴.۵۰۰±۳۷.۲۵۹۹۰
	۳ ساعت بازیافت+ شناوری	۱۴۹.۸۳۳±۲۰.۴۰۹۹۶
	۴۸ ساعت بازیافت	۲۰۷.۶۶۶۷±۴۵.۴۱۶۵۹
	۴۸ ساعت بازیافت+ شناوری	۱۶۹.۲۰۰۰±۳۳.۹۸۸۲۳
IL-6 Pg/ml	کنترل	۱۱۳.۱۶۶۷±۴۶.۸۸۰۳۴
	۳ ساعت بازیافت	۲۷۹.۶۶۶۷±۷۰.۲۵۲۸۸
	۳ ساعت بازیافت+ شناوری	۱۸۹.۰۰۰۰±۵۷.۱۲۴۴۳
	۴۸ ساعت بازیافت	۱۹۸.۰۰۰±۱۰۹.۹۲۹۰۷
	۴۸ ساعت بازیافت+ شناوری	۱۳۸.۴۰۰۰±۳۴.۳۲۶۳۷
IL-10 Pg/ml	کنترل	۳۶.۸۸۳۳±۲۲.۰۷۰۷۴
	۳ ساعت بازیافت	۵۸.۳۳۳۳±۲۲.۳۳۸۳۷
	۳ ساعت بازیافت+ شناوری	۲۶.۹۶۶۷±۱۴.۷۰۷۱۰
	۴۸ ساعت بازیافت	۳۱.۷۳۳۳±۱۴.۸۰۴۵۵
	۴۸ ساعت بازیافت+ شناوری	۳۲.۶۱۶۷±۱۷.۲۶۸۱۷

بر اساس یافته‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از آزمون t مستقل بین میانگین CKبدست آمده از گروه فعالیت ورزشی استریک وشناوری در آب سرد در سه ساعت بازیافت (EX+CWI+3h)و گروه فعالیت ورزشی بدون استفاده از آب سرد در سه ساعت بازیافت(EX+3h)، اختلاف معناداری وجود ندارد (p=۰/۳۷۲). ولی میزان IL-6 و IL-10 در گروه (EX+CWI+3h) کاهش معنی داری نسبت به گروه (EX+3h) وجود داشت(p= ۰/۰۳۴) (p=۰/۰۱۷). همچنین میزان تغییرات CK سرمی (p=۰/۱۵۳)، IL-6 (p=۰/۲۷۷) ، IL-10 (p=۰/۹۲۶) در گروه ۴۸ ساعت بازیافت همراه با شناوری(EX+CWI+48h) نسبت به گروه ۴۸ ساعت بازیافت پس از فعالیت استریک بدون شناوری(EX+48h)معنی دار نبود.

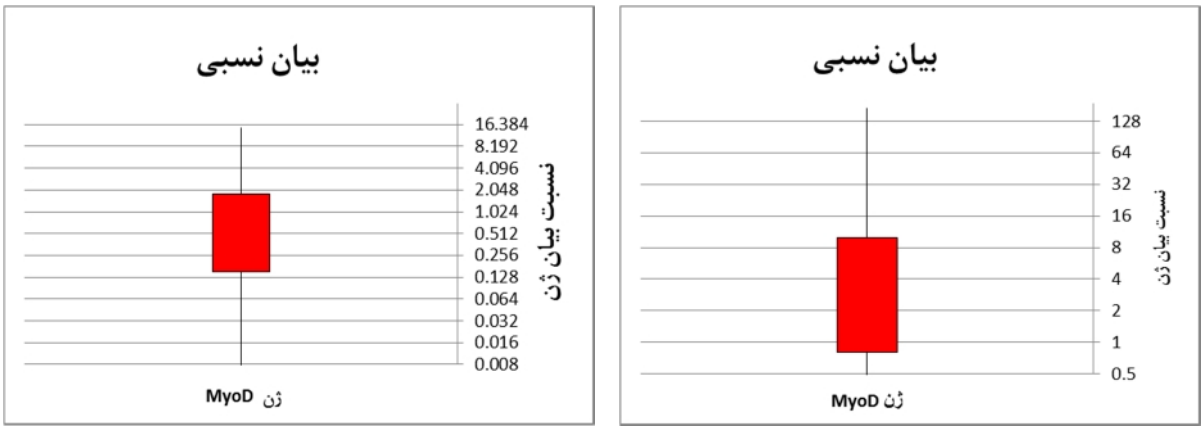
همچنین با توجه به جدول دونتایج نشان می دهد بیان ژنMyoD در گروه سه ساعت بازیافت پس ازفعالیت ورزشی استریک به همراه شناوری نسبت به گروه سه ساعت بازیافت بدون شناوری افزایش معنی داری داشته است. ولی در گروه ۴۸ ساعت تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

