Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

بررسی اثر غوطه‌وری در آب سرد و معتدل هنگام اجرای فعالیت بر محتوای پلاسمایی پروتئین شوک گرمایی ($HSP_{۷۰}$) در موش‌های صحرایی نر پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی

محسن محمدنیا احمدی[۱*]، حمید رجبی[۲]، همایون مهروانی[۳]

۱- استادیار دانشگاه بیرجند

۲- دانشیار دانشگاه خوارزمی تهران

۳- دانشیار مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی

* نشانی نویسنده مسئول: خراسان جنوبی، بیرجند. انتهای بلوار شهید آوینی. دانشگاه بیرجند. دانشکده علوم ورزشی. گروه علوم زیستی

Email: m.m.ahmadi2005@birjand.ac.ir

وصول: ۹۴/۰۸/۰۱ اصلاح: ۹۴/۰۹/۱۴ پذیرش:۹۴/۱۱/۲۷

چکیده

مقدمه و هدف: استفاده از غوطه‌وری در آب سرد که یکی از روش‌های مورد توجه در بازیافت ورزشی محسوب می‌شود، با چالش‌هایی همچون محدودیت پاسخ $HSP_{۷۰}$ به فعالیت ورزشی به دلیل کاهش دمای بدن مواجه می‌باشد. بدین منظور پژوهش حاضر درصدد تعیین تأثیر غوطه‌وری در آب هنگام اجرای فعالیت بر محتوای پلاسمایی پروتئین شوک گرمایی ($eHSP_{۷۰}$) پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی نر خواهد بود.

روش‌شناسی: بدین منظور ۳۲ موش صحرایی نر نژاد اسپراگ-داولی (۸ هفته‌ای) بطور تصادفی به چهار گروه ۱- کنترل (وزن ۸/۱۹±۲۲۸/۵ گرم)، ۲- تمرین مقاومتی (وزن ٦/۵±۲۱۷/۲٦ گرم)، ۳- تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ °C (وزن ۵/۵۵±۲۲۵/۱۲ گرم) و ٤- تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب ۱٤ °C (وزن ۹/۵±۲۲٦/٤۵ گرم) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی در هر جلسه شامل ۳ نوبت ۵ تکراری بالا رفتن از نردبان ۱۲۰ سانتیمتری بود که از طریق اتصال کیسه‌ای محتوی وزنه‌ای معادل درصدی از وزن بدن (که تدریجاً افزایش می‌یافت) به دم حیوان انجام می‌شد. در فاصله استراحتی بین نوبت‌ها و در پایان نوبت سوم (۲ دقیقه غوطه‌وری و ۲ دقیقه استراحت)، موش‌های گروه‌های ۳ و ٤ به ترتیب درون استخر آبی با دمای ۲۷ °C و ۱٤ °C قرار می‌گرفتند. این روند، ۳ روز در هفته و طی ۸ هفته تکرار شد. خون‌گیری (به میزان ۱/۵ سی‌سی) به دنبال ۱٤-۱۲ ساعت ناشتایی شبانه و ۲٤ ساعت پس از آخرین جلسه فعالیت مقاومتی از ورید دمی انجام شد و مقادیر $eHSP_{۷۰}$ با استفاده از روش الایزا سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از روش آنوای یک‌طرفه و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از کاهش $eHSP_{۷۰}$ در هر سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل بود، هر چند این کاهش در گروه تمرین مقاومتی ($P\leq ۰/۰۰٦$) و تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب سرد ($P\leq ۰/۰۱۳$)، معنی‌دار بود.

بحث و نتیجه‌گیری: براساس یافته‌ها استفاده از غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ °C به هنگام فعالیت مقاومتی یا پس از آن، از کاهش محتوای پلاسمایی $HSP_{۷۰}$ ممانعت می‌نماید که در صورت تعمیم یافتن به مطالعات انسانی آینده، می‌توان استفاده از غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ °C را به ورزشکاران رشته‌هایی همچون کشتی و وزنه‌برداری که ماهیت قدرتی داشته و به محتوای پروتئینی عضلات نیاز بیشتری دارند، به منظور پاسخ‌های محافظتی بیشتر، پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: پروتئین شوک گرمایی، غوطه‌وری در آب، تمرین مقاومتی.

