

שריר הסרעפת - הוא לא רק שריר נשימה

פרופ' אלי כרמלי¹, ד"ר עינת קודש², ד"ר מירי מאור³

1. החוג לפיזיותרפיה, אוניברסיטת תל-אביב
2. החוג לפיזיותרפיה, אוניברסיטת חיפה
3. ביה"ס לרפואת שיניים, אוניברסיטת תל-אביב

תקציר

רקע: שריר הסרעפת הוא למעשה שני שרירים הנבדלים זה מזה מבחינה מבנית, פיזיולוגית ותפקודית. החלק הקדמי (סטרנלי) של השריר מעורב בפעולת הנשימה בעוד שחלקו האחורי (קרורלי) פועל כשריר סוגר (ספינקטר) לושט המונע רפלקס מהקיבה לושט.

מטרת המחקר: לבדוק את השפעת הריצה על שני החלקים השונים בשריר הסרעפת.

שיטות המחקר: חולדות (n=13) צעירות בנות 4 חודשים, נחשפו לאימוני ריצה בהדרגה לאחר שחולקו לשלוש קבוצות. קבוצה I: רצה במשך 3 שבועות בקצב של 18 מטר לדקה, החל מ 15 דקות, וכל יום נוספו שתי דקות עד שהגיעו (לאחר 15 ימי אימון) ל-45 דקות ריצה בסוף השבוע השלישי. קבוצה II: רצה במשך 3 שבועות בקצב 32 מטר לדקה, החל מ 15 דקות, וכל יום נוספו שתי דקות עד שהגיעו (לאחר 15 ימי אימון) ל-45 דקות ריצה בסוף השבוע השלישי. קבוצה III: רצה רק שבוע אחד ולאחר מכן שימשה כקבוצת ביקורת. מייד לאחר סיום הריצה האחרונה הורדמו החיות ושריר הסרעפת הוצא. משני חלקי שריר הסרעפת נערכו ניתוחים ביוכימיים ברמת חלבון (באמצעות Blot Western) וברמת המסנג'ר RNA באמצעות Reverse Transcriptase Chain Poly-Matrix Metalloproteinase (PCR-RT) של האנזים (MMP-2 type 2) וכן נבדקה רמת הפעילות הספציפית של האנזים (Copper-Zinc Superoxide Dismutase (Cu Zn SOD-1)).

תוצאות: רמות הפעילות של האנזים CuZnSOD פחתו באופן משמעותי בשריר הסרעפת האחורי לאחר ריצה מהירה בעוד שרמות האנזים נשארו ללא שינוי בשריר הסרעפת הקדמי. רמת החלבון והמסנג'ר של MMP-2 עלתה לאחר ריצה איטית ומהירה ובעיקר בשריר הסרעפת האחורי.

דיון: שריר הסרעפת האחורי שונה משריר הסרעפת הקדמי והוא בנוי בעיקר מסיבי שריר המסווגים כסוג IIb והם אינם בעלי יכולת הסתגלות לריצות ממושכות.

מבוא

הסרעפת האנושית מוזכרת באופן שיגרתי ומסורתי כשריר נשימה. אולם, מעבודות שפורסמו לאחרונה עולות ראיות לכך שנכון יותר יהיה לתאר את שריר הסרעפת כשני שרירים הנפרדים זה מזה במבנם ובתפקידם: האחת - הסרעפת הסטרנלית או הקוסטלית (sternal or costal diaphragm) שנצמדת לצלעות ולעצם החזה והסרעפת השנייה - המותנית או הקרורלית (Crural diaphragm) שנצמדת לשלשת החוליות המותניות הראשונות.¹ שונות זו בין שני חלקי השריר הוצגה בעבר ביונקים² והיא מציינת "שני שרירים שונים בתוך שריר אחד". הסרעפת הסטרנלית היא רק שריר נשימתי המורכב ממרקם סיבי בעלי יכולת חימצון גבוהה וגליקוליזה נמוכה (סיבים המוגדרים מסוג Ia), בעוד שהסרעפת המותנית (Crural diaphragm) המורכבת מסיבים בעלי יכולת גליקולית מצויינת (סיבים מסוג IIb), היא בעיקר שריר הפועל כ'ספינקטר חיצוני' במערכת העיכול.³