جدول۲. گزارش معنی داری بیان نسبی ژن MyoD در هر دو گروه نسبت به ژن مرجع GAPDH

مقایسه دوگروه	ژن	نوع ژن	بیان ژن	انحراف معیار	ارزش P	نتیجه نهایی
(EX+CWI+3h) نسبت به (EX+3h	MoD	هدف	۲/۸۷۹	۰/۷۵۷-۱۶/۳۳۶	۰.۰۲۲	افزایش معنی دار
	GAPDH	مرجع	۱/۰۰۰			
(EX+CWI+48h) نسبت به (EX+48h)	MyoD	هدف	۰/۴۶۷	۰/۰۱۴-۹/۷۸۹	۰.۱۸۹	معنی دارنیست
	GAPDH	مرجع	۱/۰۰۰			

سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ درنظرگرفته شده است.

با توجه به شکل دو می توان بیان ژن MyoD در سه ساعت بازیافت پس از فعالیت استریک به همراه شناوری در آب سرد را مشاهده کرد که تقریبا نسبت به گروه سه ساعت بازیافت بدون شناوری دو برابر شده است.ولی در نمودار سمت چپ تفاوت معنی داری در گروه ۴۸ ساعت مشاهده نمی شود.



شکل۲. نمودار سمت راست مقایسه بیان ژن در سه ساعت و نمودار سمت چپ مقایسه بیان ژن در ۴۸ ساعت بازیافت با و بدون شناوری

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتیجه افزایش بیان mRNA MyoD در گروه سه ساعت پس از فعالیت ورزشی استریک و شناوری در آب سرد نسبت به گروه بدون شناوری در همان زمان بازیافت از فعالیت ، می توان به نقش سرما در افزایش فعال سازی سلول های ماهواره ای و بهبود فرایند بازیافت پس از فعالیت ورزشی آسیب زا اشاره کرد. تا کنون پژوهش های گوناگونی درباره زمان فعال شدن سلول های ماهواره ای و اوج بیان مارکرهای آن(MyoDوMyf5) پس از فعالیت ورزشی انجام شده است[۲, ۴, ۲۹, ۳۰].پس از فعال شدن و ورود سلول های ماهواره ای به چرخه سلولی، به عنوان سلول های پیش ساز میوژنیک(mpc)[۸] شناسایی می شوند. در سطح مولکولی، فعال شدن mpc ها از راه تنظیم مثبت عوامل تنظیم گر میوژنیک(MRFs) به ویژه Myf5 و MyoD در ۱۲ ساعت پس از فعال شدن رخ می دهند[۱۹, ۳۱-۳۴]. برخلاف نتیجه تحقیق حاضر، مطالعه ای که کاوایی و همکارانش(۲۰۱۳) انجام دادنددر سه ساعت بازیافت از فعایت ورزشی وامانده ساز کاهش اندک در بیان mRNA MyoD در اسب ها گزارش شد ولی در یک هفته بازیافت این میزان به بالاترین مقدار خود رسید[۸].همچنین در مطالعات دیگری که بر روی فعالیت ورزشی استریک شدید و دویدن در سراشیبی بر روی مردهای جوان سالم انجام شد افزایش در pax7 و افزایش تعداد سلول های ماهواره ای در تار نوع II در ۲۴ ساعت بازیافت پس از فعالیت ورزشی مشاهده شد[۵۵,۱۰].

از آن جایی که کاهش IL-6 و IL-10 در سه ساعت پس از شناوری در نمونه های تحقیق مشاهده شده است نقش آب سرد در کاهش التهاب نیز تایید می شود. هرچند عدم تغییر معنی دار در CK در این تحقیق بحث برانگیز است، با توجه به افزایش معنی دار mRNA MyoD در گروه بازیافت همراه با شناوری در آب سرد در وهله زمانی سه ساعت نسبت به گروه بدون شناوری در سه ساعت بازیافت می توان استنباط کرد این نوع از فعالیت ورزشی موجب آسیب خفیف به سلول های عضلانی می شودوعوامل التهابی را افزایش و روند فعال سازی سلول های ماهواره ای را تحریک می کند. از آن جایی که IL-6 از طریق مسیر پیام رسانی JAK2/STAT3[۹] نقش کلیدی را در تکثیر سلول های ماهواره ای دارد[۱۲]، می توان استنباط کرد احتمالا آب سرد موجب کاهش IL-6 در گردش خون و باقی ماندن آن در عضله فعال FHL شده (که البته در این تحقیق میزان mRNA IL-6 در عضله FHL بررسی نشد) و منجر به افزایش فعال سازی سلول های ماهواره ای از طریق افزایش در بیان mRNA MyoD شده است که پیش نیاز برای ترمیم آسیب و سنتز پروتیین در فاز اولیه بازیافت خواهد بود.در مطالعه ای که پیلینگ و همکاران در سال (۲۰۱۲) برروی شناگران نخبه انجام دادند تاثیر استفاده متناوب از آب سرد و گرم در زمان بازیافت این ورزشکاران حاکی از کاهش اندک و غیر معنی دار در پاسخ سایتوکاین ها (IL-6) در فاز حاد پس از فعالیت ورزشی و نیز عدم تغییر عملکرد ورزشی در روز بعد بود. فعالیت ورزشی افزایشی در IL-6 که توسط عضلات فعال تولید می شود را میانجی گری می کند و احتمالا IL-6 هم اثرات پیش