مقدمه

پروتئین‌های شوک گرمایی به دلیل افزایش سریع در پاسخ به استرس (استرس گرمایی، اکسایشی و شیمیایی)، از سلول‌ها در مقابل تجمع پروتئین‌های آسیب دیده محافظت می‌نمایند (۱). این پروتئین‌ها (HSP_s) در سلول‌های مختلف بدن نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی را به عنوان محافظان مولکولی ایفا نموده و به عنوان اولین خط دفاعی هنگام استرس اهمیت زیادی دارند (۳، ۲). این پروتئین‌ها با توجه به وزن مولکولی تقریباً از ۲٤ عضو تشکیل شده‌اند و عملکرد آن‌ها برای فیزیولوژی طبیعی بدن حائز اهمیت می‌باشد (٤). جالب‌ترین شکل قابل ایجاد این پروتئین‌ها، خانواده ۷۰ کیلودالتونی HSP ($HSP_{۷۰}$) است چرا که در شرایط استرس بطور برجسته‌ای تولید می‌گردد. بنابراین می‌تواند به عنوان شکل اصلی قابل ایجاد HSP در ارگانیسم‌های زنده در نظر گرفته شود (۵). استرس‌زاهای زیادی می‌توانند سطح $HSP_{۷۰}$ را در سلول‌ها افزایش دهند که فعالیت جسمانی از جمله آن‌ها می‌باشد. در واقع سطح $HSP_{۷۰}$ پس از فعالیت جسمانی حاد و مزمن در اندام‌های مختلف جوندگان (٦، ۷، ۸) و انسان‌ها (۹، ۱۰، ۱۱) و نیز گردش خون آن‌ها (۱۲، ۱۳) افزایش می‌یابد. $HSP_{۷۰}$ گردش خون به عنوان $HSP_{۷۰}$ خارج‌سلولی (eHSP) شناخته شده و افزایش آن طی فعالیت ورزشی بوسیله رهایش از ارگان‌های دیگر ایجاد می‌گردد (۱۲). با این تفاسیر افزایش $HSP_{۷۰}$ بافتی و پلاسمایی ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است مکانیزم مهمی باشد که بوسیله آن فعالیت ورزشی می‌تواند از سلول‌ها، بافت‌ها و ارگان‌ها در برابر گستره‌ای از فشارزاها و ناراحتی‌ها محافظت نماید (۳) و فاکتور اصلی تحریک تولید $HSP_{۷۰}$، افزایش دمای سلول است (۱۵، ۱٤). در واقع تولید $HSP_{۷۰}$ در بسیاری ارگان‌ها هنگامی شتاب می‌گیرد که فعالیت ورزشی و تمرین با افزایش دمای بدن ترکیب شده باشد (۱۷، ۱٦). آگورا و همکارانش (۱۸) در مطالعه‌ای اثر فعالیت ورزشی دویدن روی نوارگردان در دمای گرم (۲۵ °C) و سرد (٤ °C) را بر $eHSP_{۷۲}$ پلاسمایی موش صحرایی بررسی و افزایش معنی‌دار $eHSP_{۷۲}$ را در دمای ۲۵ °C گزارش نمودند.

اخیراً استفاده از غوطه‌وری در آب سرد (Cold Water-Immersion) در بین ورزشکاران به منظور تسریع بازیافت پس از فعالیت ورزشی، شایع گردیده است و به عنوان یکی از محبوب‌ترین مداخله‌های بازیافت مورد توجه می‌باشد (۱۹). از سویی فرضیه‌ای توسط پژوهش‌گران مطرح شده است مبنی بر این که یکی از تغییرات محیطی عمده‌ای که می‌تواند پاسخ $eHSP_{۷۰}$ به فعالیت ورزشی را محدود یا خنثی نماید، کاهش دمای بدن می‌باشد (۱۸)، مسأله‌ای که غوطه‌وری در آب سرد را با چالش مواجه می‌کند. به منظور بررسی علمی این فرضیه، زمینه لاک و سلوتی (۲۰) بر این باور بودند که سرما درمانی با پایین آوردن دمای عضله تا مرحله شوک سرمایی، HSP را افزایش خواهد داد تا از طریق آن به سلول‌ها و بافت های آسیب دیده کمک شود. این محققین پس از قرار دادن پای موش در دمای ۸ °C یا ۲۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه، هیچ تغییری را در بیان $HSP_{۷۰}$ و $HSP_{۲۰}$ مشاهده نکردند. گائینی و همکارانش (۱۳۹۳) در مطالعه دیگری اثر ۱۰ دقیقه غوطه‌وری در آب سرد (۱۰ °C) به دنبال ٤۵ دقیقه دویدن در سراشیبی روی نوارگردان را بر بیان ژن و محتوای پروتئینی $HSP_{۲۰}$ در دو سطح مایوفیبریلی و سیتوزولی بررسی کردند. در این تحقیق بیان $HSP_{۲۰}$ در گروه فعالیت ورزشی و غوطه‌وری در آب سرد، افزایش یافت اما در مقایسه با گروه فعالیت ورزشی با تأخیر همراه بود، این پژوهش‌گران عنوان کردند که استفاده از غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت ورزشی می‌تواند میزان پاسخ عضلهٔ اسکلتی به آسیب ناشی از فعالیت ورزشی را افزایش دهد و دوره‌های بازیافت را به تعویق اندازد (۲۱). محمدنیا احمدی و همکارانش (۱۳۹۳) نیز تأثیر غوطه‌وری در آب سرد (۱٤°C) و معتدل (۲۷°C) بر پاسخ $eHSP_{۷۰}$ موش‌های صحرایی هنگام اجرای فعالیت مقاومتی را بررسی کرده و پاسخ فزاینده $eHSP_{۷۰}$ به غوطه‌وری در آب معتدل را گزارش کردند (۲۲). اما براساس مطالعات صورت گرفته، تاکنون پاسخ $eHSP_{۷۰}$ نسبت به غوطه‌وری در آب سرد در تمرینات ورزشی طولانی‌مدت اعم از استقامتی یا قدرتی بررسی نشده است، لذا این پژوهش در نظر دارد این موضوع را بررسی نماید که آیا غوطه‌وری در آب (در دماهای ملایم و سرد) هنگام اجرای فعالیت مقاومتی در یک دوره ۸ هفته‌ای می‌تواند سطوح پلاسمایی پروتئین شوک گرمایی ($HSP_{۷۰}$) را در موش‌های صحرایی نر تحت تأثیر قرار دهد؟

