Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

تأثیر غوطه‌وری در آب سرد و معتدل بر پاسخ پروتئین شوک گرمایی پلاسمایی موش‌های صحرایی هنگام اجرای فعالیت مقاومتی

محسن محمدنیا احمدی*[1]، حمید رجبی[2]، ستار طهماسبی انفرادی[3]، ندا خالدی [4]، علی کاظمی [4]

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه خوارزمی تهران

۲- دانشیار دانشگاه خوارزمی تهران

۳- دانشیار پژوهشگاه ژنتیک و زیست فناوری

٤- استادیار دانشگاه خوارزمی تهران

* نشانی نویسنده مسئول: خراسان جنوبی. بیرجند. بلوار شهید آوینی. دانشگاه بیرجند. دانشکده تربیت بدنی

Email: m.m.ahmadi2005@gmail.com

وصول: ۹۲/۹/۲ اصلاح: ۹۲/۱۲/۵ پذیرش: ۹۲/۱۲/۷

چکیده

مقدمه و هدف: امروزه استفاده از غوطه‌وری در آب در میان ورزشکاران برای تسریع بازیافت پس از فعالیت ورزشی رواج یافته است. با توجه به اهمیت فشار گرمایی و HSP۷۰ در سازگاری های فیزیولوژیکی و نامشخص بودن پاسخ پلاسمایی HSP۷۰ در چنین شرایطی، پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غوطه‌وری در آب با دماهای مختلف هنگام اجرای فعالیت مقاومتی بر پاسخ پلاسمایی پروتئین شوک گرمایی (eHSP۷۰) در موش‌های صحرایی نر انجام شد.

روش‌شناسی: بدین منظور ۳۲ موش صحرایی نر نژاد اسپراگ-داولی (۸ هفته‌ای) بطور تصادفی به چهار گروه ۱- کنترل (وزن ۷/۹۷±۲۰۸/۵ گرم)، ۲- فعالیت مقاومتی (وزن ۹/٦٦±۲۰۹/٦٦ گرم)، ۳- فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ $^{\circ}C$ (وزن ۷/۲۸±۲۱۸/۲۲ گرم) و ٤- فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب ١٤ $^{\circ}C$ (وزن ۹/٦۲±۲۲۰/۱۰ گرم) تقسیم شدند. فعالیت مقاومتی شامل ۳ نوبت ۵ تکراری بالا رفتن از نردبان ۱۲۰ سانتیمتری بود که از طریق اتصال کیسه‌ای محتوی وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد وزن بدن به دم حیوان انجام شد. 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 $^{\circ}C$ و ١٤ $^{\circ}C$ قرار گرفتند. خون‌گیری (به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر) به دنبال ١٤-۱۲ ساعت ناشتایی شبانه و ٢٤ ساعت پس از انجام فعالیت مقاومتی از ورید دمی انجام شد و مقادیر پلاسمایی eHSP۷۰ با استفاده از روش الایزا سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از آن بود که پاسخ فزاینده eHSP۷۰ در گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ملایم (۰/٤۳± ۱۲/۲۸) بطور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (۰/٤۰± ۱۰/۵۹)، البته در ۲ گروه تجربی دیگر نیز پاسخ فزاینده eHSP۷۰ بیشتر از گروه کنترل بود ولی معنی‌دار نبود.

بحث و نتیجه‌گیری: براساس یافته‌ها استفاده از غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ $^{\circ}C$ به هنگام فعالیت مقاومتی یا پس از آن منجر به پاسخ فزاینده eHSP۷۰ گردید که در صورت تعمیم یافتن به مطالعات انسانی آینده، می‌تواند 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 گردد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین شوک گرمایی، غوطه‌وری در آب، فعالیت مقاومتی

مقدمه

پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs) در سلول‌های مختلف بدن نقش‌های فیزیولوژیایی مهمی را به عنوان محافظان مولکولی ایفا می‌کنند (۱). این پروتئین‌ها با توجه به وزن مولکولی طبقه‌بندی شده و عملکرد آن‌ها برای فیزیولوژی طبیعی بدن حائز اهمیت می‌باشد (۲).

جالب‌ترین شکل قابل ایجاد این پروتئین‌ها، خانواده ۷۰ کیلودالتونی HSP (HSP۷۰) است چرا که در شرایط فشارآفرین بطور برجسته‌ای تولید می‌گردد. بنابراین می‌تواند به عنوان شکل اصلی قابل ایجاد HSP در موجودات زنده در نظر گرفته شود (۳). فشارآفرین‌های زیادی می‌توانند سطح HSP۷۰ را در سلول‌ها افزایش دهند که فعالیت جسمانی از جمله آن‌ها می‌باشد. در واقع سطح HSP۷۰ پس از فعالیت جسمانی حاد و مزمن در اندام‌های مختلف جوندگان (٤ ، ٥) و انسان‌ها (٧ ، ٦) افزایش می‌یابد. به عنوان مثال تامسون و همکارانش (٨) افزایش ۱۰ برابری HSP۷۰ در عضله دو سر بازویی انسان را به دنبال یک جلسه فعالیت مقاومتی برون‌گرا نشان دادند (٨) از طرف دیگر مطالعات اخیر نشان داده‌اند که فشار فعالیت ورزشی، HSP۷۰ گردش خون (در غالب سرم یا پلاسما) را نیز افزایش می‌دهد (۹ ، ۱۰). اینگونه به نظر می‌رسد که ارتباط بالایی بین سطوح بافتی و پلاسمایی این پروتئین وجود داشته باشد، برای مثال والش و همکارانش (۱۱) نشان دادند که ٦۰ دقیقه دویدن (با شدت ٦۰٪ VO_{2max}) سطح HSP۷۲ سرم را در انسان افزایش می‌دهد. سوزوکی و همکارانش (۱۰) نیز گزارش کردند که سطح HSP۷۲ پلاسما پس از مسابقه سه‌گانه مردان آهنین، ۲۲ برابر افزایش یافت. لذا HSP۷۰ در خون (به صورت سرم یا پلاسما) به عنوان HSP۷۰ خارج‌سلولی (eHSP) شناخته شده و افزایش آن طی فعالیت ورزشی بوسیله رهایش از اندام‌های دیگر ایجاد می‌گردد (٨). با این تفاسیر افزایش HSP۷۰ پلاسمایی ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است ساز و کار مهمی باشد که بوسیله آن فعالیت ورزشی می‌تواند از سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها در برابر گستره‌ای از فشارزاها و ناراحتی‌ها محافظت نماید (۱). بر این اساس، افزایش سطوح eHSP۷۰ در مطالعاتی که ماهیت قدرتی دارند، مشاهده می‌شود.