التهابی و هم ضد التهابی دارد. پیشنهاد شده است که افزایش در IL-6 که پیش ساز تعدادی از پاسخ های تنظیم ایمنی، مثل افزایش در تولید IL-1 receptor antagonist و IL-10 توسط لنفوسیت ها، ماکروفاژها و میوسیت هاست، ممکن است نیاز به تنظیم مثبت هرکدام در عکس العمل التهابی شود. از سوی دیگر ، فعالیت پیش التهابی IL-6 منجر به فعال شدن سلول های T و تمایز سلول های B و تحریک تولید پروتیین فاز حاد توسط هپاتوسیت ها در کبد می شود. در نهایت، نقش چند عملکردی IL-6 در دوره های التهاب، این سایتوکاین را به عنوان یک شاخص معمول برای کمیت بخشیدن به شدت التهاب تبدیل کرده است[۳۵].بنابراین، کاهش در IL-10 به عنوان یک سایتوکاین ضد التهابی و کاهش معنی دار IL-6 در گروه سه ساعت بازیافت از فعالیت ورزشی استریک به همراه شناوری در آب سرد نسبت به گروه سه ساعت بازیافت بدون شناوری نشان از فعال بودن مسیر ضد التهابی در نمونه های تحقیق است.در واقع، عامل مهم دیگری که در انقباض استریک ممکن است به آسیب عضلانی منجر شود، افزایش دما است. وقتی وزن حیوان هنگام انقباض استریک بر عضلات فشار وارد می کند، دمای منطقه ای عضلات مخالف جاذبه احتمالا بیشتر از فعالیت مشابه کانسنتریک باشد[۳۶]. این افزایش دما می تواند درآسیبی که در بافت مشاهده می شود، نقش داشته باشد. احتمالا قابل پیش بینی است که فعالیت استریک در جوندگان باید تخریب را در عضلات افزایش دهداما آرمسترانگ(۱۹۸۳) نقش گرمای ایجاد شده از فعالیت استریک در افزایش آسیب را قطعی نمی داند[۱۸].فعالیت ورزشی با شدت بالا با استرس های متابولیکی یا مکانیکی که منجر به کاهش ظرفیت عملکردی عضله اسکلتی، التهاب و درد می شوند مرتبط است. از طرفی، افزایش دمای عضله هنگام فعالیت ورزشی علیرغم آثار نامطلوبی که بر عملکرد دارد، می تواند آثار فیزیولوژیایی مطلوبی نیز در پی داشته باشد. شناوری در آب سرد یا شکل های دیگر استفاده علمی از آبمعمولا به دنبال یک جلسه فعالیت ورزشی با شدت بالا برای سرعت بخشیدن به بازیافت استفاده می شود. با وجود این که استفاده علمی از آب در شکل های مختلفش با این که برای سال ها استفاده شده است هنوز سازوکارهای اساسی اثرات این گونه بازیافت از فعالیت ورزشی در ابهام باقی است(4). تغییر اساسی که از سرمادرمانی ایجاد می شود کاهش در دمای بافت است که متعاقبا اثرات محیطی بر خون، تورم سلول و متابولیسم و سرعت هدایت نرونی نمایان می شود. سرمادرمانی منجر به کاهش دمای مرکزی و تغییرات قلبی عروقی و غدد درون ریز می شود. یامانه و همکارانش(۲۰۰۶) نشان داده اند استفاده از استخر آب سرد پس از جلسات تمرین طی ۴ تا ۶ هفته برنامه تمرینی به طور چشمگیری سازگاری های ناشی از تمرین را تضعیف کرده است. آن ها نشان دادند این روش بازیافت می تواند با تضعیف تولید پروتئین های شوک حرارتی و تکثیر سلول های ماهواره ای که برای فرایند ترمیم و سازگاری ضروری اند با فرایند بازسازی تداخل ایجاد کند. این محققان نشان دادند تنظیمات مولکولی و هورمال فیزیولوژیایی ناشی از فعالیت ورزشی، از جمله هایپرترمی عضله، ناپایدار ولی برای ایجاد آثار تمرینی (نوسازی تارهای عضلانی، هایپرتروفی و بهبود ذخیره خونی عضله) ضروری اند. سرد کردن عضله بلافاصله پس از فعالیت ورزشی می تواند این فرایندهای وابسته به دما را تضعیف کند[۲۴]. همچنین فیاض میلانی و همکارانش در سال (۲۰۱۱) نشان دادند استفاده از غوطه وری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی استریک نامتعارف، در بیان پروتئین HSP25 در عضله سولئوس تاخیر ایجادمی‌کند و روند بازیافت را به تعویق می اندازد[۵۷].