روش‌شناسی

حیوانات

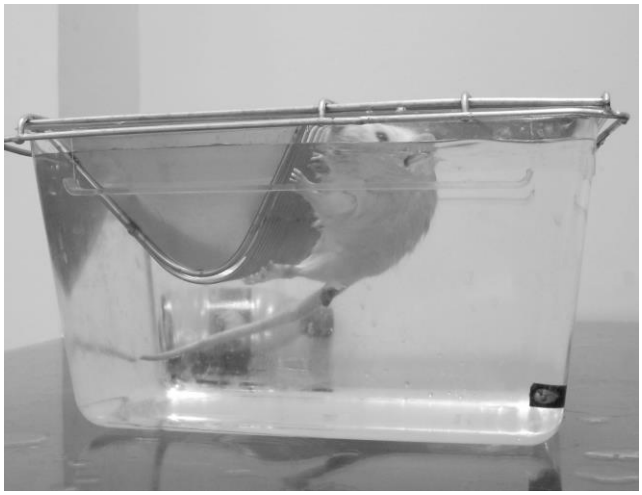
پژوهش حاضر از نوع بنیادی و روش تجربی است که به روش پس‌آزمون با سه گروه تجربی و یک گروه کنترل انجام شد. در این پژوهش از ۳۲ موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای نژاد اسپراگ-داولی استفاده شد که به طور تصادفی به ٤ گروه ۱- کنترل (gr ۲۲۸/۵±۸/۱۹ ،n=۸ CON)، ۲- تمرین مقاومتی (gr ۲۱۷/۲٦±٦/۵ ،n=۸ RT)، ۳- تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب معتدل (gr ۲۲۵/۱۲±۵/۵ ،n=۸ RT+CWI) و ٤- تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای سرد (gr ۲۲٦/٤۵±۹/۵ ،n=۸ RT+MWI)، تقسیم شدند. دما (۲۵±۲°C) و چرخه روشنایی/تاریکی (۱۲:۱۲) برای همه گروه‌ها ثابت نگهداشته شد و همگی دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه (دما، رطوبت، نور و قفس آزمایشگاه) برنامه مورد نظر اجرا شد.

تمرین مقاومتی

تمرین مقاومتی بر روی یک نردبان به طول ۱۲۰ سانتی‌متر بدین صورت انجام شد که طی یک هفته آشناسازی ابتدا موش با نحوه بالا رفتن از نردبان (بدون بالا بردن وزنه) آشنا شد. پس از آشناسازی، گروه‌های تجربی در ۳ نوبت ۵ تکراری، وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن خود را از نردبان بالا بردند. اجرای منظم این نوع فعالیت به عنوان مدلی برای بررسی هایپرتروفی در پاسخ به تمرین مقاومتی پیشنهاد شده است (۲۳). وزنه درون کیسه پارچه‌ای قرار می‌گرفت و بوسیله چسب لوکوپلاست به دم موش متصل می‌شد. فاصله استراحتی بین تکرارها و نوبت‌ها براساس فعالیت مقاومتی مرسوم به ترتیب

جدول ۱. تمرینات مقاومتی در ۳ دوره ۵ تکراری روی نردبان

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
بار (درصد وزن)	۵۰	۸۰-۷۰	۱۰۰	۱۳۰-۱۲۰	۱۵۰-۱٤۰	۱۷۵-۱۷۰	۱۹۰-۱۸۰	۲۰۰
مقدار وزنه (گرم)	۱۰۰	۱۵۰	۲۳۰	۲۹۰	۳۵۰	٤۵۰	٤۸۰	۵۵۰



شکل۱. نحوه اجرای تمرین مقاومتی و مداخله دمایی

۳۰ ثانیه و ٤ دقیقه در نظر گرفته شد. این برنامه توسط گروه‌های ۲، ۳ و ٤ به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۳ جلسه (ساعت ۱۲-۸ صبح) انجام شد. در هفته اول، وزنه بسته شده به دم موش، ۵۰ درصد وزن بدن بود و با افزایش تدریجی به حدود ۲۰۰ درصد وزن بدن در هفته پایانی رسید (جدول ۱). این شیوه تمرینی با اندکی تغییرات از منابع معتبر خارجی اخذ شده است و اثربخشی این نوع تمرین مقاومتی در آمادگی عضلانی نیز در پژوهش‌های قبلی به تأیید رسیده است (۲۳، ۲٤). در این مدت گروه کنترل هیچ فعالیتی نکرده و فقط در محیط آزمایشگاه قرار گرفت (شکل ۱).