در کل، عامل اصلی تحریک تولید HSP۷۰، افزایش دمای سلول است (۱۲،۱۳). در واقع تولید HSP۷۰ در بسیاری اندام‌ها هنگامی شتاب گرفت که فعالیت ورزشی و تمرین با افزایش دمای بدن ترکیب شده بود (١٤). در این مورد آگورا و همکارانش (۱۵) اثر فعالیت ورزشی دویدن روی نوارگردان در دمای گرم (٢٥ °C) و سرد (٤ °C) را بر eHSP۷۲ پلاسمایی موش صحرایی بررسی و افزایش معنی‌دار eHSP۷۲ را در دمای ۲۵ °C گزارش نمودند. هر چند حرارت خیلی بالای سلولی می‌تواند عواقب خطرناکی برای سلول و موجود زنده به همراه داشته باشد (۱،۱۳)، اما به نظر می‌رسد افزایش معقول حرارت بدن و به دنبال آن افزایش پروتئین‌های شوک گرمایی به دنبال فعالیت ورزشی در سازگاری‌های سلولی نقش دارد (۳،٤،٥) و جلوگیری از بالا رفتن این پروتئین‌ها، ساز و کارهای سلولی برای سازگاری را مختل کند.

از سوی دیگر در میان ورزشکاران استفاده از روش‌های مختلف برای تسریع بازیافت پس از فعالیت ورزشی، شایع است و اخیراً استفاده از غوطه‌وری در آب سرد (CWI) پس از جلسات تمرینی و مسابقات (در رشته‌هایی مثل کشتی که ماهیت قدرتی دارند) به عنوان یکی از محبوب‌ترین مداخله‌های بازیافت مطرح گردیده است. با وجود محبوبیت این روش، شواهد حاصل از کارهای بالینی و بررسی‌های علمی در زمینه تأثیر این مداخله بر HSP، محدود و مبهم است (١٦). در این زمینه لاک و سلوتی (۱۷) 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 ٨ °C یا ٢٠ °C به مدت ۲۰ دقیقه، هیچ تغییری را در بیان HSP۷۰ و HSP۲۵ مشاهده نکردند. فیاض‌میلانی و همکارانش (۲۰۱۱) در مطالعه دیگری اثر ۱۰ دقیقه غوطه‌وری در آب سرد (١٠ °C) به دنبال ٤٥ دقیقه دویدن در سراشیبی روی نوارگردان را بر بیان ژن و محتوای پروتئینی HSP۲۵ در دو سطح مایوفیبریلی و

سیتوزولی بررسی کردند. در این تحقیق بیان HSP۲۵ و سطح پروتئینی آن در گروه فعالیت ورزشی و غوطه‌وری در آب سرد، افزایش یافت اما این افزایش در مقایسه با گروه فعالیت ورزشی با تأخیر همراه بود (۱۸). ژیا و همکارانش (۲۰۱۱) نیز تأثیر غوطه‌وری موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در آب با دمای ٤ °C (فشار آب سرد) را بر روی محافظت نرونی از طریق اندازه‌گیری تغییرات HSP۷۰ بررسی کرده و کاهش ناچیز اما غیر معنی‌دار بیان نسبی پروتئین HSP۷۰ را گزارش کردند (۱۹). لذا علیرغم وجود نتایج متناقض در رابطه با تأثیر غوطه‌وری در آب بر محتوای HSP، به نظر می‌رسد کاهش دمای غوطه‌وری تأثیر منفی بر روی تغییرات HSP۷۰ داشته باشد. بعلاوه دمای زیر ۱۵°C که در مطالعات قبلی استفاده شده‌اند ضمن آزرده ساختن ورزشکاران، با کاهش جریان خون مغزی و افزایش تولید بنیان‌های آزاد همراه بوده که این موضوع نگران کننده است (١٦). بنابراین این فرضیه را می‌توان مطرح نمود که افزایش دمای غوطه‌وری ممکن است محتوای پروتئینی HSP۷۰ را متأثر سازد. بعلاوه در مطالعات مربوط به غوطه‌وری، پاسخ HSP۷۰ در انتهای فعالیت بررسی شده است، حال آنکه در موقعیت‌هایی همچون زمان استراحت در مسابقه کشتی و یا زمان استراحت کوتاه بین دو مسابقه نیز امکان استفاده از غوطه-وری وجود دارد. بر این اساس با توجه به نقش محافظتی eHSP۷۰ درون بدن در فعالیت با ماهیت مقاومتی از آنجا که براساس مطالعات صورت گرفته تاکنون غوطه‌وری در آب در فاصله استراحتی فعالیت‌هایی که ماهیت مقاومتی دارند، 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 بر پاسخ پلاسمایی پروتئین شوک گرمایی (HSP۷۰) موش‌های صحرایی نر اثرگذار است؟

روش شناسی

۲-۱ 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 (۲۰۸/۵±۷/۹۷ gr ،n=۸ CON)، ۲- فعالیت مقاومتی (۲۰۹/٦٦±۹/٦٦ gr ،n=۸ Re)، ۳- گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب سرد (۲۲۰/۱۰±۹/٦۲ gr ،n=۸ Re+CWI) و ٤- گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ملایم (۲۱۸/۲۲±۷/۲۸ gr ،n=۸ Re+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، برنامه مورد نظر اجرا شد.