عدم تغییر معنی دار در تفاوت بیان ژن MyoD در گروه ۴۸ ساعت بازیافت با و بدون شناوری حاکی از آن است که آب سرد در روند بازیافت و ترمیم عضلات آسیب دیده نقش موثری نداشته است هرچند میزان بیان ژن MyoD نسبت به گروه کنترل در هردوگروه افزایش معنی داری داشته است. تغییرات سرمی IL-6، IL-10 و CK در۴۸ ساعت پس از شناوری با وجود معنی دار نبودن بحث برانگیز است. چرا که در بیشتر مطالعات آسیب مرتبط با پاسخ سایتو کاین ها توسط افزایش غلظت IL-6، IL-10 و IL-1beta یک تا سه روز پس از فعالیت ورزشی استریک گزارش شده است و نشان می دهندافزایش IL-6 که توسط عضلات تولید می شود مرتبط با دمای بدن است و نقش کلیدی در فرایند ترمیم را دارد[۵و۱۲]. با توجه به مقاله مروری وایت و همکارانش(۲۰۱۳) تغییرات فیزیولوژیک به عنوان پتانسیل سازو کارهای ناشی از ماهیت همه نوع از آب درمانی در هدف کاهش دمای بافت برای سهولت در بازیافت حاد(۱-۵ روز) از فعالیت ورزشی شدید استفاده شده است[۲۵]. فعالیت ورزشی استریک شدید(شدت یا