מקור התפתחותם (פילוגנזה) של שני שרירים אלה במהלך המיוגנזה (התפתחות השריר) הנו שונה לחלוטין. הסרעפת הסטרנלית מתפתחת ממיובלסטטים שמקורם מסומיטים צוואריים מספר 3-5 שיוצרים שתי ממברנות המכונות 'פלאורה-פריטונאלית' אשר לתוך קפלים בתוכן חודר עצב הפרניק).⁴ בעבר ניטען שהמקור העוברי של שריר זה הוא ה-transversum septum. בניגוד לשריר הסטרנלי, השריר הקרורלי (crus ברבים, crural ביחיד, הפרוש: שוק, סרט או מיתלה) בנוי משני סרטים שהתפתחו במזנטרייה של הושט.

הסרעפת מעוצבת מוטורית ע"י עצב הפרניק המתפצל לשני ענפים עיקריים: ענף סטרנלי וענף קרורלי ולפיכך, יש מחד-גיסא, להתייחס לסרעפת כשני שרירים הנפרדים זה מזה, ולעצב הפרניק, מאידך-גיסא, לעצב אחד שהוא למעשה איחוי (fusion) של שני עצבים שונים.⁵ בעלי חיים רבים (כלב, חתול, חולדות, ועוד) עצבוב החלק הסטרנלי הוא תמיד משני סיגמנטים C5,6 או C4,5 בעוד שעצבוב החלק הקרורלי הוא תמיד חד-סיגמנטלי C7 או C6. בנוסף לכך, נמצא כי העצבוב התחושתי הפרופריוספטיבי ובמיוחד נוכחותם של סלילוני שריר (spindles muscle) כמכנו רצפטורים, קיים אך ורק בחלק הקרורלי.⁶ צביעות היסטוכימיות מצאו כי החלק הקרורלי מאופיין בעיקר (>75%) בסיבים המסווגים סוג IIb המאופיינים

השרירים שבתוכו.¹⁰ הסרעפת הקרורלית במספר בעלי חיים יונקים ואו בבני אדם פועלת רק כשריר עזר בנשימה. במספר משפחות של בעלי חיים כמו חולדה נורבגית, עכבר בית, שפן ניו זילנדי, 'חזיר גינאה' וסוס ידוע שהם אינם מקיאים (non-emetic/vomiting animals) והשריר הקרורלי אצלם פועל כמחסום לרפלוקס ובמניעת חזרה של חומציות קיבה ותוכן קיבה לוושט¹ החיות הללו פיתחו מנגנונים ואמצעים שונים לעקוף את חוסר יכולתם להקיא, אך האדם יכול להקיא. אולם, העובדה שהוא יכול לעמוד על ראשו לאחר שאכל ארוחה דשנה ועדין מזון לא יחזור חזרה אלי פיו או לוושט מעוררת מספר שאלות. הכיצד? אינטואיטיבית ברור לנו כי כנראה קיים שסתום אנטומי או מנגנון פיזיולוגי של ספינקטר בתחתית הוושט שאחראי לכך. ברור לנו כי שסתום או מנגנון זה הם ברוב הזמן בטונוס מוגבר, אך במצבים של הקאה מחד גיסא, או בליעה מאידך גיסא הם עוברים הרפיה. כלומר הקאה או בליעה הן פעולות רפלקטיביות, כאשר בזמן הקאה פורץ בכוח רב תוכן קיבה את ה'גבול' וחוזר לאחור. פעולת ההקאה מתאפשרת בגלל היכולת הנוירו-מכנית של האזור לעשות הפרדה (dissociation) בין שני חלקי הסרעפת, בה כמצוין למעלה, חלה הרפיה בשריר הקרורלי והתכווצות בשריר הסטרנלי. ולפיכך הסרעפת הקרורלית פועלת כ- external gastro-oesophageal spincter בעוד שהחלק הדיסטלי internal gastro-oesophageal spincter פועל כ- anti-reflux barrier ובעבודה משותפת ביניהם הם מהווים למעשה anti-reflux barrier של תוכן קיבה אל הוושט.¹¹ השריר במצב נורמלי נמצא בטונוס וכך הוא משמש כספינקטר למניעת החזרת מיצי קיבה חומציים לושט.