فعالیت مقاومتی

فعالیت 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 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 (۲۰). وزنه درون کیسه پارچه‌ای قرار می‌گرفت و بوسیله چسب لوکوپلاست به دم موش متصل می‌شد. فعالیت مقاومتی طی دوره فعال موش در تاریکی انجام شد. فاصله استراحتی بین تکرارها و نوبت‌ها براساس فعالیت مقاومتی مرسوم به ترتیب ۳۰ ثانیه و ٤ دقیقه در نظر گرفته شد. در این مدت گروه کنترل هیچ فعالیتی نکرده و فقط در محیط آزمایشگاه قرار گرفت.

مداخله دمایی

در مرحله آشناسازی، موش‌ها با غوطه‌وری در

استخر آب نیز آشنا شدند. در روز اجرای برنامه، موش‌های گروه ۳ و ٤ در فاصله استراحتی ٤ دقیقه‌ای بین نوبت‌ها به مدت ۲ دقیقه درون استخر آب قرار گرفتند و در ۲ دقیقه باقیمانده با دستمال پارچه‌ای خشک شده و آماده اجرای نوبت بعدی شدند. دفعات 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 (١٦، ١٧ و ١٨). دمای آبی که موش‌ها در آن قرار می‌گرفتند، برای گروه‌های ۳ و ٤، به ترتیب ١٤ °C (در دامنه ١٥-١٣ °C که در مداخلات عملکردی مورد استفاده قرار گرفته است) (٢١) و ٢٧ °C (در دامنه ٢٨-٢٦ °C و نزدیک به دمای بدن) (٢٢) بود. گروه ۲ در فواصل بین نوبت‌ها به مدت ٤ دقیقه استراحت می‌کرد.

نمونه‌گیری از حیوان

پس از ١٤-١٢ ساعت ناشتایی شبانه و ٢٤ ساعت پس از اجرای برنامه پروتکل تحقیق (٢٣)، حیوانات در محیط استریل با ترکیبی از کتامین (٥٠-٣٠ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلوزین (٥-٣ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شده و میزان ١/٥ میلی‌لیتر خون از طریق ورید دمی گرفته شد و درون لوله آزمایش حاوی EDTA ریخته و با دور ١٥٠٠ در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. سپس پلاسما برداشته شد و جهت اندازه‌گیری بعدی در دمای ٨٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش پروتئین HSP٧٠

در این پژوهش برای سنجش HSP٧٠ از کیت استاندارد استفاده نشد و با خرید آنتی ژن و آنتی‌بادی تجاری، کیت برای سنجش مقادیر پلاسمایی HSP٧٠ براساس روش الایزای مستقیم راه‌اندازی شد. البته قبلاً نیز در برخی مطالعات به همین روش مقادیر HSP٧٠ و سایر پروتئین‌ها سنجیده شده است (٢٤ ، ١٠). 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.

تعیین غلظت کنترل مثبت و رقت آنتی‌بادی‌ها

به منظور راه‌اندازی کیت، ابتدا غلظت کنترل مثبت (آنتی‌ژن) و آنتی‌بادی اولیه و ثانویه تعیین شد که این کار در قالب برنامه‌ای انجام گرفت که بعداً جهت تعیین مقدار پروتئین نمونه‌ها استفاده می‌گردد. بدین منظور غلظت مناسب کنترل مثبت (سفارش شده توسط شرکت سانتاکروز آمریکا برای آنتی‌بادی HSP٧٠ تحت عنوان HeLa + heat shock Cell Lysate، SC-٢٢٧٢) از طریق تیتراسیون تعیین شد. نخست ۵۰ میکرولیتر بافر کربنات بیکربنات (PH=٩) در چاهک‌های هر میکروپلیت (سه میکروپلیت مجزا برای رقت‌های مختلف آنتی‌بادی) ریخته شد. سپس ١٠٠ میکروگرم کنترل مثبت به چاهک اول هر میکروپلیت اضافه (رقت ۵۰ میکروگرم آنتی‌ژن در هر چاهک) و پس از مخلوط شدن، ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم اضافه شد (رقت ٢٥ میکروگرم آنتی‌ژن در هر چاهک). این روند در چاهک‌های متوالی ادامه یافته تا اینکه رقت آنتی‌ژن به ٠/٠١ میکروگرم آنتی‌ژن در چاهک رسید. سپس هر سه میکروپلیت به مدت یک شب در دمای ٤ °C قرار گرفتند. میکروپلیت‌ها در روز بعد، تخلیه شده و جهت مسدود کردن جایگاه‌های غیر ویژه، ۵۰ میکرولیتر بافر مسدود کننده (حاوی PBS (بافر فسفات نمکی) و ۵ درصد شیر خشک) به هر چاهک افزوده شد و میکروپلیت‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میکروپلیت ٦ مرتبه با ٢٠٠ میکرولیتر بافر شستشو (PBS- ٠/٠٠٢ مولار) در هر چاهک شستشو داده شد. در مرحله بعد آنتی‌بادی اولیه (شرکت سانتاکروز آمریکا، SC-٣٣٥٧٥، HSP٧٠ Antibody rabbit polyclonal (H-٣٠٠)) به میزان ۵۰ میکرولیتر (با رقت‌های ١:١٠٠، ١:٢٠٠ و ١:٤٠٠ رقیق شده در بافر رقیق کننده برای هر سه میکروپلیت) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۲ ساعت درون انکوباتور

