University of Birjand
Archive of SID
Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper
Spring & Summer 2020, 8(15): 8-20
Received: Oct 22, 2017 Accepted: Nov 14, 2018

The effects of cold water immersion post repeated sprint activity on serum PGC-1α and irisin in young active men

Saman Hadjizadeh Anvar[1], Mohammadreza Kordi[2*], Parisa Pournemati[3], Sara Farajnia[4], Nima Gharadaghi[5], Mohammadreza Rahmati[1]

1. PhD Student in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
4. MSc In Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
5. PhD In Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: It is mentioned a critical role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α (PGC-1α) in mitochondrial biogenesis, and for irisin in angiogenesis, myogenesis and health. The purpose of this study was to investigate the effect of cold-water immersion (CWI) post repeated sprint activity (RSA) on irisin & PGC-1α**. Materials and Methods**: Among 50 soccer players recruited from Tehran premier league, 20 men (age 23.5±1.67 yrs) were selected randomly to this study and after the RSA, 10 participants immersed in cold water (14°C) and 10 others set on a chair passively. Blood sampling was taken before and after RSA, after CWI or passive rest and after 24 hours. Serum irisin & PGC-1α were assessed through ELIZA kit of ZelBio, Germany. Shapiro-Wilk test was performed to determine data normality and to determine possibly differences between means in each group and in different times, analysis of variance test with repeated measures was applied at the significant level of $p \leq 0.05$. **Results**: The time factor had a significant effect on PGC-1α levels [$F(3,51)=6.52$, $p=0.001$, $p\eta^2=0.27$], but the group effect [$F(1,17)=0.79$, $p=0.38$] and time - group interaction [$F(3,51)=1.53$, $p=0.21$] was not significant. PGC-1α had a significant increases after the RSA in both groups ($p=0.004$), but its changes were not significant after CWI or rest ($p=1.00$). In addition, PGC-1α changes was not significant after 24h ($p=1.00$). Moreover, the time factor had a significant effect on irisin levels [$F(3,51)=15.38$, $p<0.001$, $p\eta^2=0.47$], but the group effect [$F(1,17)=0.48$, $p=0.49$] and the time – group interaction [$F(3,51)=1.91$, $p=0.14$] were nor significant. In other hand, irisin had a significant increases after the RSA in both groups ($p<0.001$), but its changes were not significant after CWI or rest ($p=0.06$). Further, the changes of irisin was not significant after 24h ($p=1.00$). **Conclusion**: It seems that the RSA could improve cellular processes through PGC-1α & irisin elevation.

Keywords: Cold water immersion, Repeated sprint activity, PGC-1α, Irisin.

***Corresponding Author, Address: Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran;**
Email: mrkordi@ut.ac.ir **DOI: 10.22077/JPSBS.2018.993.1313**

www.SID.ir

نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
بهار و تابستان ۱۳۹۹، دوره ۸، شماره ۱۵، ص ۲۰-۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۳
Acchive of SID

تأثیر غوطه وری در آب سرد پس از فعالیت سرعتی تکراری بر سطوح سرمی PGC-1α و آیریزین در مردان جوان فعال