השפעת אימוני ריצה על שריר הסרעפת בבעלי חיים¹² ובבני אדם¹³ דווחה בהרחבה בספרות המקצועית. אולם ומאחר ולסרעפת שני חלקי שריר שונים, מטרת המחקר הנוכחית הייתה לנסות להשיב על השאלה מהי השפעה של אימון ריצה על שני שרירי הסרעפת השונים בקרב חולדות.

שיטות

קבוצת של חולדות צעירות בנות 4 חודשים (n=13) מן Sprague-Dawley, נחשפו לאימוני ריצה בהדרגה. בשבוע הראשון הן הסתגלו לריצה מידי יום על מסילה בקצב איטי של 15 מטר לדקה, מ- 5 דקות ריצה ביום הראשון וכל יום נוספו שתי דקות, כך שביום החמישי להסתגלות הן רצו 13 דקות. ואז חולקו הקבוצות לשלוש קבוצות: קבוצה I (n=5) רצה במשך 3 שבועות בקצב 18 מטר לדקה, החל מ- 15 דקות, ללא שיפוע, כאשר בכל יום נוספו שתי דקות עד שהגיעו (לאחר 15 ימי אימון) ל- 45 דקות ריצה בסוף השבוע השלישי. קבוצה II (n=5) רצה במשך 3 שבועות בקצב 32 מטר לדקה, ללא שיפוע, החל מ- 15 דקות, כאשר בכל יום נוספו שתי דקות עד שהגיעו (לאחר 15 ימי אימון) ל- 45 דקות ריצה בסוף השבוע השלישי. קבוצה III (n=3) לאחר השבוע הראשון של ההסתגלות לא רצה יותר קבוצה זו והיא שימשה כקבוצת ביקורת.

כלי המדידה כללו ניתוחים ביוכימיים ברמת חלבון (באמצעות Western Blot) וברמת המסנג'ר RNA באמצעות Reverse Transcriptase-Poly Chain Reaction (PCR-RT).

במהירות התכווצות מהירה וחזקה, בעוד שהסרעפת הסטרנלית מורכבת מפסיפס של סוגי סיבים שונים ובעיקר סוג, Ia. בנוסף, החלקים האפרנטיים של עצב הפרניק מקורם איננו בהכרח סרעפתי אלא מקורם מעורב והם מגיעים מהפריקארד, מהכבד, ומהוריד הנבוב העליון (superior cava vena). בצביעות אימונו-היסטוכימיות לאנזים NADPH דיפורזה, נמצא שבזמן בליעה מתרחשת הרפייה של הסרעפת הקרורלית בעקבות עלייה משמעותית של אנזים זה. ההסבר לכך נעוץ בכך שאנזים זה מצביע על נוכחות ופעילות גבוהים של מולקולת הניטריק אוקסיד (Nitric Oxide, NO) שתפקידה לבלום נירוטרנסמיטורים לאורך 'צומת עצב-שריר' ובכך למנוע את התכווצות הסרעפת הקרורלית בזמן בליעה.⁷