با دمای C° ۳۷ قرار داده شد. در ادامه میکروپلیت‌ها ٦ مرتبه با بافر شستشو (PBS حاوی ۰/۰۵ درصد توئین-۲۰) شستشو داده شد. سپس آنتی بادی ثانویه (شرکت سانتاکروز آمریکا، SC-۲۰۰٤، goat anti-rabbit IgG-HRP) به میزان ۵۰ میکرولیتر (با رقت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰ و ۱:٤۰۰ رقیق شده در بافر رقیق کننده برای هر سه میکروپلیت) به هر چاهک اضافه شد و یک ساعت در انکوباتور با دمای C° ۳۷ قرار داده شد. پس از گذشت ۱ ساعت، ۵۰ میکرولیتر از سوبسترای TMB (شرکت سانتاکروز آمریکا، SC-۲۸٦۹٦۷، TMB Substrate Buffer, 1X) به هر چاهک اضافه شد و جهت رنگ‌دهی (رنگ آبی) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در نهایت از اسید سولفوریک برای توقف رنگ‌دهی (تغییر رنگ از آبی به زرد) استفاده شده و میکروپلیت‌ها بلافاصله در دستگاه میکروپلیت‌خوان (بیوتک ساخت کشور آمریکا) قرار داده شد و با چگالی نوری (OD) ٤۵۰ نانومتر قرائت شد. بهترین OD در هر یک از سه میکروپلیت، نمایانگر غلظت و رقت مناسب کنترل مثبت و آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه بود (غلظت مناسب کنترل مثبت ۰/۰۵ میکروگرم، رقت مناسب آنتی‌بادی اولیه و ثانویه ۱:۱۰۰).

تعیین مقادیر HSP۷۰ در نمونه‌های پلاسما

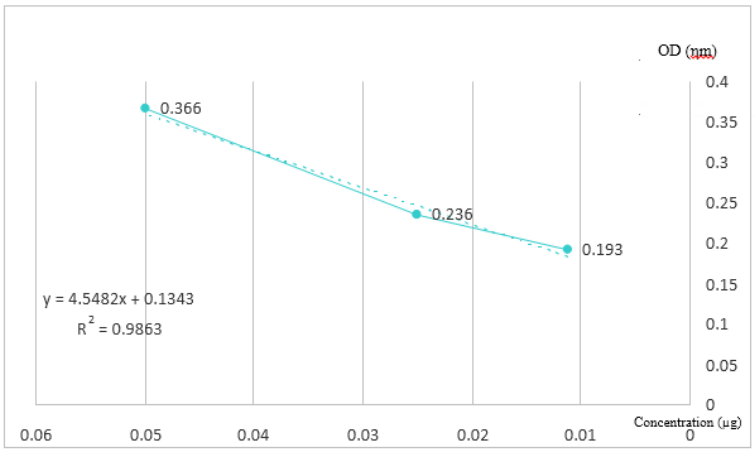
جهت اندازه‌گیری مقادیر HSP۷۰ در پلاسما، تمامی نمونه‌ها به میزان ۲۰ میکرولیتر همراه با ۵۰ میکرولیتر بافر کربنات بیکربنات درون هر چاهک میکروپلیت ریخته شد. چند غلظت از کنترل مثبت نیز درون میکروپلیت قرار داده شد و میکروپلیت به مدت یک شب در دمای C° ٤ قرار گرفت. در روز بعد تمامی مراحل ذکر شده در قسمت ۱-۵-۲ انجام گرفت با این تفاوت که رقت مورد استفاده آنتی‌بادی اولیه و ثانویه ۱:۱۰۰ بود. در انتها نتایج با چگالی نوری ٤۵۰ نانومتر قرائت شده و ثبت گردید. البته اندازه‌گیری مقادیر پلاسمایی با محدودیت‌های نیز مواجه است. به عنوان مثال جابجایی مایعات و پروتئین‌های موجود در خون در هنگام تمرینات ممکن است تغییرات حجم پلاسما در دوره بازگشت به حالت اولیه را دستخوش تغییر قرار دهد. این تغییرات می‌تواند شامل رقیق شدن یا غلیظ شدن خون شود که این حالت به نوع ، شدت و محدودیت تمرین وابسته است. برای رفع این مشکل از تکنیک‌هایی همچون تکنیک نشانه‌گذاری آلبومین پلاسما یا تجزیه و تحلیل رنگ‌آمیزی آبی اوانس استفاده می‌شود که مقدار پروتئین در جریان اندازه‌گیری با این تکنیک‌ها ثابت می‌ماند. البته این روش‌ها نمی‌توانند در هنگام تغییرات کوتاه مدت حجم پلاسما (مانند برنامه فعالیت مقاومتی مطالعه حاضر) کاربرد داشته باشند، زیرا زمانی که حجم پلاسما به سرعت دچار تغییر می‌شود، معمولاً پروتئین‌ها نیز شامل چنین تغییراتی می‌شوند که نوعی محدودیت محسوب می‌گردد (۲۵).