مدت ویژه ای از فعالیت) باعث فشار نامتعارف به بدن می شود. بسته به طبیعت ویژه فعالیت ورزشی، فشار می تواند عمدتا متابولیکی، مکانیکی ویا ترکیبی از هردو باشد. به طور خلاصه، فعالیت ورزشی ابتدا فشار متابولیکی را به عضله اسکلتی فعال وارد می کندو در نتیجه فشار ایجادشده و تولید گرمادر افزایش تولید گونه های اکسیژن واکنشی(ROS) شرکت می کنند. ROSمی تواند ماهیت پروتیین ها، اسید های نوکلئید یا لیپیدها و ساختار سلول عضله [۳۷]را تغییر دهند و ساختارهای سیستم جفت شدن تحریک – انقباض[۳۸]را بی ثبات می کنند. آسیب به سیستم جفت شدن تحریک-انقباض جنبش پذیری انقباض را تغییر می دهد، به موجب آن ظرفیت تولید انرژی و عملکرد ورزشی کاهش می یابد، در حالیکه تخریب سارکولما تار عضلانی را نفوذپذیرتر می کند[۳۹]. تبدیل پایدار انرژی برای تکرار انقباض ها و فشار افزایش یافته درون عضلانی توسط هایپرمی اعمال می شود[۴۰] و همچنان می تواند فشار متوسط هایپوکسی بر تار عضلانی تحمیل کند که در حال افزایش تجمع متابولیت ها هستند[۴۱].همراه با آسیب ناشی از ROS و تورم تار عضله، پاسخ التهابی ناشی از فعالیت ورزشی آغاز می شود. با این وجود التهاب برای رفع آسیب ناشی از فعالیت ورزشی تار عضلانی لازم می شود، فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل ها و ماکروفاژها در آسیب عضلانی ثانویه شرکت می کنند[۴۲, ۴۳]. آسیب عضلانی ثانویه، آسیب ناشی از پاسخ التهابی فعالیت ورزشی است و نه خود جلسه فعالیت ورزشی به تنهایی وترکیبی از کوفتگی و کاهش ظرفیت تولید نیرو در ساعت ها و روزهای بعدازجلسه فعالیت ورزشی با شدت بالا است. سرما احتمالا بازیافت از فعالیت ورزشی پر فشار را از طریق کاهش دمای درون عضلات و متابولیسم تسهیل می کند[۴۳] علاوه بر این، برای کاهش فشار هایپوکسی، محدود کردن تولید ROS و آسیب بعدی[۴۴]، همچنین ایجاد انقباض عروق به منظور محدود کردن تورم[۴۳] و آسیب مرتبط با آن و کوفتگی می تواند موثر باشد. به طور معمول، فعالیت ورزشی استریک درجه فشار مکانیکی بیشتر و به دنبال آن آسیب عضلانی بیشتری در مقایسه با فعالیت ورزشی کانسنتریک یا ایزومتریک تولید می کند[۴۵]. آسیب به سلول ها، تورم ورهایی سایتوکاین ها از عضله ای که در معرض فشار مکانیکی است یک پاسخ التهابی را آغاز می کند، پتانسیل آسیب ثانویه افزایش می یابد و منجر به اختلال در عملکرد می شود. سرما نمی تواند آسیب اولیه ناشی از این نوع از فعالیت ورزشی را کاهش دهد.با وجود این، سرعت هدایت نرونی[۱۰] کاهش یافته و حساسیت به درد و اسپاسم(گرفتگی) محدود می شود[۴۶, ۴۷]، همچنین انقباض عروق موضعی موجب کاهش تورم می شود[۴۳] و پیام رسانی التهابی و پتانسیل آسیب ثانویه به تارهای عضله هم محدود می شود[۴۷] آب سرد احتمالا موجب کاهش تحریک فعال سازی مسیر هایی که منجر به آسیب ثانویه می شوند به عنوان یک ضد التهاب نقش داشته باشد. کاهش در آسیب نهایی ایجاد شده توسط عضله، میزان ترمیم لازم را برای رسیدن به شرایط ساختاری و عملکردی قبل از فعالیت ورزشی کاهش می دهد و بدان وسیله زمان بازیافت کوتاه می شود. هرچند، انباشت سلول های التهابی و ایجاد رادیکال های آزاد به آسیب بیشتری در سطح ساختارهای میوفیبریلی منجر می‌شود، اما در عمل نشان داده شده است حضور ماکروفاژها به تکمیل بازیافت عضله و تکثیر سلول های ماهواره‌ای کمک می‌کند[۳۶]. در واقع، استفاده از واژه آسیب در این مرحله و در تغییرات سلولی و ساختاری پس از فعالیت باید با احتیاط استفاده شود، زیرا این تغییرات بصورت طبیعی رخ می‌دهند تا فرایند سازگاری اتفاق بیافتد[۴۸]. بنابراین، یک تناقض میان استفاده علمی از آب برای کاهش سریع در التهاب به منظور تسهیل بازیافت از یک طرف و اثرات منفی ای که احتمالا منجر به کاهش پاسخ های ناشی از فشار فعالیت ورزشی می شود از طرف دیگر باید مورد توجه قرار گیرد.

هنگامی که یاناگی ساوا و همکارانش(۲۰۰۳) تاثیر ۱۵ دقیقه CWI در ۵درجه سانتی گراد به دنبال فعالیت ورزشی شدید را بررسی کردند، PH عضله(PH=۷.۲) بالاتر از عضلاتی بود که ۶۰ دقیقه بعد از فعالیت ورزشی سرد نشده بودند(PH=۷). از آن جایی که اسیدوز عضلانی یک عامل شرکت کننده در توسعه خستگی محیطی و عامل اختلال در ظرفیت تولید نیرو ی عضله است و ممکن است با سرما درمانی بعد از فعالیت ورزشی رها شود، احتمالا کنترل اسیدوز در افزایش کیفیت بازیافت کوتاه مدت موثر است[۴۹]. باوجوداین، این یافته باید با احتیاط ملاحضه شود که هرگونه اثر سودمندی از سرمای ناشی از ذخیره سازی مجدد PH می تواند از طریق ظرفیت عملکردی کاهش یافته عضلاتی که سرد شده اند پنهان شود[۵۰].

افزایش میزان فعالیت کراتین کیناز پس از فعالیت ورزشی می‌تواند غیرمستقیم آسیب زا بودن فعالیت ورزشی را نشان می‌دهد[۵۱-۵۳]. پیشنهاد شده است فعالیت CK سرمی با میزان نکروز در تار عضلات آسیب دیده، ارتباط مستقیمی دارد[۵۴]. هرچند، در برخی مطالعات دیگر نشان داده شده بین فعالیت سرمی CK و موجی شدن خط Z همبستگی معنی داری وجود ندارد[۴۸]. در مطالعه حاضر شاید به دلیل تعداد کم نمونه ها کاهش معنی داری در سطوح CK بعد از استفاده از شناوری مشاهده نشد ولی می توان نقش موثر پروتکل شناوری در آب سرد بر کاهش CK در ۴۸ ساعت بازیافت را نسبت به گروه بدون شناوری متذکرشد.