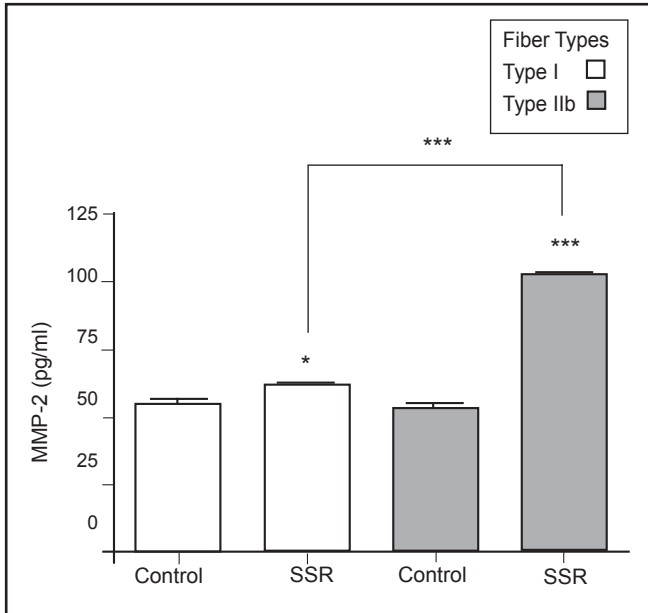
הסרעפת הקרורלית - ספינקטר חיצוני למערכת העיכול

השריר הקרורלי במצב נורמלי נמצא כל העת בטונוס מוגבר ובכך הוא משמש כספינקטר למניעת החזרת מיצי קיבה חומציים לושט. אולם, על מנת שאוכל יעבור מהושט אל תוך הקיבה הסרעפת הקרורלית מפסיקה להתכווץ באופן רגעי להתכווץ בתאום עיצבי עם שלב עצירה במעגל הנשימה, שלב זה מתרחש בסוף השאיפה ובכך מאפשר לבלע האוכל/ עיסת המזון (bolus) לחצות את הושט דרך פתח בשריר הסרעפת אל תוך הקיבה.⁸ דיכוי סלקטיבי זה של הסרעפת הקרורלית בשעת בליעה מצביעה על מנגנון רפלקטיבי משוכלל. במנגנון זה שותפים באופן מתואם מספר רמות של בקרה: בקרה מוטור-סנסורית שהיא בקרה נוירולוגית מרכזית, ובקרה היקפית שהיא מכנית. הבקרה העצבית מגיעה מהעצב התועה או הנודד (vagus nerve) שגרעיניו נמצאים במדולה של גזע המוח והעצב שולח סעיפים אפרנטיים לשריר הקרורלי ובכך שולט באופן ישיר על התכווצותו או הרפייתו. המנגנון המכני הוא מנגנון עקיף שנוצר בעקבות לחצים וושיטים של המזון העובר מהושט לקיבה. וכך, בזמן דחיפת עיסת המזון (הבולוס) לתחתית הושט קיימת הרפיה מוחלטת של השסתום הפיזיולוגי בצומת השריר 'ושט-קיבה' שמשרה גירוי מרפה כפול, האחד לשרירים האורכיים (שרירים חלקים) בקצה הדיסטלי בדופן הפנימית של הוושט, והגירוי השני המתרחש במקביל לראשון גורם להרפיה של הסיבים הטבעתיים (שרירים מוורטטים) השייכים לסרעפת הקרורלית. להרפיית הסרעפת הקרורלית ישנן ראיות בבדיקות באמצעות EMG על בני אדם התומכות בטענה ששריר זה איננו נמצא כלל בטונוס בזמן הקאה או בליעה, ופעילותו כספינקטר היא עצמאית ובלתי תלויה בשריר הסרעפת הסטרנלית.⁹

הסרעפת הקרורלית בזמן הקאה

ההקאה היא תהליך אינטגרטיבי מורכב בו מעורבים דרכי הנשימה העליונים, שרירי הבטן, דרכי עיכול ודרכי הנשימה. בזמן הקאה פועלים שני שרירי הסרעפת באופן מנוגד אחד לשני. ההקאה היא תהליך תלת-שלבי שבו בפאזה הראשונה קיימת התכווצות חזקה של שרירי הבטן והסרעפת הסטרנלית. התכווצות זו מעלה את הלחץ התוך-בטני. בפאזה שנייה, עוברת הסרעפת הקרורלית הרפיה באמצעות משוב ואגלי. מייד לאחר מכן, בפאזה האחרונה, יורד הלחץ בתחתית הושט תוך הרפיית