ترسیم منحنی استاندارد و تعیین مقادیر پروتئین HSP۷۰ در نمونه‌ها

از مقادیر غلظت کنترل مثبت‌های قرار گرفته در میکروپلیت و چگالی نوری متعلق به آن‌ها برای ترسیم منحنی استاندارد HSP۷۰ استفاده شد (شکل ۱). جهت تعیین مقدار پروتئین HSP۷۰ نمونه‌ها از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{مقدار پروتئین نمونه} = \frac{\text{ODی نمونه}}{\text{ODی کنترل مثبت}} * \text{(غلظت کنترل مثبت)}$$

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



شکل ۱. منحنی استاندارد HSP۷۰

یافته‌ها

جدول ۱، اطلاعات مربوط به مقادیر HSP۷۰ پلاسما در گروه‌های مطالعه شده را نشان می‌دهد. بر این اساس گروه‌های مورد مطالعه در میانگین HSP۷۰ پلاسمایی، تفاوت معنی‌داری داشتند (P=۰/۰۲۱). براساس نتایج آزمون توکی، پاسخ فزاینده eHSP۷۰ در تمامی گروه‌های تجربی بیشتر از گروه کنترل بود ولی فقط در گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ملایم (Re+MWI) معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۲). (شکل ۲). گروه‌های تجربی نیز تفاوت معنی‌داری را در HSP۷۰ پلاسمایی نسبت به یکدیگر نشان ندادند، گرچه پاسخ فزاینده eHSP۷۰ در گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ملایم قدری بیشتر از دو گره دیگر تجربی بود.

جدول ۱. مقادیر HSP۷۰ در بین گروه‌ها

گروه‌ها	HSP۷۰ (نانوگرم بر میکرولیتر)	
	Statistic	Std. Error
فعالیت مقاومتی	۱۱/۸۶	۰/۲۷
فعالیت و غوطه‌وری در آب سرد	۱۱/۵۳	۰/۲۶
فعالیت و غوطه‌وری در آب ملایم	۱۲/۲۸*	۰/۴۳
کنترل	۱۰/۵۹	۰/۴۰

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

بحث و نتیجه گیری

این مطالعه این موضوع را بررسی کرد که آیا سطح eHSP۷۰ با غوطه‌وری در آب طی فعالیت مقاومتی مرتبط است؟ سطح eHSP۷۰ در حیواناتی که فعالیت مقاومتی را در شرایط غوطه‌وری در آب با دمای ملایم (Re+MWI) (۲۷ °C) انجام دادند به طور معنی‌داری بیشتر شد. البته اگر چه این پاسخ فزاینده در گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب سرد (٤ °C) و گروه فعالیت مقاومتی نیز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ولی معنی‌دار نبود. ساز و کار دقیق پاسخ فزاینده eHSP۷۰ در گردش خون در نتیجه فعالیت مقاومتی دقیقاً مشخص نشده است. البته این احتمال وجود دارد که افزایش گزارش شده در محتوای eHSP۷۰ در نتیجه رهایش آن از سلول‌های عضلانی باشد. افزایش HSP۷۰ عضلانی هم که احتمالاً بواسطه افزایش حضور سلول‌های بیگانه‌خوار می‌باشد، چرا که چنین سلول‌هایی حاوی سطوح نسبتاً بالایی از HSP۷۰ هستند (۲٦). هجوم سلول‌های بیگانه‌خوار به انفجار اکسایشی نیز منجر می‌گردد، بنابراین

باعث بروز آسیب ثانویه عضلانی می‌گردد که ممکن است بیان داخل‌سلولی HSP۷۰ها را افزایش دهد. تجزیه و تحلیل عضلات یکسانی که تحت تأثیر برنامه‌های آسیب‌زا قرار گرفته‌اند، تعیین کمیت HSP۷۰هایی را که بوسیله عضله ایجاد می‌شوند را از آن‌هایی که بواسطه تغییر در محتوای سلول‌های بیگانه‌خوار و فرایندهای ثانویه ایجاد می‌گردند (۲۷)، مشکل می‌سازد. بنابراین پیشنهاد شده که از برنامه‌های تمرین مقاومتی بدون آسیب برای مطالعه تنظیم HSP۷۰ ناشی از فعالیت مقاومتی استفاده شود، چرا که رویکرد روش‌شناختی شفاف‌تری را فراهم می‌سازند (۲۷). با توجه به اینکه فعالیت مقاومتی مطالعه حاضر شدت متوسطی داشت، لذا از پتانسیل آسیب‌زایی چندانی برخوردار نبوده و می‌توان این‌گونه عنوان کرد که سلول‌های بیگانه‌خوار در محتوای HSP۷۰ بی‌تأثیر بوده‌اند. بسیاری از مطالعات انسانی هم رهایش eHSP۷۰ از اندام‌ها را طی فعالیت ورزشی نشان داده‌اند. فبرایو و همکارانش (۲۸) نشان دادند که کبد، eHSP۷۰ را طی یک نوبت فعالیت دوچرخه‌سواری بوسیله اختلاف سطح سرخرگی-سیاهرگی گردش خون احشایی کبدی رها می‌سازد. بعلاوه لانکاستر و همکارانش (۸) گزارش نمودند که eHSP۷۰ طی فعالیت باز کردن زانو از مغز بوسیله اندازه‌گیری اختلاف سرخرگی-سیاهرگی ژوگولار رها می‌گردد. این مطالعات حداقل تا حدی تأکید می‌کنند که بسیاری از اندام‌های حیوانات در حال فعالیت ورزشی در افزایش eHSP۷۰ ناشی از فعالیت نقش دارند و می‌توانند نتایج مطالعه حاضر را توجیه نمایند. از سوی دیگر 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) (۲۹) بدنبال دو مرحله خم کردن بازو به فاصله ٤ هفته از هم، با وجود آسیب عضلانی شدید در هیچ زمانی پس از دو فعالیت، تغییرات قابل توجهی در مقادیر HSP۷۰ گزارش نکردند که افزایش غیر معنی‌دار eHSP۷۰ در مطالعه حاضر را تأیید می‌نماید. براساس توجیه این محققان از آنجا که عضله اسکلتی نسبت به HSP۷۰ نفوذ ناپذیر است و با توجه به عدم تغییر غلظت HSP۷۰ در مطالعه مورد نظر، آسیب عضله اسکلتی نمی‌تواند عامل محرکی برای رهایش HSP۷۰ خارج سلولی باشد (۲۹).