بنابراین با توجه به نقش فشار هیدروستاتیک آب که موجب کاهش پاسخ های التهابی می شود و نقش آب سرد که علاوه بر کنترل التهاب در تغییرات متابولیکی، انقباض عروق و کاهش ضربان قلب، می توان نقش سرما را در کاهش CK پس از سه و ۴۸ ساعت فعالیت ورزشی اسنتریک و شناوری در آب سرد موثر دانست. باوجوداین، به نظر می رسد IL-6 که نقش دوگانه ای به لحاظ فعال سازی سلول های ماهواره ای و کنترل التهاب دارد و IL-10 به عنوان یک سایتوکاین ضد التهابی در ساعات اولیه بازیافت می توانند با استفاده از تکنیک آب سرد کاهش یابند ولی باید در نظر داشت که هر کدام از این عوامل با پاسخ ها و سازگاری هایی که به دنبال آسیب ورزشی در بدن ایجاد می کنند می توانند نقش موثری در فرایند ترمیم و بازیافت در دراز مدت ایفا کنند. اطلاعات جمع آوری شده نشان می دهد روند نکروزدر دو روز بعد از فعالیت ورزشی اسنتریک به اوج می رسد، به همین دلیل، بسیار مشکل است که فرایند ترمیم وفرسایش را از یکدیگر متمایز کنیم[۱۸]. باوجود این به دلیل استفاده از پروتکل آسیب زا و افزایش بیان ژن MyoD در عضله تند انقباض FHL می توان نقش مثبت آب سرد در بهبود روند ترمیم در عضله مذکور را گزارش کرد و به ورزشکارانی که از برنامه های تمرینی اسنتریک و پلیومتریک استفاده می کنند ،با توجه به نظریه آسیب پذیری تارهای نوع II بیشتر از نوع I در این فعالیت ها[۵۵](۶) شاید بتوان پیشنهاد استفاده از آب سرد در زمان بازیافت را ارائه کرد. محققان در حیطه ایمونولوژی ورزشی پروتکل های متعددی رابرای پاسخ سایتو کاین ها به آسیب عضلانی بررسی کرده اند. در مقایسه با پاسخ های التهابی سلولی به آسیب ناشی از فعالیت ورزشی اطلاعات بسیار کمی درباره تغییرات سایتوکاین های موضعی و عملکردشان دردست است. اگرچه سایتوکاین ها و چموکاین ها عملکردهای متابولیکی، غدد درون ریز و ایمونولوژیایی را تنظیم می کنند، هنوز مشخص نیست که آنها یک دلیل برای آسیب ناشی از فعالیت ورزشی هستند یا محصول این آسیب[۱۱]؟ همانطور که انواع مختلف فعالیت ورزشی پاسخ های استرسی متفاوتی ایجاد می کنند، بازیافت مورد نیاز برای رسیدن به حالت قبل از فعالیت ورزشی نیز متفاوت است. این موضوع در مطالعات آینده باید توجه شود که سرما نمی تواند برکیفیت بازیافت همه نوع از فعالیت های ورزشی موثر باشد بنابراین ممکن است برای همه گونه فعالیت ورزشی مناسب نباشد. استفاده علمی از آب جهت بازیافت، با نظر به این که کدام یک از انواع فعالیت ورزشی می تواند از این روش بهره ببرد و کدام پروتکل استفاده از آب مناسب ترین نتیجه را در بازیافت خواهد گذاشت منتج به یک موضوع قابل بحث و بررسی شده است.

پی‌نوشت‌ها

1. Degenerative phase
2. Cold water immersion(CWI)
3. Stop & Go
4. Total RNA
5. Reverse Transcription
6. Template DNA
7. Random Hexamer
8. Myogenic precursor cells
9. Janus kinase2
10. neural conductance velocity (NCV)

منابع

1. Fornaro, M., et al. , (2013), Mechano Growth Factor peptide (MGF) has no apparent effect on muscle myoblasts or primary muscle stem cells. Am J Physiol Endocrinol Metab.
2. Mackey, A.L., et al., (2011), Strength training increases the size of the satellite cell pool in type I and II fibres of chronically painful trapezius muscle in females. J Physiol. 589(Pt 22): p. 5503-15.
3. Matheny, R.W., Jr., B.C. Nindl, and M.L. Adamo, (2010), Minireview: Mechano-growth factor: a putative product of IGF-I gene expression involved in tissue repair and regeneration. Endocrinology. 151(3): p. 865-75.
4. Spangenburg, E. and F. Booth, (2001), Invited editorial on "Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology". J Appl Physiol (1985). 91(2): p. 533.