תמונה 2: רמת ביטוי של האנזים MMP-2 ברמת ה- mRNA לאחר ריצה איטית כפי שנבדקה באמצעות RT-PCR



פחתו באופן משמעותי ($p < 0.05$) בשריר הסרעפת האחורי לאחר ריצה מהירה בעוד שרמות האנזים נשארו ללא שינוי בשריר הסרעפת הקדמי (ראה טבלה 1), תוך מצג של הרס סיבי ועלייה במקרופגים כפי שהודגם במורפומטריה (לא מוצג במאמר זה).

ואולם לאחר ריצה מהירה התוצאות הצביעו על מגמה ברורה שגם קיבלה טבלה 1. השוואה בפעילות האנזים SOD-CuZn (יחידה/מ"ג חלבון)

השרירים	קבוצת בקורת	קבוצת ריצה מהירה	p	קבוצת ריצה מהירה	p
Crural diaphragm	10.9±2.0	11.2±2.4	NS	6.2±1.8	0.05
Sternal diaphragm	12.9±2.1	13.8±1.6	NS	13.3±2.0	NS

* $p < 0.05$

סימוכין במדידות המורפומטריות: החלק הסטרנלי הראה עלייה קלה ולא משמעותית של MMP-2 בעוד והחלק הקרורלי הראה עלייה ומשמעותית ($p < 0.05$) של MMP-2 (ראה תמונות מס 3,4).

שלו. נבדקו שני החלבונים הבאים: חלבון משתית (מטריקס) שנקרא מטלו-פרוטאין סוג 2 (MMP-2) Matrix type 2 שרמתו עולה במצבי תיקון וריפוי, ורמתו נמוכה במצבי תחזוקת משתית השריר. אולם מדוע כי רמתו עולה במידה ניכרת ובאופן משמעותי במצבי שריר פתולוגים כמו מיופתיות ודלקת שרירית.¹⁴ וכן נבדק האנזים שריד פתולוגים כמו מיופתיות ודלקת שרירית.¹⁴ וכן נבדק האנזים תוך-תאי בעל תפקיד ומשמעות עצומים של נוגד חמצון בתא.¹⁵ בנוסף, נערכו מדידות מורפומטריות באמצעות מיקרוסקופ אור ומיקרוסקופ אלקטרוני (ממצאים אלה לא יוצגו במאמר זה). לאחר שלושה שבועות של ריצה ובסה"כ 20 ימי ריצה (כולל ריצת ההסתגלות) הוקרבו החולדות ושני חלקי שריר הסרעפת, נותקו, הופרדו זה מזה בזהירות והועברו לניתוחים הביוכימיים והמדידות המורפומטריות. המחקר קיבל את אישורו מוועדת האתיקה לניסויי בעלי חיים באוניברסיטת תל אביב.

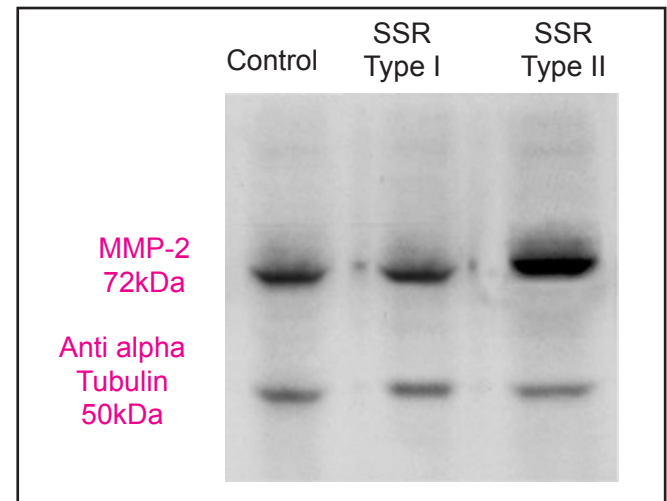
ניתוח סטטיסטי

המדד העיקרי אותו רצינו לבדוק היה ההבדל והשינוי בין קבוצות המחקר, שקיבלו תוכנית אימון, לבין קבוצת הביקורת, אשר לא קיבלה כל תוכנית אימון מיוחדת. לשם כך ביצענו מבחני זלא מזווג, עם הסתברות של $p < 0.05$. כל הניתוחים נעשו בתוכנת SPSS גרסה 12.