سامان حاجی‌زاده انور[۱]، محمدرضا کردی[۲*]، پریسا پورنعمتی[۳]، سارا فرج نیا[۴]، نیما قره داغی[۵]، محمدرضا رحمتی[۱]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۴. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۵. دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عامل فعال کننده گیرنده گاما فعال شده با تکثیر کننده پروکسی زومی ۱-آلفا (PGC-1α) در زیست‌زایی میتوکندریایی و آیریزین در رگ‌زایی، عضله‌زایی و سلامتی بسیار مهم می‌باشند. هدف این تحقیق، بررسی تاثیر غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت سرعتی تکراری، بر میزان آیریزین و PGC-1α بود. **روش تحقیق:** از بین ۵۰ ورزشکار لیگ برتر فوتبال تهران، ۲۰ مرد (میانگین سنی ۱/۶۷±۲۳/۵ سال)، به شکل تصادفی ساده انتخاب و پس از فعالیت سرعتی تکراری شدید، ۱۰ آزمودنی در آب سرد ۱۴ درجه سانتی گراد (CWI) قرار گرفتند و باقی آن ها (CON) روی صندلی نشستند. قبل و پس از فعالیت، غوطه‌وری آب سرد یا استراحت و ۲۴ ساعت بعد؛ خونگیری به عمل آمد. آیریزین و PGC-1α سرمی با روش الایزا با کیت شرکت زل بایو آلمان سنجیده شدند. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای تعیین اختلاف احتمالی میانگین‌ها در هر یک از گروه‌ها در زمان‌های مختلف و بررسی اثر تعاملی روش بازیافت و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری؛ از روش آماری تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر استفاده شد و سطح معنی داری $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** عامل زمان بر PGC-1α اثر معنی دار داشت [η^2_p=۰/۲۷، F(۳، ۵۱)=۶/۵۲، p=۰/۰۰۱]، اما اثر گروه [p=۰/۳۸، F (۱، ۱۷)=۰/۷۹] و اثر ترکیبی (زمان × گروه) معنی دار نبود [p=۰/۲۱، F(۳، ۵۱)=۱/۵۳]. عامل PGC-1α در هر دو گروه (CWI و CON) پس از فعالیت افزایش معنی دار داشت (p=۰/۰۰۴)، اما پس از غوطه وری یا استراحت، تغییر معنی دار نکرد (p=۱/۰۰). همچنین ۲۴ ساعت بعد، تغییرات آن معنی دار نبود (p=۱/۰۰). به علاوه، عامل زمان بر مقادیر آیریزین اثر معنی داری داشت [η^2_p=۰/۴۷، p<۰/۰۰۱، F(۳، ۵۱) =۳۸/۱۵]، اما اثر گروه [p=۰/۴۹، F(۱، ۱۷) =۰/۴۸] و اثر ترکیبی (زمان × گروه) معنی دار نبود [p=۰/۱۴، F(۳، ۵۱)=۱/۹۱]. همچنین آیریزین در هر دو گروه پس از فعالیت افزایش معنی دار داشت (p<۰/۰۰۱)، اما مقادیر آن پس از غوطه وری یا استراحت، با تغییر معنی داری همراه نبود (p=۰/۰۶). بـه علاوه، ۲۴ ساعت بعد تغییرات این شاخص معنی دار نبود (p=۱/۰۰). **نتیجه گیری:** به نظر فعالیت سرعتی تکراری می تواند با افزایش PGC-1α و آیریزین، به فرآیندهای مثبت سلولی کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: غوطه‌وری در آب سرد، فعالیت سرعتی تکراری، عامل کمکی رونویسی پروکسی زومی ۱-آلفا ، آیریزین.

* نویسنده مسئول، آدرس: تهران، خیابان کارگر شمالی، بالاتر از تقاطع جلال آل احمد، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: mrkordi@ut.ac.ir
DOI: 10.22077/JPSBS.2018.993.1313