induced muscle damage: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 8(4): p. e62356.
21. Duffield, R., (2008), Cooling interventions for the protection and recovery of exercise performance from exercise-induced heat stress. Med Sport Sci. 53: p. 89-103.
22. Goodall, S. and G. Howatson, (2008), The effects of multiple cold water immersions on indices of muscle damage. J Sports Sci Med. 7(2): p. 235-41.
23. Howatson, G., S. Goodall, and K.A. van Someren, (2009), The influence of cold water immersions on adaptation following a single bout of damaging exercise. Eur J Appl Physiol. 105(4): p. 615-21.
24. Yamane, M., et al., (2006), Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation. Eur J Appl Physiol. 96(5): p. 572-80.
25. White, G.E. and G.D. Wells, (2013), Cold-water immersion and other forms of cryotherapy: physiological changes potentially affecting recovery from high-intensity exercise. Extrem Physiol Med. 2(1): p. 26.
26. White, G.E., S.G. Rhind, and G.D. Wells, (2014), The effect of various cold-water immersion protocols on exercise-induced inflammatory response and functional recovery from high-intensity sprint exercise. European journal of applied physiology. 114(11): p. 2353-67.
27. Bailey, D.M., et al., (2007), Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. J Sports Sci. 25(11): p. 1163-70.
28. Burke, D.G., et al., (2001), Effects of Hot or Cold Water Immersion and Modified Proprioceptive Neuromuscular Facilitation Flexibility Exercise on Hamstring Length. J Athl Train. 36(1): p. 16-19.
29. Begue, G., et al., (2013), Early activation of rat skeletal muscle IL-6/STAT1/STAT3 dependent gene expression in resistance exercise linked to hypertrophy. PLoS One. 8(2): p. e57141.
30. Heinemeier, K.M., et al., (2012), GH/IGF-I axis and matrix adaptation of the musculotendinous tissue to exercise in humans. Scand J Med Sci Sports. 22(4): p. e1-7.
31. Cooper, R.N., et al., (1999), In vivo satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle. J Cell Sci. 112 (Pt 17): p. 2895-901.
32. Cornelison, D.D., et al., (2000), MyoD(-/-) satellite cells in single-fiber culture are differentiation defective and MRF4 deficient. Dev Biol. 224(2): p. 122-37.
33. Smith, C.K., 2nd, M.J. Janney, and R.E. Allen, (1994), Temporal expression of myogenic regulatory genes during activation, proliferation,
5. Hawke, T.J. and D.J. Garry, (2001), Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. J Appl Physiol (1985). 91(2): p. 534-51.
6. Jensen, J.H., et al., (201)2, Gene expression profiling of porcine skeletal muscle in the early recovery phase following acute physical activity. Exp Physiol. 97(7): p. 833-48.
7. Grubb, A., et al., (2014), IGF-1 colocalizes with muscle satellite cells following acute exercise in humans. Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme. 39(4): p. 514-8.
8. Kawai, M., et al., (2013), Muscle satellite cells are activated after exercise to exhaustion in Thoroughbred horses. Equine Vet J. 45(4): p. 512-7.
9. Dreyer, H.C., et al., (2006), Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. Muscle Nerve. 33(2): p. 242-53.
10. van de Vyver, M. and K.H. Myburgh, (2012), Cytokine and satellite cell responses to muscle damage: interpretation and possible confounding factors in human studies. J Muscle Res Cell Motil. 33(3-4): p. 177-85.
11. Paulsen, G., et al., (2012), Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? Exerc Immunol Rev. 18: p. 42-97.
12. Toth, K.G., et al., (2011), IL-6 induced STAT3 signalling is associated with the proliferation of human muscle satellite cells following acute muscle damage. PLoS One. 6(3): p. e17392.
13. Tomiya, A., et al., (2004), Myofibers express IL-6 after eccentric exercise. Am J Sports Med. 32(2): p. 503-8.
14. Akira, S., T. Taga, and T. Kishimoto,(1993), Interleukin-6 in biology and medicine. Adv Immunol. 54: p. 1-78.
15. Jonsdottir, I.H., et al., (2000), Muscle contractions induce interleukin-6 mRNA production in rat skeletal muscles. J Physiol. 528 Pt 1: p. 157-63.
16. Cornish, S.M. and S.T. Johnson, (2014), Systemic cytokine response to three bouts of eccentric exercise. Results Immunol. 4: p. 23-9.
17. Smith, L.L., et al., (2007), Changes in serum cytokines after repeated bouts of downhill running. Appl Physiol Nutr Metab. 32(2): p. 233-40.
18. Armstrong, R.B., R.W. Ogilvie, and J.A. Schwane, (1983), Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol. 54(1): p. 80-93.
19. Charge, S.B. and M.A. Rudnicki, (2004), Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. Physiol Rev. 84(1): p. 209-38.
20. Bieuzen, F., C.M. Bleakley, and J.T. Costello, (2013), Contrast water therapy and exercise