תוצאות

התוצאות מצביעות כי אצל חולדות לאחר ריצה בקצב איטירמות החלבון MMP-2 והמסנג'ר RNA של האנזים (הפרוטאזה) MMP-2 עלו מעט ולא באופן משמעותי (ראה תמונות מס' 1,2) בסרעפת הסטרנלית ולא חל שינוי בחלק הקרורלי. רמות הפעילות של האנזים CuZnSOD

תמונה 1: רמת חלבון לאחר ריצה איטית (Speed Slow) בדיקת Blot Western (SSR, Running) כפי שנצפתה באמצעות מדידות כמותיות

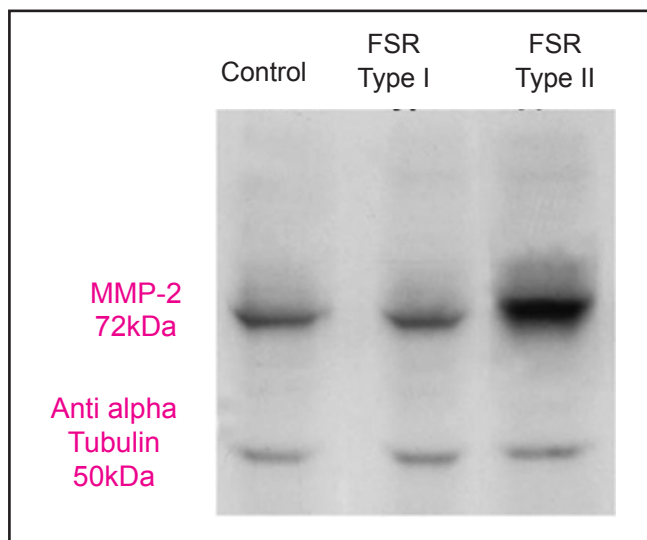


דין

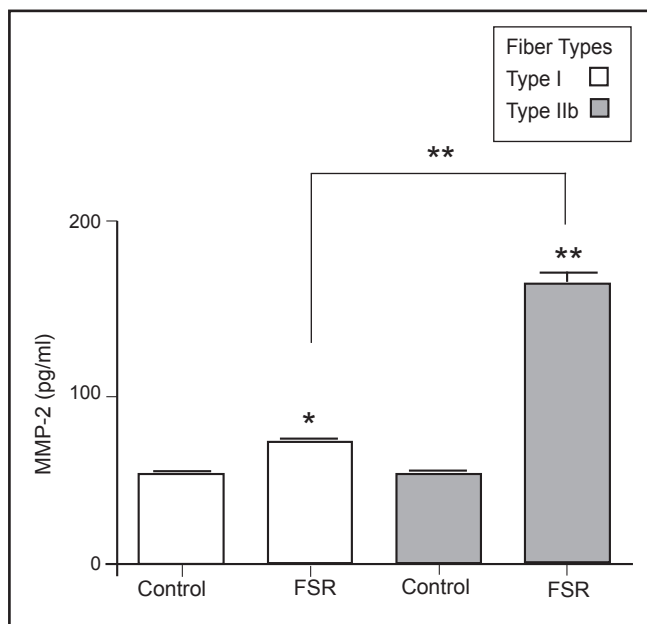
עיקר הממצאים של מחקר זה מצביעים כי ריצה מהירה (מעל 75% VO₂), במשך 5 ימים רצופים לשלשה שבועות עלולה לגרום לנזק ביולוגי ותפקודי לשריר הקרורלי בסרעפת. עלייה ברמות האנזים MMP-2 מצביעה על הרס הקולגן שהוא המרכיב העיקרי של משתית סיבי השריר, בעוד שירידה באנזים נוגד החמצון SOD CuZn מצביעה על ירידה ביכולת סיב השריר לעמוד כנגד מצב 'עקת חמצון' שנגרם ככל הנראה מהרס משתית הסיבים. שריר הסרעפת הקרורלי פועל בעיקר כסינרגסט ספינקטריאלי לושט אך הוא פועל כשריר עזר בנשימה רגילה. במאמץ פיזי בעל עצימות גבוהה, כאשר נדרשת נשימה מאומצת ולאורך זמן שריר זה עלול להיפגע. השריר הקרורלי מורכב בעיקר מסיבים "לבנים" איננו מורגל במאמצים קשים ומתמשכים¹⁶, ובשעת מאמצים ארוכים שריר זה מגייס יכולות אינזימטיות קטנות בלבד (פחות מ- 25% מהנדרש)¹⁷. בריצה מהירה השריר לא מספיק לתקן ולהחליף את המשתית החוץ תאי שלו (Extra Cellular Matrix) וזה בא לידי ביטוי בעלייה דרמטית של האנזים MMP-2 ובניסיון נואש לתקן ולהחליף את הקרום הפלזמטי שניזוק בשעת המאמץ הפיזי. הרס סיבי