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

به خوبی روشن شده است که عامل کمکی فعال کننده گیرنده گامای فعال شده با تکثیر کننده پروگزیزومی[1] (PGC-1α) به‌عنوان کنترل کننده اصلی زیست‌زایی میتوکندریایی (پوگ سرور و اسپیگلمان[2]، ۲۰۰۳) با کمک کنترل کننده‌های بالادستی آن که توسط عوامل حساس به سطح انرژی و استرس سلول یعنی پروتئین کیناز فعال شده با AMP[3] (AMPK) و پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن[4] (P38-MAPK) فسفوریله می‌شوند، در بسیاری از فرآیندها مانند تغییر نوع تار عضلانی و تغییر متابولیسم از گلیکولتیک به اکسایشی (بوستروم[5] و دیگران، ۲۰۱۲)، کند کردن جریان کلسیم و بهبود استقامت (هکشتدن[6] و دیگران، ۲۰۱۳)، کنترل عامل رشد اندوتلیال عروقی و رگ زایی (پدرسن[7]، ۲۰۱۲) و بسیاری دیگر از سایر فرآیندهای سلولی؛ نقش مهمی دارد. از سوی دیگر، مشخص شده است که PGC-1α عاملی حساس به سرماست (اولیویرا[8] و دیگران، ۲۰۰۴) و تحقیقات اخیر قابلیت یک وهله غوطه‌وری در آب سرد پس از تمرین را در افزایش بیان آن نشان داده‌اند (ایهسان[9] و دیگران، ۲۰۱۵). در نمونه‌های انسانی، محیط سرد به‌تنهایی (اسلیوکا[10] و دیگران، ۲۰۱۲؛ اسلیوکا و دیگران، ۲۰۱۳) و غوطه‌وری در آب سرد پس از تمرین، بیان ژن و ترجمه پروتئین PGC-1α را افزایش داده‌اند (ایهسان و دیگران، ۲۰۱۵). ورزشکاران برای بازگشت هرچه زودتر به حالت اولیه، از غوطه‌وری در آب سرد استفاده می‌کنند و در این روش با وجود نبود شواهد علمی کافی (هیگینز[11] و دیگران، ۲۰۱۲)، دمای کمتر یا مساوی ۱۵ درجه سانتی‌گراد به عنوان مناسب ترین روش مورد استفاده قرار می گیرد (ویلکاک[12] و دیگران، ۲۰۰۶). سازوکارهای دقیق موثر در کنترل بیان PGC-1α بر اثر سرما هنوز به‌شکل کامل شناخته نشده و شواهد موجود نشان می‌دهند که تغییراتی موضعی چون تنگی عروق خونی بر اثر سرما (گرگسون[13] و دیگران، ۲۰۱۱)، نمی‌توانند در افزایش PGC-1α دخالت داشته باشند (تیلور[14] و دیگران، ۲۰۱۶). در عوض، به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت سیستمیک بتا-آدرنرژیک[15] ناشی از سرما، نقش اصلی را در القای تاثیرات محیط سرد بر افزایش بیان PGC-1α از راه گیرنده‌های بتا ۲ آدرنرژیک (میورا[16] و دیگران، ۲۰۰۷) و AMPK (مانفردی[17] و دیگران، ۲۰۱۳) داشته باشد. همچنان که ایهسان و دیگران (۲۰۱۴) نیز مشاهده کرده اند، افزایش در رونویسی PGC-1α در عضوی که تنها تمرین کرده و در آب سرد غوطه‌ور نشده در مقایسه با غوطه‌ور شدن در آب سرد رخ نداد. به عبارت دیگر، افزایش در رونویسی PGC-1α بر اثر تمرین در مقایسه با غوطه‌وری در آب سرد پس از تمرین، رخ نمی دهد. بر این اساس، نقش غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت، نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

با توجه به عدم تاثیر مستقیم سازوکارهای موضعی در افزایش PGC-1α (الن[18] و دیگران، ۲۰۱۷)، می‌توان انتظار داشت سطوح در گردش آن بر اثر غوطه‌وری درآب سرد بدنبال فعالیت بدنی، افزایش یابد؛ این در حالی است که تاکنون اغلب تحقیق‌های انجام شده به سنجش موضعی PGC-1α از طریق نمونه های بافتی پرداخته‌اند و به دلیل محدودیت های روش شناختی، کمتر تحقیقی می توان یافت که این عامل را به شکل سیستمیک بررسی کرده باشد. علاوه بر این، به خوبی روشن شده است که PGC-1α به فعالیت و تمرین – هردو- حساس است (بارتلت[19] و دیگران، ۲۰۱۳) و در این بین، فعالیت سرعتی تکراری[20] که در بیشتر فعالیت های گروهی و مسابقات ورزشی اتفاق می‌افتد و از وهله‌های فعالیت سرعتی کمتر از ۱۰ ثانیه و استراحت‌های کمتر از ۶۰ ثانیه در بین وهله‌های فعالیت شدید؛ تشکیل شده است (جرارد[21] و دیگران، ۲۰۱۱)؛ تغییرات عمده‌ای در سطح انرژی سلول ایجاد می‌کند (بوچر[22]، ۲۰۱۰) و احتمالا می‌تواند در افزایش مقادیر PGC-1α دخیل باشد. در کل، تاثیر دقیق این نوع فعالیت‌ها، موضوعی است که می بایست به روشنی بیان شود و سازوکار مداخله‌کننده آن بر افزایش PGC-1α به دقت مورد بررسی قرار گیرد.