مداخله دمایی

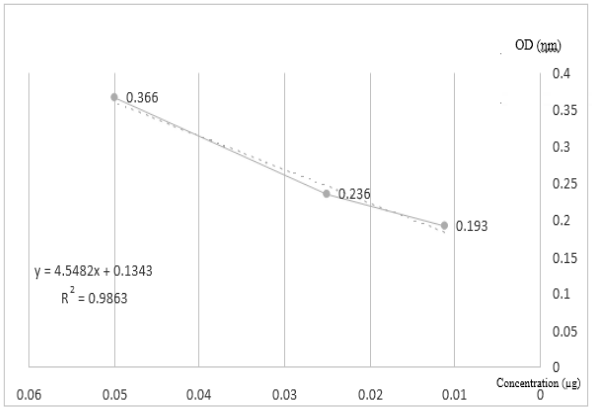
در مرحله آشناسازی، موش‌ها با غوطه‌وری در استخر آب نیز آشنا شدند. در هنگام اجرای تمرین مقاومتی، موش‌های گروه ۳ و ٤ در فاصله استراحتی ٤ دقیقه‌ای بین نوبت‌ها به مدت ۲ دقیقه درون استخر آب قرار می‌گرفتند و در ۲ دقیقه باقیمانده با دستمال پارچه‌ای خشک شده و آماده اجرای نوبت بعدی می‌شدند. دفعات روزانه غوطه‌وری در آب سه مرتبه بود (استراحت نوبت اول و دوم و در پایان نوبت سوم). زمان کلی قرارگیری در استخر آب در سه نوبت در مجموع معادل زمان مورد استفاده در مطالعات قبلی بود (۲۱، ۲۰). دمای آبی که موش‌ها در آن قرار می‌گرفتند، برای گروه‌های ۳ و ٤، به ترتیب ۱٤ °C (در دامنه ۱۵-۱۳ °C که در مداخلات عملکردی مورد استفاده قرار گرفته است) (۲۵) و ۲۷ °C (در دامنه ۲۸-۲٦ °C و نزدیک به دمای داخلی بدن) (۲٦) بود. گروه ۲ در فواصل بین نوبت‌ها به مدت ٤ دقیقه استراحت می‌کرد (شکل ۱).

نمونه‌گیری از حیوان

پس از ۱٤-۱۲ ساعت ناشتایی شبانه و ۲٤ ساعت پس از آخرین روز اجرای پروتکل تحقیق (۲۱، ۲۷)، حیوانات در محیط استریل با ترکیبی از کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلوزین (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شده و میزان ۱/۵ سی‌سی خون از طریق ورید دمی گرفته شد و درون لوله آزمایش حاوی EDTA ریخته و با دور ۱۵۰۰ در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. سپس پلاسما برداشته شد و جهت اندازه‌گیری بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش پروتئین $HSP_{۷۰}$

در این پژوهش برای سنجش $HSP_{۷۰}$ از کیت استاندارد استفاده نشد و از کیت محقق ساخته استفاده شده در مطالعه قبلی (۲۲)، استفاده شد. البته قبلاً نیز در برخی مطالعات به همین روش مقادیر $HSP_{۷۰}$ و سایر پروتئین‌ها سنجیده شده است(۲۸). این روش از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است چرا که هزینه کمتری در مقایسه با کیت داشته و تعداد نمونه بیشتری را نیز اندازه‌گیری می‌کند. منحنی استاندارد برای کیت محقق ساخته در شکل ۲، ترسیم شده است.



شکل ۲. منحنی استاندارد

براساس $R^۲$ منحنی می‌توان درباره اعتبار روش انجام شده قضاوت نمود. بر این اساس روش انجام گرفته در مورد $HSP_{۷۰}$، از دقت بالایی برخوردار می‌باشد ($R^۲$ =۰/۹۸٦).

جهت تعیین مقدار پروتئین $HSP_{۷۰}$ نمونه‌ها از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{مقدار پروتئین نمونه} = \frac{\text{OD نمونه}}{\text{OD کنترل مثبت}} \times \text{(غلظت کنترل مثبت)}$$

با توجه به نتایج آزمون لوین مبنی بر طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آمار پارامتریک استفاده شد. به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون آنوای یک طرفه (One-Way ANOWA) استفاده شد و معنی‌داری آماری در سطح P≤۰/۰۵ تعیین گردید.