در مطالعه حاضر سطح eHSP۷۰ حیوانات گروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب با دمای ملایم نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری بالاتر بود. این واقعیت نشان می‌دهد که غوطه‌وری در آب با دمای ملایم (۲۷ °C) می‌تواند افزایش eHSP۷۰ را به دنبال فعالیت مقاومتی ایجاد نماید. آگورا و همکارانش افزایش eHSP۷۲ را هنگام دویدن روی نوارگردان (در دمای ۲۵ °C) گزارش کردند، هر چند این شرایط دمایی به عنوان محیط گرم در نظر گرفته شده و در هوای محیط ایجاد شد (۱۵). در مطالعه مورد نظر ساز و کار دقیق افزایش eHSP۷۲ تعیین نشد اما تنظیم گیرنده eHSP۷۲ به عنوان ساز و کار احتمالی مسئول در نظر گرفته شد. جانسون و همکارانش (۳۰) گزارش کردند که قرارگیری در معرض شوک به دم منجر به افزایش eHSP۷۲ در خون گردید، بعلاوه این محققین نشان دادند که مصرف مهارکننده گیرنده آدرنال، باعث مهار افزایش eHSP۷۲ می‌گردد. نکته جالب این پژوهش این بود که مصرف مهارکننده گیرنده آدرنال در شرایطی که شوک به دم وارد نشد، سطح eHSP۷۲ را افزایش داد. این محققین (۳۰) نشان دادند که افزایش eHSP۷۲ با فشار شوک به دم بوسیله سطح بالای نوراپی‌نفرین موجود در گردش خون تقویت می‌گردد که از طریق گیرنده آدرنال عمل می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که دستگاه گیرنده آدرنال-نوراپی‌نفرین در تنظیم سطح eHSP۷۲ در گردش خون از اهمیت برخوردار است. در مطالعه آگورا و همکارانش (۱۵)، شدت فعالیت ورزشی به عنوان عامل افزایش نوراپی‌نفرین در گردش و در نتیجه آن افزایش eHSP۷۲ معرفی گردید و با توجه به

عدم تغییر eHSP۷۲ در دمای ٤ °C، افـزایش دمـای بـدن دلیلی بر افزایش نوراپی‌نفرین در نظر گرفته شد. با توجـه به اینکه شدت فعالیت در مطالعه آگـورا بـالاتر از آسـتانه لاکتات بود (۱۵) و فعالیت مقاومتی انجام شده در مطالعـه حاضـر از شـدت متوسـطی برخـوردار بـوده اسـت، لـذا نمی‌توان عامل شدت فعالیت را دلیلی بر افزایش eHSP۷۰ مشاهده شده در مطالعه حاضر در نظـر گرفـت. از سـویی ویل و همکارانش (۱۹۸۱) افزایش معنی‌دار نوراپی‌نفـرین را در شیرجه‌روهایی که در آب با دمای °C ۲۵/۵ غوطه‌ور شدند در مقایسه با دمای °C ۳۳، نشان دادند. براساس این نتیجه می‌توان علـت افـزایش eHSP۷۰ در حیوانـاتی کـه همزمان با فعالیت مقاومتی در آب معتدل غوطـه‌ور شـدند را افزایش نوراپی‌نفرین پلاسـما در نتیجـه غوطـه‌وری در آب دانست (۳۱). گرچه میزان نـوراپی‌نفـرین پلاسـما در مطالعه حاضر اندازه‌گیری نشد، اما می‌توان دستگاه گیرنده آدرنـال-نـوراپی‌نفـرین را در تنظـیم سـطح eHSP۷۲ در گردش خون در مطالعه حاضر مؤثر دانست.