1. Peroxisome proliferator- activated receptor γ coactivator-1α (PGC-1α)
2. Puigserver & Spiegelman
3. AMP- activated protein kinase
4. P38 Mitogen-activated protein kinase
5. Boström
6. Hecksteden
7. Pedersen
8. Oliveira
9. Ihsan
10. Slivka
11. Higgins
12. Wilcock
13. Gregson
14. Taylor
15. B-adrenergic systemic control
16. Miura
17. Manfredi
18. Allan
19. Bartlett
20. Repeated sprint activity
21. Girard
22. Boutcher

www.SID.ir

Archive of SID

آیریزین[1] به‌عنوان مایوکاینی[2] تحت کنترل PGC-1α (هکشتدن و دیگران، ۲۰۱۳) و مشتق از پروتئین غشایی نوع I با نام ساختار نوع سوم فیبرونکتین حاوی پروتئین ۵[3] (FNDC-5) معرفی شده است و از آن با نام مایوکاین تمرین نام برده می‌شود (السن[4] و دیگران، ۲۰۱۴). با توجه به نقش آیریزین در رگزایی، عضله‌زایی، تنظیم عروق خونی و حتی محافظت از دستگاه عصبی و احتمالا حفظ طول تلومر[5] (نوول[6] و دیگران، ۲۰۱۳)، این مایوکاین توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. هرچند آیریزین به‌عنوان مایوکاین تمرین شناخته شده است، نقش دقیق تمرین و فعالیت در کنترل مقادیر آیریزین در گردش هنوز به‌شکل کامل روشن نشده است (دیناس[7] و دیگران، ۲۰۱۷) و در مجموع، تاثیر تمرین بر آیریزین در گردش، مبهم است (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷) و فعالیت‌های سرعتی تکراری نیز از این دایره خارج نیست. از سوی دیگر، علیرغم این که به‌نظر می‌رسد سرما یکی از عوامل تحریک کننده رهایش آیریزین باشد (لی[8] و دیگران، ۲۰۱۴)، تاثیر غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت و تمرین، بر مقادیر سرمی آیریزین در گردش به شکل کامل مورد بررسی قرار نگرفته است و معدود مطالعات انجام شده بر این نکته تاکید دارند که آیریزین پس از غوطه‌وری در آب سرد، افزایش می یابد (لی و دیگران، ۲۰۱۴).

در مجموع، با وجود مشخص بودن تاثیر تمرین بر بیان ژن PGC-1α، هنوز اثر آن بر مقادیر پروتئینی این عامل مشخص نیست و با توجه به نقش فعالیت‌های سرعتی تکراری در ورزش های گوناگون، بررسی این نکته اهمیت دو چندان پیدا می کند. با توجه به متداول بودن روش بازیافت غوطه وری در آب سرد پس از تمرین، لازم است تاثیر آن بر مقادیر PGC-1α روشن شود. از سوی دیگر، تاثیر تمرین بر مقادیر آیریزین سرمی با توجه به نقش‌های گسترده احتمالی آن در سلامتی هم به‌درستی شناخته نشده است و نقش فعالیت سرعتی تکراری بر مقادیر آن نامشخص است. بیشتر تحقیق‌ها در زمینه تاثیر سرما بر آیریزین از سایر روش‌های سرما درمانی استفاده کرده‌اند و در زمینه تاثیر غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت سرعتی تکراری بر مقادیر آیریزین سرمی، اطلاعات کافی در دست نیست. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی میزان تغییرات سطوح PGC-1α و آیریزین سرمی و اثرات غوطه وری در آب سرد پس از انجام فعالیت سرعتی تکراری، بر مقادیر سرمی آیریزین و PGC-1α بود.

روش تحقیق

در این تحقیق نیمه تجربی، جامعه آماری را مردان تمرین کرده عضو باشگاه‌های لیگ برتر فوتبال تهران تشکیل دادند و تعداد نمونه نیز با توجه به مقدار آلفا (α=۰/۰۵) و بتا (β=۰/۸۵) و تفاوت ۲۵ درصدی بین و درون گروهی می‌بایست حداقل ۸ آزمودنی برای هر گروه در نظر گرفته می‌شد؛ اما برای اطمینان، تعداد آزمودنی ۲۰ نفر در نظر گرفته شد (مشخصات فردی آزمودنی ها در جدول ۱ ارائه شده است). پس از انتخاب آزمودنی‌ها، مراحل تحقیق برای آن ها توضیح داده شد و از آنها رضایت‌نامه شرکت در تحقیق‌اخذ گردید. مراحل مختلف این مطالعه به تایید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با شماره مجوز IR.SSRC.REC.1396.147 رسید. سپس آزمودنی‌ها به روش تصادفی ساده به دو گروه غوطه وری در آب سرد (CWI، n=۱۰) و کنترل (CON، n=۱۰) تقسیم شدند. برای رفع اثر چرخه شبانه روزی، تمامی آزمون ها در ساعت ۸ تا ۱۱ صبح اجرا شد.