یافته‌ها

جدول ۲، اطلاعات مربوط به مقادیر $HSP_{۷۰}$ پلاسما در گروه‌های مطالعه شده را نشان می‌دهد. بر این اساس گروه‌های مورد مطالعه در میانگین HSP۷۰ پلاسمایی، تفاوت معنی‌داری داشتند (P≤۰/۰۲۲). براساس نتایج آزمون LSD، کاهش $HSP_{۷۰}$

پلاسمایی در تمامی گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ولی در گروه تمرین مقاومتی (P≤۰/۰۰۶) و گروه تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای سرد (Re+CWI) معنی‌دار بود (P≤۰/۰۱۳). گروه‌های تجربی نیز تفاوت معنی‌داری را در $HSP_{۷۰}$ پلاسمایی نسبت به یکدیگر نشان ندادند.

جدول ۲: مقادیر $HSP_{۷۰}$ در بین گروه‌ها

	$HSP_{۷۰}$ (نانوگرم بر میکرولیتر)	
گروه‌ها	Std. Error	Statistic
گروه تمرین مقاومتی	۰/۵۹	۱۰/۷۲*
گروه تمرین مقاومتی+غوطه‌وری در آب سرد	۰/٤۳	۱۰/۹۷*
گروه تمرین مقاومتی+غوطه‌وری در آب معتدل	۰/٤۳	۱۱/۸۳
گروه کنترل	۰/۳۶	۱۲/۷۶

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه این موضوع را بررسی کرد که آیا استفاده از غوطه‌وری در آب با دماهای مختلف هنگام فعالیت مقاومتی پس از یک دوره ۸ هفته‌ای، بر سطح $eHSP_{۷۰}$ اثرگذار است؟ بر پایه نتایج تحقیق حاضر، سطح $eHSP_{۷۰}$ در گروه تمرین مقاومتی (Re) در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش $eHSP_{۷۰}$ در مطالعه حاضر در تضاد با نتایج مورلاستیس و همکاران (۲۰۰٦) (۱۰)، پائولسن و همکاران (۲۰۱۲) (۲۹) می‌باشد. در مقابل، نتایج هیروس و همکاران (۲۰۰٤) (۳۰) و جواج و همکاران (۲۰۰٦) (۱۱) را مورد تأیید قرار می‌دهد. مکانیسم دقیق کاهش $eHSP_{۷۰}$ در گردش خون در نتیجه فعالیت مقاومتی در مطالعه حاضر نامشخص است. در حالی‌که به نظر می‌رسد افزایش آسیب و ترمیم تارهای عضله بدنبال فعالیت مقاومتی، سنتز پروتئین شوک گرمایی بیشتری را در پی داشته باشد، هیروس و همکارانش (۲۰۰٤) (۳۰) در توجیه عدم تغییر $HSP_{۷۰}$ بدنبال دو مرحله خم کردن بازو به فاصله ٤ هفته از هم با وجود آسیب عضلانی شدید، بیان نمودند که عضله اسکلتی نسبت به $HSP_{۷۰}$ نفوذناپذیر بوده و بنابراین آسیب عضله اسکلتی نمی‌تواند عامل محرکی برای رهایش $HSP_{۷۰}$ خارج سلولی باشد. اگرچه افزایش تولید $HSP_{۷۰}$ در مواجهه با صدمات پروتئینی برای بقای سلول ضروری است، اما تجمع آن در سلول نیز می‌تواند سمی باشد و این موضوع می‌طلبد که افزایش تولید آن در نهایت با مهار و سرکوب تولید آن همراه باشد (۳۱). همچنین براساس شواهد موجود قابل ذکر است که برای میزان بیان HSP درون سلول‌ها سقفی وجود دارد که پس از رسیدن به مقدار مورد نظر، سلول قادر به بیان مقادیر بیشتر نیست (۳۲). بعلاوه کاهش $HSP_{۷۰}$ نشانه کاهش التهاب در نتیجه تمرین ورزشی می‌باشد. البته مکانیسمی که سطوح $HSP_{۷۰}$ گردش خون از طریق آن در ایجاد التهاب با درجه اندک نقش دارند، نامشخص است. در شرایطی‌که HSPها بخاطر مرگ سلول‌های نکروزه به درون اجزای خارج سلولی منتشر می‌گردند (۳۳)، $HSP_{۷۰}$ می‌تواند مستقل از مرگ سلول نکروزه در پاسخ به شرایط فشارزایی از جمله فعالیت ورزشی وامانده‌ساز رهایش یابد (۳٤). کاهش محتوای $eHSP_{۷۰}$ در گروه تمرین مقاومتی ممکن است نشان‌گر مکانیزم سازشی پاسخ به استرسی باشد که به موجب آن سطوح پایه پروتئین‌های استرس ممکن است به دنبال نوبت‌های تکراری فعالیت ورزشی، تنظیم منفی شوند (۳۵).