در مطالعه حاضر سطح eHSP۷۰ حیوانـات گـروه فعالیت مقاومتی و غوطه‌وری در آب سرد (دمـای °C ١٤) نسبت به گروه کنترل، بیشتر شد ولی معنی‌دار نبود. در این زمینه، ژیا و همکارانش (۲۰۱۱) تأثیر غوطه‌وری موش‌هـا به مدت ۵ دقیقه در آب با دمای °C ٤ (فشار آب سرد) را بر روی محافظت نرونی از طریـق انـدازه‌گیـری تغییـرات HSP۷۰ بررسی کردند. در این تحقیق، غوطـه‌وری در آب با دمای °C ٤ در مقایسه بـا گـروه کنتـرل باعـث کـاهش ناچیز اما غیر معنی‌دار بیـان نسـبی پـروتئین HSP۷۰ شـد (۱۹). در مطالعه حاضر دمای غوطه‌وری در آب سـرد °C ١٤ و نزدیک به دمای آب مورد استفاده در مطالعـه ژیـا و همکارانش بـود. لاک و همکـارانش (۲۰۰۱) نیـز پـس از قرار دادن پای موش در دمای °C ٨ یا °C ۲۰ به مدت ۲۰ دقیقه، هیچ تغییری را در بیان HSP۷۰ و HSP۲۵ مشاهده نکردند (۱۷). دمای مورد استفاده برای غوطه وری در آب سـرد در مطالعـه حاضـر بـا دمـای مـورد اسـتفاده لاک و همکارانش مطابقت داشت امـا زمـان غوطـه‌وری تفـاوت زیادی داشت. فیاض میلانـی و همکـارانش (۲۰۱۱) (۱۸) نیز افزایش پیش‌رونده یکسان پـروتئین HSP۲۵ عضـله را در هر دو گروه فعالیت آسیب‌زا و گروه فعالیت آسیب‌زا و غوطـه‌وری در آب سـرد (بـه مـدت ۱۰ دقیقـه در دمـای °C) ۱۰ گـزارش کردنـد و چنـین عنـوان کردنـد کـه غوطـه‌وری در آب سـرد مـی‌توانـد شـرایط پـس از نسخه‌برداری را تغییر دهد و در نهایت حتی اگـر بیـان ژن در اثر فعالیت آسیب‌زا در ابتدا یکسـان باشـد، در مراحـل پس از نسخه‌برداری و بیان در سطح پروتئین، اثر خـود را بگذارد و مقادیر نهایی پروتئین را تغییر دهد (۱۸). اگر چه در مطالعه حاضر بیان ژن عضله بررسی نشده اما اثربخشی غوطـه‌وری آب سـرد در مراحـل پـس از نسـخه‌بـرداری می‌تواند در مورد نتیجه بیان شده، صدق نمایـد. در مقابـل ماتز و همکارانش (١٩٩٦) افزایش بیان HSP۷۰ در بافـت چربی قهوه‌ای را در مـوش‌هـایی گـزارش کردنـد کـه در شـرایط دمـای محیطـی °C ٦ قـرار گرفتـه بودنـد (۳۲). براساس مطالعات قبلی، تنظیم مثبت پـروتئین HSP۷۰ بـه شدت، مدت، نـوع و فاصـله فشـار آفـرین‌هـای محیطـی بستگی دارد که از وجود یک آستانه قدرتمند بـرای تولیـد HSP۷۰ حمایت می‌کند (۳۳). بر این اساس غوطه‌وری در آب با دمای °C ١٤ هنگام فعالیت مقاومتی از آستانه کـافی برای افزایش معنی‌دار eHSP۷۰، برخوردار نبوده است.

بطور خلاصه نتایج حاصل از این پـژوهش نشـان می‌دهد که فشار ناشی از غوطه‌وری در آب با دمای ملایم هنگـام فعالیـت مقـاومتی، غلظـت پلاسـمایی HSP۷۰ در موش‌های نر نژاد اسپراگ-داولی را بیشـتر نمـود کـه ایـن پاسخ فزاینده eHSP۷۰ ، نشان‌گر بروز پاسخ فشاری بهتـر در راستای بهبود محافظت از اندام‌های درگیـر در فعالیـت مقاومتی می‌باشد. اگر چـه در مطالعـه حاضـر ملاحظـاتی همچـون بررسـی بیـان ژن و سـطح پـروتئین عضـلانی HSP۷۰ و عوامل هماتولوژیکی و التهابی همچون لاکتات، کراتین‌کیناز و IL٦ صورت نگرفته اسـت، امـا بـا در نظـر

گرفتن این محدودیت‌ها استفاده از غوطه‌وری در آب با دمای ۲۷ °C در فواصل استراحتی فعالیت‌هایی که ماهیت مقاومتی دارند (در فاصله استراحتی تمرین یا مسابقه) یا پس از آن به منظور پاسخ فزاینده eHSP۷۰، پیشنهاد می‌گردد و در صورت تعمیم یافتن به مطالعات انسانی در مطالعات آتی، می‌تواند به ورزشکاران رشته‌هایی همچون کشتی و وزنه‌برداری که ماهیت قدرتی داشته و به محتوای پروتئینی عضلات نیاز بیشتری دارند، به منظور پاسخ‌های محافظتی بیشتر کمک نماید. هرچند انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری می‌باشد.

تقدیر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات آقای دکتر همایون مهروانی از اعضای هیأت علمی مؤسسه سرم‌سازی رازی که در اجرای روش آزمایشگاهی مطالعه حاضر، مشاوره و همکاری بی‌دریغی داشته‌اند تشکر به عمل می‌آید.

منابع

1. Locke M, Noble EG. Exercise and stress response: the role of stress proteins. 1st edition. CRC Press. 2002. 1–12.

2. Febbraio MA, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. J Appl Physiol 2000; 89(3): 1055-1060.

3. Liu Y, Gampert L, Nething K, Steinacker JM. Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. Front Biosci 2006; 11: 2802–2827.

4. 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.

5. 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.

6. Fehrenbach E, Niess AM, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. Int J Sports Med 2005; 26: 552–557.

7. Morton JP, MacLaren DP, Cable NT, Bongers T, Griffiths RD, Campbell IT, et al. 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.

8. Thompson HS, Scordillis SP, Clarkson PM, Lohrer WA. A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. Acta Physiol Scand 2001; 171: 187-93.

9. 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.

10. Suzuki K, Peake J, Nosaka K, Okutsu M, Abbiss CR, Surriano R, et al. Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman triathlon race. Eur J Appl Physiol 2006; 98: 525–534.

11. Walsh RC, Koukoulas I, Garnham A, Moseley PL, Hargreaves M, Febbraio MA. Exercise increases serum Hsp72 in humans. Cell Stress Chaperones 2001; 6: 386–393.

12. Locke M, Noble EG, Tanguay RM, Feild MR, Ianuzzo SE. Activation of heat-shock transcription factor in rat heart after heat shock and exercise. Am J Physiol Cell Physiol 1995; 268: 1387–94.