47. Swenson, C., L. Sward, and J. Karlsson, (1996), Cryotherapy in sports medicine. Scand J Med Sci Sports. 6(4): p. 193-200.
48. Malm, C., (2001), Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction? Acta Physiol Scand. 171(3): p. 233-9.
49. Yanagisawa, O., et al., (2003), Evaluations of cooling exercised muscle with MR imaging and 31P MR spectroscopy. Med Sci Sports Exerc. 35(9): p. 1517-23.
50. Shepherd, J.T., N.J. Rusch, and P.M. Vanhoutte, (1983), Effect of cold on the blood vessel wall. Gen Pharmacol. 14(1): p. 61-4.
51. Bassit, R.A., et al., (2010), Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. Eur J Appl Physiol. 108(5): p. 945-55.
52. Kyparos, A., et al., (2011), Effect of 5-day vitamin E supplementation on muscle injury after downhill running in rats. Eur J Appl Physiol.
53. Thompson, H.S., P.M. Clarkson, and S.P. Scordilis, (2002), The repeated bout effect and heat shock proteins: intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise in humans. Acta Physiol Scand. 174(1): p. 47-56.
54. Armstrong, R.B., O.R. W., and S.J. A. , (1983), Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. J. Appl. Physiol. 54(1): p. 80-93.
55. Cermak, N.M., et al., (2013), Eccentric exercise increases satellite cell content in type II muscle fibers. Med Sci Sports Exerc. 45(2): p. 230-7.
56. Chen, T.C., et al., (2011), Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. European journal of applied physiology. 111(2): p. 211-23.
57. Fayaz Milani R., (2011), Ricovery time course of HSPb1 gene expression variation in myofibrillar and cytosolic fractions of rat skeletal muscle following damaging exercise.[Ph.D Thesis]. Supervisor: Abbas ali Gaieini: Tehran university;p.37-77
58. Mohammadnia Ahmadi M., (2014), Effect of environmental temperature during resistance exercise on muscular growth adaptation in male rat after 8 weeks resistance training. [Ph.D Thesis]. Supervisors: Hamid Rajabi and Sattar Tahmasebi Enferadi: Kharazmi university

and differentiation of rat skeletal muscle satellite cells. J Cell Physiol. 159(2): p. 379-85.
34. Yablonka-Reuveni, Z. and A.J. Rivera, (1994), Temporal expression of regulatory and structural muscle proteins during myogenesis of satellite cells on isolated adult rat fibers. Dev Biol. 164(2): p. 588-603.
35. Peeling, P., et al., (2012), Recovery effects of hyperoxic gas inhalation or contrast water immersion on the postexercise cytokine response, perceptual recovery, and next day exercise performance. Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association. 26(4): p. 968-75.
36. Lapointe, B.M., P. Fremont, and C.H. Cote, (2002), Adaptation to lengthening contractions is independent of voluntary muscle recruitment but relies on inflammation. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 282(1): p. R323-9.
37. Powers, S.K. and M.J. Jackson, (2008), Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol Rev. 88(4): p. 1243-76.
38. Zembron-Lacny, A., et al. , (2010), Changes of muscle-derived cytokines in relation to thiol redox status and reactive oxygen and nitrogen species. Physiol Res. 59(6): p. 945-51.
39. Kendall, B. and R. Eston, (2002), Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. Sports Med. 32(2): p. 103-23.
40. Zhang, Q. and J. Styf, (2004), Abnormally elevated intramuscular pressure impairs muscle blood flow at rest after exercise. Scand J Med Sci Sports. 14(4): p. 215-20.
41. Ebbeling, C.B. and P.M. Clarkson, (1989), Exercise-induced muscle damage and adaptation. Sports Med. 7(4): p. 207-34.
42. Butterfield, T.A., T.M. Best, and M.A. Merrick, (2006), The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. J Athl Train. 41(4): p. 457-65.
43. Ihsan, M., et al., (2013), Influence of postexercise cooling on muscle oxygenation and blood volume changes. Med Sci Sports Exerc. 45(5): p. 876-82.
44. Puntel, G.O., et al., (2011), Therapeutic cold: An effective kind to modulate the oxidative damage resulting of a skeletal muscle contusion. Free Radic Res. 45(2): p. 125-38.
45. Malm, C., et al., (2004), Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. J Physiol. 556(Pt 3): p. 983-1000.
46. Herrera, E., et al., (2011), Effect of walking and resting after three cryotherapy modalities on the recovery of sensory and motor nerve conduction velocity in healthy subjects. Rev Bras Fisioter. 15(3): p. 233-40.