در مطالعه حاضر سطح $eHSP_{۷۰}$ در حیواناتی که هنگام اجرای تمرین مقاومتی، درون آب سرد (١٤ °C) غوطه‌ور می‌شدند، نیز بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، گرچه سطح $eHSP_{۷۰}$، بالاتر از گروه تمرین مقاومتی بود. بعلاوه

کاهش $eHSP_{۷۰}$ در گروه تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب معتدل (۲۷ °C) نیز مشاهده شد، اما معنی‌دار نبود. این واقعیت نشان می‌دهد که غوطه‌وری در آب (بویژه آب معتدل) تا حدودی مانع کاهش بیش از حد $eHSP_{۷۰}$ به دنبال تمرین مقاومتی گردیده است. البته درباره تأثیر طولانی‌مدت غوطه‌وری در آب بر محتوای $HSP_{۷۰}$، مطالعات اندکی صورت گرفته است. در مطالعات کوتاه مدت، لاک و سلوتی (۲۰۰۱) پس از قرار دادن پای موش در دمای ۸ °C یا ۲۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه، هیچ تغییری را در بیان $HSP_{۷۰}$ و $HSP_{۲۵}$ مشاهده نکردند (۲۰). چنین عنوان شده است که اگر دما، بسیار پایین (کمتر از ۵°C) و مدت سرما، بسیار طولانی (۱ تا ۸ ساعت) باشد، شوک سرمایی به پروتئین‌ها آسیب زده و پروتئین‌های استرسی به جای کاهش، افزایش می‌یابند (۳۶).

در مطالعات طولانی‌مدت نیز یامانه و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که استفاده از حوضچه آب سرد پس از ٤ تا ٦ هفته برنامه تمرینی، به کاهش چشمگیر سازگاری‌های ناشی از تمرین منجر می‌شود. به عقیده این محققین، این روش بازیافت می‌تواند با تضعیف تولید پروتئین‌های شوک گرمایی و جلوگیری از تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای- که برای فرایند ترمیم و سازگاری ضروری هستند- با فرایند بازسازی، تداخل ایجاد کند (۳۷). البته نتایج پژوهش حاضر، می‌تواند تا حدودی فرضیه فوق را به چالش بکشد. چرا که اجرای تمرین مقاومتی همراه با غوطه‌وری در آب (بویژه آب معتدل) در یک دوره طولانی، منجر به کاهش کمتر محتوای $HSP_{۷۰}$ در مقایسه با اجرای مطلق تمرین مقاومتی، گردیده است. این کاهش در حالی رخ می‌دهد که قبلاً پاسخ فزاینده $eHSP_{۷۰}$ به اجرای یک جلسه‌ای فعالیت مقاومتی همراه با غوطه‌وری در آب معتدل، گزارش شده است (۲۲). براین اساس می‌توان این فرضیه را مطرح کرد که احتمالاً استفاده از غوطه‌وری طولانی‌مدت همراه با تمرین مقاومتی، تحریک مضاعفی برای خنثی نمودن تنظیم منفی احتمالی سطوح پایه پروتئین‌های استرس به دنبال نوبت-های تکراری فعالیت ورزشی، اعمال خواهد نمود (۳۵) که با مقادیر بیشتر $eHSP_{۷۰}$ در گروه‌های غوطه‌وری در مقایسه با گروه تمرین مقاومتی، نمودار گردیده است. البته با توجه به اینکه در مطالعه حاضر، سطح $eHSP_{۷۰}$ در گروه تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب معتدل بالاتر از گروه تمرین مقاومتی و غوطه‌وری در آب سرد است، دمای آب می‌تواند عامل مؤثری در نظر گرفته شود. گرچه اظهار نظر دقیق در این زمینه به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد، اما مشاهدات حاصل از پژوهش حاضر، بر این موضوع دلالت دارد که غوطه‌وری در آب معتدل (۲۷ °C) در مقایسه با آب سرد (۱٤ °C)، استرس کمتری را به آزمودنی وارد می‌نماید.

بطور خلاصه نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که غوطه‌وری طولانی مدت در آب (معتدل و سرد) هنگام تمرین مقاومتی، غلظت پلاسمایی $HSP_{۷۰}$ را در موش‌های نر نژاد اسپراگ-داولی کاهش داد که این کاهش در مقایسه با کاهش صورت گرفته در محتوای $eHSP_{۷۰}$ به دنبال ۸ هفته تمرین مقاومتی، کمتر بوده و نشان‌گر بروز احتمالی محرکی است که به محرک فعالیت مقاومتی افزوده می‌گردد تا اثرات محافظتی $HSP_{۷۰}$ را تشدید نماید. لذا استفاده از غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ °C به هنگام فعالیت مقاومتی یا پس از آن به منظور ایجاد پاسخ‌های محافظتی بیشتر پیشنهاد می‌گردد، گرچه نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری می‌باشد.