13. Ruell PA, Hoffman KM, Chow CM, Thompson MW. Effect of temperature and duration of hyperthermia on HSP72 induction in rat tissues. Mol Cell Biochem 2004; 267: 187–194.

14. Skidmore R, Gutierrez JA, Guerriero Jr, Kregel KC. HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 1995; 268: 92–97.

15. Ogura Y, Natio H, Akin S, Ichinoseki-Sekine N, Kurosaka M, Kakigi R, 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: 1600–1607.

16. 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.

17. Locke M, Celotti C. Cold stress does not induce stress proteins HSP25 and HSP72 in rat Skeletal muscle. Cryobiology 2001; 43: 54–62.

18. Fayaz Milani R. Recovery 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 Gaeini: Tehran University; 2011; 72-73.

19. Xia M, Bian M, Yu Q, Liu J, Huang Y, Jin X, et al. Cold water stress attenuates dopaminergic neurotoxicity induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine in mice. Acta Biochim Biophys Sin 2011; 43: 448–454.

20. Lee S, Farar RP. Resistance training induces muscle –specific changes in muscle mass and function in rat. Journal of Exercise physiology online 2003; 6(2): 80-87.

21. 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.

22. Mourot L, Bouhaddi M, Gandelin E, Cappelle S, Dumoulin G, Wolf JP, et al. Cardiovascular autonomic control during short-term thermoneutral and cool head-out immersion. Aviat. Space Environ. Med 2008; 79: 14–20.

23. Taylor RP, Brennan Harris M, Starnes JW. Acute exercise can improve cardioprotection without increasing heat shock protein content. Am J Physiol Heart Circ Physiol 1999; 276: 1098-1102.

24. Rea IM, McNerlan S, Pockley AG. Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging. Experimental Gerontology 2001; 36: 341-352.

25. Gaeini A. Hormonal and plasma volume changes after endurance training. Harkat 1999; 1:39-56.

26. Khasaf M, McArdle A, Esanu C, et al. Effect of vitamin C supplementation on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. J Physiol 2003; 549:645-52.

27. Vasilaki A, McArdle F, Iwanejiko L, et al. Adaptive responses of mouse skeletal muscle to contractile activity: the effect of age. Mech Ageing Dev 2006; 127:830-9.

28. Febbraio MA, Ott P, Nielsen HB, Steensberg A, Keller C, Krustrup P, et al. Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. J. Physiol 2002; 544: 957-962.

29. Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, Suzuki K. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. Exerc Immunol Rev 2004; 10: 75-90.

30. Johnson JD, Campisi J, Sharkey CM, Kennedy SL, Nickerson M, Fleshner M. Adrenergic receptors mediate stress-induced elevations inextracellular Hsp72. J Appl Physiol 2005; 99: 1789–1795.

31. Weihl AC, Langworthy HC, Manalaysay AR, Layton RP. Metabolic responses of resting man immersed in 25.5 degrees C and 33 degrees C water. Aviat Space Environ Med 1981; 52(2): 88-91.

32. Matz JM, LaVoi KP, Moen RJ, Blake MJ. Thermoregulatory and heat-shock protein response deficits in cold-exposed diabetic mice. Physiol. Behav 1996; 60: 1369–1374.

33. Tolson JK, Roberts SM. Manipulating heat shock protein expression in laboratory animals. Methods 2005; 35: 149–157.

Effect of cold and moderate water immersion during resistance exercise on plasma heat shock protein response in rats

Mohammadnia Ahmadi M [1], Rajabi H [1], Tahmasbi Enferadi S[2], Khaledi N [1], Kazemi A [1]
1 - Kharazmi University of Tehran
2 - National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology (NIGEB)

Received: 23/11/2013 **Revised:** 24/02/2014 **Accepted:** 26/02/2014

***Correspondence:**
Mohsen Mohammadnia Ahmadi, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Birjand University, Iran

E-mail:
m.m.ahmadi2005@gmail.com

Abstract

Purpose: Today, Cold Water Immersion has developed among athletes for recovery speed. With respect to the significance of heat stress and HSP70 in physiological adaptations as well unspecified HSP70 Plasma response under these circumstances, this study was conducted to survey the effect of Water Immersion of varying temperature during resistance exercise on plasma level of heat shock protein 70 (eHSP70) in male rats.

Methods: 32 male Sprague-Dawley rats (8-weeks) were assigned randomly to 1- Control group (CON; n=8, 208.5±7.98), 2- Resistance exercise group (RE; n=8, 209.66±9.66), 3- Resistance exercise+ Moderate Water Immersion group (Re+MWI) and 4- Resistance exercise+ Cold Water Immersion group (Re+CWI) groups. The resistance training consisted of climbing (5 reps/3 sets) a ladder (120 Cm) carrying a load (%50 body weight) suspended from the tail. At rest intervals between sets and at the thrid set (2 minute immersion+ 2 minute Rest), rats in group 3 and 4 were immersed in a container of water with 27˚C and 14˚C, respectively. Immediately after euthanasia (24 h after the training session) blood samples (1.5 ml) were 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 eHSP70 levels were evaluated with ELISA method.

Results: Results showed that eHSP70 incremental response in Re+MWI group and moderate water immersion group (12.28±0.43) was significantly greater than the control group (10.59±0.40). The incremental response was also higher in the two other experimental groups compared to the control group but it was not statistically significant.

Conclusion: Based on findings of the present study, MWI (27 ˚C) during resistance exercise or sbusequently, induces eHSP70 incremental response. If the findings of this study could be generalized to future studies on human participants, it 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 exercise