جدول ۱. مشخصات فردی شرکت کنندگان در تحقیق

گروه ها	تعداد	شاخص توده بدن (کیلوگرم/مترمربع)	اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی لیتر/کیلوگرم/دقیقه)	قد (متر)	وزن (کیلوگرم)
		میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار
CWI	۱۰	۲۱/۳۹±۱/۹۸	۵۴/۷۱±۳/۸۹	۱/۷۶±۰/۰۶	۶۷/۰۰±۸/۷۴
CON	۱۰	۲۱/۹۹±۲/۰۶	۵۳/۵۸±۳/۷۹	۱/۷۴±۰/۰۵	۶۷/۵۰±۸/۳۰

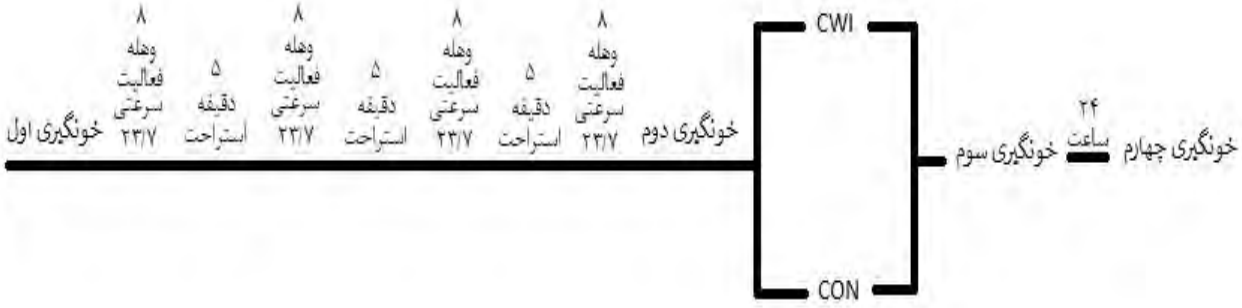
1. Irisin
2. Myokine
3. Fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5)
4. Elsen
5. Telomere
6. Novelle
7. Dinas
8. Lee

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به پیش شرط فعال بودن آزمودنی‌ها جهت شرکت در تحقیق، ابتدا از آزمودنی‌های داوطلب آزمون حداکثر اکسیژن مصرفی[1] (VO_{2max}) با استفاده از پروتکل بروس[2] و با کمک دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی (مدل گان شورن[3] ساخت کشور آلمان) گرفته شد و سپس از بین ۵۰ نفر آزمودنی واجد شرایط، ۲۰ نفر به شکل تصادفی ساده انتخاب و به قید قرعه به دو گروه تقسیم شدند. در مرحله بعد، از آزمودنی‌ها خواسته شد در روزهای قبل از فعالیت سرعتی تکراری، مواردی مانند عدم انجام فعالیت تا ۷۲ ساعت قبل از حضور جهت اجرا، مراجعه به صورت ناشتا، عدم استعمال دخانیات شب قبل از فعالیت، عدم مصرف کافئین (نورهایم[4] و دیگران، ۲۰۱۴) و الکل (سگزوورث[5]، ۲۰۱۵) شب قبل از فعالیت و همچنین داشتن خواب کافی را رعایت نمایند.