منابع

1. Chichester L, Wylie AT, Craft S, Kavanagh K. Muscle Heat Shock Protein 70 Predicts Insulin Resistance With Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2015; 70 (2):155-162.
2. Sun Y, MacRae TH. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(21):2460-76.
3. Locke M. Overview of the stress response. In: Exercise and Stress Response: The Role of Stress Proteins (1st ed.), edited by Locke M and Noble EG. Boca Raton, FL; *CRC Press*: 2002 p. 1–12.
4. Febbraio M. A. Febbraio and Koukoulas I. HSP_{72} gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89(3):1055-1060.
5. Liu Y, Gampert L, Nething K, Steinacker JM. Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Front Biosci* 2006; 11:2802–2827.

6. Naito H, Powers SK, Demirel HA, Aoki J. Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33:729–734.
7. Ogura Y, Naito H, Kurosaka M, Sugiura T, Aoki J, Katamoto S. Sprint-interval training induces heat shock protein 72 in rat skeletal muscles. *J Sports Sci Med* 2006; 5:197–201.
8. Murlastis Z, Cultip RG, Geronilla KB., et al. Resistance training increases heat shock protein levels in skeletal muscle of young and old rats. *Experimental Gerontology* 2006; 41:398–406.
9. Fehrenbach E, Niess A.M, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP_{72}. *Int J Sports Med* 2005; 26:552–557.
10. Morton JP, MacLaren DP, Cable NT, Bongers T, Griffiths RD, Campbell IT, Evans L, Kayani A, McArdle A, Drust B. Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101:176–182.
11. Gjovaag TF, Vikne H, Dahl HA. Effect of concentric or eccentric weight training on the expression of heat shock proteins in m. biceps brachii of very well trained males. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96: 355–362.
12. Lancaster GI, Moller K, Nielsen B, Secher NH, Febbraio MA, Nybo L. Exercise induces the release of heat shock protein 72 from the human brain in vivo. *Cell Stress Chaperones* 2004; 9:276–280.
13. Suzuki K, Peake J, Nosaka K, Okutsu M, Abbiss CR, Surriano R, Bishop D, Quod MJ, Lee H, Martin DT, Laursen PB. Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP_{70} after an Ironman triathlon race. *Eur J Appl Physiol* 2006; 98:525–534.
14. Locke M, Noble EG, Tanguay RM, Feild MR, Ianuzzo SE, Ianuzzo CD. Activation of heat-shock transcription factor in rat heart after heat shock and exercise. *Am J Physiol Cell Physiol* 1995; 268:C1387–C1394.
15. Ruell PA, Hoffman KM, Chow CM, Thompson MW. Effect of temperature and duration of hyperthermia on HSP_{72} induction in rat tissues. *Mol Cell Biochem* 2004; 267:187–194.
16. Hamilton KL, Powers SK, Sugiura T, Kim S, Lennon S, Tumer N, Mehta JL. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H1346–H1352.
17. Skidmore R, Gutierrez JA, Guerriero V Jr, and Kregel KC. HSP_{70} induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1995; 268:R92–R97.
18. Ogura Y, Natio H, Akin S., et al. Elevation of body temperature is an essential factor for exercise-increased extracellular heat shock protein 72 level in rat plasma. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008*;* 294:R1600–R1607.
19. Roberts LA, Raastad T, Markworth JF, Figueiredo VC., et al. Post-exercise cold water immersion attenuates acute anabolic signalling and long-term adaptations in muscle to strength training. *The Journal Of Physiology* 2015; 593(18): 4285–4301.
20. Bleakley CM, Dawison GW. What is the biochemical and physiological rationale for using cold-water immersion in sports recovery? A systematic review. *Br J Sports Med* 2010; 44(3):179-87.
21. Gaeini A, Fayazmilani R. Khaledi N., et al. Role of Cooling Recruitment on Skeletal Muscle Hspb1 Gene Expression during Recovery from Eccentric Contractions. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services* 2013; 35(4):66-73.
22. Mohammadnia Ahmadi M, Rajabi H, Tahmasbi Enferadi S., et al. Effect of cold and moderate water immersion during resistance exercise on plasma heat shock protein response in rats. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2014; 10(2): 13-23.
23. Lee S and Farar R.p. Resistance training induces muscle –specific changes in muscle mass and function in rat. *Journal of Exercise physiology online* 2003; 6(2):80-87.
24. Banaeifar A, Gorzi A, Hedayati M, Nabiollahi Z., et al. Effect of an 8-week resistance training program on acetylcholinesterase activity in rat muscle. *Feyz* 2012; 15(4): 316-21.
25. Buchheit, M., Peiffer, J., Abbiss, C., Laursen, P. Effect of cold water immersion on postexercise parasympathetic reactivation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 2009; 296:H421–H427.
26. Mourot, L., Bouhaddi, M., Gandelin, E., et al. Cardiovascular autonomic control during short-term thermoneutral and cool head-out immersion. *Aviat. Space Environ. Med* 2008; 79:14–20.
27. Taylor R.P., et al. Acute exercise can improve cardioprotection without increasing heat shock protein content. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 276:H1098-H1102.
28. Rea I.M., McNerlan S., Pockley A.G. Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging. *Experimental Gerontology* 2001; 36:341-352.
29. Paulsen G, Hanssen KE, Ronnestad BR., et al. Strength training elevates HSP_{27}, HSP_{70} and B-crystallin levels in musculi vastus lateralis and trapezius. *Eur J Appl Physiol* 2012; 112:1773–1782.
30. Hirose Lisa, Nosaka Kazunori, Newton Michael, Laveder Andrew, Kano Masumi, Peake Jonathan, and Suzuki Katsuhiko. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 2004; 10:75-90.
31. Theodorakis Nicholas G, Drujan D and Maio Antonio D. Thermo tolerant Cells Show an Attenuated Expression of Hsp70 after Heat Shock. *BiolChem* 1999; 274(17): 12081-12086.