הקולגן (בעיקר קולגן סוג 4) סיב שריר בעל סיבים "לבנים" והסרקולמה מציינים את "תחילת הסוף" של הסיבים שניזוקו. סיבי שריר אלה המוגדרים כסוג IIb הם גדולים עד פי שתיים מסיבי השריר האחרים ולפיכך הם זקוקים לפעילות מוגברת של האנזים MMP-2. בנוסף, הציטופלסמה של סיבים אלה ענייה בתכולת אנזימים נוגדי חמצון כדוגמת SOD-2 (סופר אוקסיד תלוי יוני עופרת ואבץ) ושתי תכונות ביולוגיות אלה חושפות את הסיבים מסוג IIb לפגיעה בעת חשיפתם למאמצים קשים וממושכים¹⁸. סקוט פאורס ועמיתיו (1997)¹⁹ דיווחו כי יכולת השריר הקרורלי לעבור ממצב מנוחה למאמצים קשים וארוכים איננה טובה בגלל מבנה מרוכז ולא מבוזר של היחידות המוטוריות שאיננו מאפשר חלוקת עבודה בין סיבי השריר. לעומתם, סיבי השריר הסטרנלי בסרעפת הינם משופעים בסיבים מעורבים (סוג Ia) לא רק שהם לא ניזוקו מהמאמץ הפיזי אלא אף 'נהנו' ממנו ע"י עלייה ברמות האנזים נוגד החמצון SOD CuZn, עובדה המסמלת את יכולתם ועמידותם האירובית.

מסקנות המחקר מחזקות את הטענה שריצה מהירה עלולה לפגוע בסיבי השריר של הסרעפת הקרורלית וזה עלול לפגוע במנגנון הספינקטריאלי שלו דבר שעלול להביא לרפלקס לא מבוקר. תופעת הרפלקס שכיחה פי שתיים יותר בקרב ספורטאים הנתונים למאמצי נשימה ולחץ תוך בטני עצימים²⁰. ולפיכך, כאבים ברום הבטן בקרב ספורטאים יכולים להעיד על תופעת הרפלקס בגין חולשת ספינקטר הסרעפת. תופעה זו ניתנת לטיפול בהתאם לדרגת חומרתה באופן תרופתי או ניתוחי.

תמונה 3: רמת חלבון לאחר ריצה מהירה (Speed Fast Running, FSR) כפי שנצפתה באמצעות מדידות כמותיות בבדיקת Western Blot.