32. Thompson HS, Clarkson PM and Scordilis SP. The repeated bout effect and heat shock proteins:intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise. *Humans Acta Physiol Scand* 2002; 74: 47-56.
33. Singh-Jasuja H, Hilf N, Scherer HU., et al. The heat shock protein gp96: a receptor-targeted cross-priming carrier and activator of dendritic cells. *Cell Stress and Chaperones* 2000; 5(5): 462–470.
34. Ogawa K and Fehrenbach E. "Exercise intensity and duration affect blood-soluble HSP72," in *Heat Shock Protein and Whole Body Physiology*, Asea AA and Pedersen BK, Eds., 2010; pp. 253–265, Springer, New York, NY, USA.
35. Gonzalez B, Hernando R, Manso R. Stress proteins of 70 KDa in chronically exercised skeletal muscle. *Eur J Physiol* 2000; 440:42-49.
36. Matz J.M., LaVoi K.P., Moen R.J., Blake M.J. Thermoregulatory and heat-shock protein response deficits in cold-exposed diabetic mice. *Physiol. Behav* 1996*;* 60:1369–1374.
37. Yamaneh M, Teruya H, Nakano M, et al. 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* 2006; 96(5):572-80.

Effect of water immersion during resistance exercise on plasma content of heat shock protein 70 (eHSP70) after 8-weeks resistance training in male rats

Mohammadnia Ahmadi M[1], Rajabi H[2], Homaiun M[3]

1- University of Birjand
2- Kharazmi University of Tehran
3- Razi Vaccine and Serum Research Institute

Email: m.m.ahmadi2005@gmail.com
Received: 2015/10/23 **Revised: 2015/12/05** **Accepted: 2016/02/16**

Abstract

Purpose: Today, cold Water Immersion has developed among athletes for recovery speed, of course this method decreased body temperature and so HSP_{70} response to exercise is limited. Thus this study will determine the effect of Water Immersion during resistance exercise on plasma content of heat shock protein 70 ($eHSP_{70}$) after 8-weeks resistance training in male rats.

Methods: In all, 32 male Sprague-Dawley rats (8-weeks) were assigned randomly to 1- control (CON; n=8, 228.5±8.19), 2- resistance exercise (RT; n=8, 217.26±6.5), 3- Resistance exercise+ Moderate Water Immersion (RT+MWI; n=8, 225.12±5.55) and 4- Resistance exercise+ Cold Water Immersion (RT+CWI; n=8, 226.45±9.5) groups. The resistance training consisted of climbing (5 reps/3 sets) a ladder (120 cm) carrying load (equal to a percent of body weight) suspended from the tail. At rest interval between sets and at last set (2 minute immersion+ 2 minute Rest), rats in 3 and 4 groups, immersed within container consisted water with 27˚C and 14˚C respectively. This process repeated 3-times a day during 8 weeks. Immediately after euthanasia (24 h after final training session) blood (1.5 cc) was collected via tail vein and plasma samples were separated after allowing blood to clot on ice. Plasma was stored frozen at -80°C for analysis. The data was analyzed with One-Way ANOWA method at 0.05 level of significance and plasma $eHSP_{70}$ levels evaluated with ELISA method.

Results: Results showed that $eHSP_{70}$ level decreased in experimental groups rather than Control, although in RT group ($P\leq0.006$) and RT+CWI group ($P\leq0.013$) was significantly.

Conclusion: Based on findings of the present study, MWI (27 °C) during resistance exercise or sbusequently, impeded eHSP70 decremental content. If the findings of this study could be generalized to future studies on human participants, MWI (27 °C) could be suggested for athletes in fields such a wrestling and weightlifting (with strength quality and a need to increase muscular protein content).

Key Words: Heat Shock Protein, Water Immersion, Resistance Training.