תמונה 4: רמת ביטוי של האנזים MMP-2 ברמת mRNA לאחר ריצה מהירה (Fast Speed Running, FSR) כפי שנבדקה באמצעות RT-PCR.



מקורות

1. Oyer L.M., Knuth S.L., Ward D.K., Barlett D. Jr. Patterns of neural and muscular electrical activity in costal and crural portions of the diaphragm. *J. Appl. Physiol.* 1989; 66(5):2092-100.
2. Pickering M., Jones J.F.X. The diaphragm: two physiological muscles in one. *J. Anat.* 2002, 201:305-312.
3. Power S.K., Criswell D. Adaptive strategies of respiratory muscles in response to endurance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1996; 28(9):1115-22.
4. Hammond C.G., Gordon D.C., Fisher J.T., Richmond F.J. Motor unit territories supplied by primary branches of the phrenic nerve. *J. Appl. Physiol.* 1989; 66(1):61-71.
5. Mantila C.B., Sieck G.C. Key aspects of phrenic motoneuron and diaphragm muscle development during the perinatal period. *J. Appl. Physiol.* 2008; 104(6):1818-27.
6. Holt G.A., Dalziel D.J., Davenport P.W. The transduction properties of diaphragmatic mechanoreceptors. *Neurosci Lett.* 1991; 122(1):117-21.
7. Grozdanovic Z., Gossrau R. Co-localization of nitric oxide synthase I (NOS I) and NMDA receptor subunit 1 (NMDAR-1) at the neuromuscular junction in rat and mouse skeletal muscle. *Cell. Tissue Res.* 1998; 291(1):57-63.
8. Van Herwaarden M. A., Samsom M., Smout A.J. The role of hiatus hernia in gastro-oesophageal reflux disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2004; 16(9):831-5.
9. Mittal R.K., Fisher M.J. Electrical and mechanical inhibition of the crural diaphragm during transient relaxation of the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1990; 99(5):1265-8.
10. Altschuler S.M., Boyle J.T., Nixon T.E., Pack A.I., Cohen S. Simultaneous reflex inhibition of lower esophageal sphincter and crural diaphragm. *Am. J. Physiol.* 1985; 249(5 Pt 1):G586-91.
11. Brizze K.R. Mechanics of vomiting. *Can. J. Physiol Pharmacol.* 1990; 68(2):221-9.
12. Powers S.K., Coombes J., Demirel H. Exercise training-induced changes in respiratory muscles. *Sports Med.* 1997; 24(2):120-31.
13. McConnell A.K., Romer L.M. Respiratory muscle training in healthy humans: resolving the controversy. *Int. J. Sports Med.* 2004; 25(4):284-93.
14. Carmeli E., Haimovitch T.G. The expression of MMP-2 following immobilization and high-intensity running in plantaris muscle fiber in rats. *Scientific World Journal.* 2006; 6:542-50.
15. Powers S.K., Lennon S.L. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.* 1999; 58(4):1025-33.
16. Sieck G.C., Fournier M.J. Diaphragm motor unit recruitment during ventilatory and nonventilatory behaviors. *Acta Physiol Scand.* 2003; 177(4):473-81
17. Vrabas I.S., Dodd S.L., Powers S.K., Hughes M., Coombes J., Fletcher L., Demirel H., Reid M.B. Endurance training reduces the rate of diaphragm fatigue in vitro. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1999; 31(11):1605-12.
18. Howald H., Hoppeler H., Claassen H., Mathieu O., Straub R. Influence of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in human. *Pflugers Arch.* 1985; 403:369-376.
19. Powers S.K., Demirel H.A., Coombes J.S., Fletcher L., Calliaud C., Vrabas I., Prezant D. Myosin phenotype and bioenergetic characteristics of rat respiratory muscles. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1997; 29(12):1573-9.
20. Norisue Y., Onopa J., Kaneshiro M., Tokuda Y. Surfing as a risk factor for gastroesophageal reflux disease. *Clin. J. Sport Med.* 2009; 19(5):388-93.