در روز اول پروتکل، ابتدا آزمودنی‌ها پس از خون‌گیری اول (قبل از انجام فعالیت سرعتی تکراری)، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰ درصد حداکثر بار کار برای گرم کردن شروع به رکاب زدن کردند (هویبرت[6] و دیگران، ۲۰۰۵). پس از اتمام پروتکل گرم کردن، فعالیت اصلی سرعتی تکراری شامل ۸ تکرار رکاب‌زنی به مدت ۷ ثانیه در هر وهله با حداکثر سرعت و ۲۳ ثانیه استراحت بین هر وهله تکرار (واندرویل[7] و دیگران، ۱۹۸۷) با بار کار مساوی با حاصل ضرب عدد ۰/۰۷۵ در وزن بدن به کیلوگرم (ملهیم[8]، ۲۰۰۱) انجام شد. پس از تکرار وهله هشتم فعالیت سرعتی، آزمودنی‌ها به مدت ۵ دقیقه استراحت کردند و پس از دور چهارم، خون‌گیری دوم انجام شد (پروتکل فعالیت ورزشی سرعتی تکراری و زمان بندی خون‌گیری پیش و پس از آن در شکل ۱ آورده شده است). پس از آن، آزمودنی‌های گروه CON به حالت غیرفعال و به‌شکل نشسته استراحت کردند، اما گروه CWI به‌مدت ۱۲ دقیقه در مخزنی از آب سرد با دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد تا عمقی که کاملا تا محدوده‌ی زائده خاجی بود، قرار گرفتند (یرگین[9] و دیگران، ۲۰۰۶). دمای آب هر دو دقیقه یک بار اندازه گیری و ثابت نگه داشته شد و ۱۵ دقیقه پس از اتمام ۱۲ دقیقه قرار گرفتن در آب سرد، بار دیگر از هر دو گروه خون‌گیری به عمل آمد. پس از ۲۴ ساعت نیز بار دیگر نمونه‌گیری انجام شد و نمونه‌های خونی پس از سانتریفیوژ و جداسازی سرم، برای سنجش متغیرهای مورد تحقیق در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.



شکل ۱. نمای شماتیک پروتکل تمرین مورد استفاده و مراحل خون‌گیری در تحقیق

1. Maximal oxygen consumption
2. Bruce protocol
3. Ganshorn
4. Norheim
5. Segsworth
6. Heubert
7. Vandewalle
8. Melhim
9. Yeargin

www.SID.ir

Archive of SID

برای سنجش مقادیر سرمی PGC-1α و آیریزین از کیت مختص سنجش پروتئین انسانی (زل بایو جی ام بی اچ[1] ZB-11876-H9648) با حداقل میزان قابل تشخیص[2] (LDL) معادل ۰/۰۹ نانوگرم/ میلی لیتر و به روش الایزا[3] استفاده شد. روش الایزا روشی رنگ سنجی[4] است که با استفاده از المان بتا دیستروبروین[5] (DTNB) انجام می‌شود. بدین ترتیب عامل مورد تحقیق بر سطح یک میکروپلیت تثبیت و پس از آن آنتی‌ژن اختصاصی به میکروپلیت افزوده شد. در این مرحله اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن انجام شد و آنتی‌بادی به یک آنزیم متصل بود، بنابراین، افزودن سوبسترای آنزیم به میکروپلیت، منجر به یک واکنش رنگی شد و شدت رنگ حاصل متناسب با غلظت آنتی‌بادی و به عبارت بهتر، متناسب با غلظت آنتی‌ژن در نمونه مورد مطالعه بود. با استفاده از روش اسپکتروفتومتری[6]، میزان جذب نوری محلول اندازه‌گیری و میزان عامل مورد مطالعه محاسبه گردید (می و گش[7]، ۱۹۹۸).

داده‌های آماری به کمک نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها آزمون شاپیرو-ویلک[8] و تعیین اختلاف احتمالی میانگین‌ها در هر یک از گروه‌ها در زمان‌های مختلف و بررسی اثر تعاملی، اثر روش بازیافت و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری؛ از روش آماری تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی[9] استفاده شد و سطح معنی داری $p\leq ۰/۰۵$ منظور گردید.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به تغییرات PGC-1α در مراحل مختلف آزمایش در گروه‌های مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. عامل زمان بر مقادیر PGC-1α اثر معنی داری داشت [$F(۳، ۵۱) = ۶/۵۲$، $p=۰/۰۰۱$، $\eta^۲=۰/۲۷$] ، اما این تغییر بین دو گروه معنی‌دار نبود [$F (۱، ۱۷) = ۰/۷۹$، $p=۰/۳۸$]. اثر معنی دار ترکیبی زمان و گروه (زمان × گروه) نیز مشاهده نشد [$F (۳، ۵۱) = ۱/۵۳$، $p=۰/۲۱$]. عامل PGC-1α در هر دو گروه (CWI و CON) پس از فعالیت سرعتی تکراری به میزان ۳۷ درصد افزایش معنی داری پیدا کرد ($p=۰/۰۰۴$)، در حالی است که با وجود افزایش ۱۴ درصدی مقادیر PGC-1α (جدول ۲) پس از غوطه وری یا استراحت غیرفعال، این تغییر معنی دار نبود ($p=۱/۰۰$). همچنین ۲۴ ساعت پس از غوطه‌وری در آب سرد یا استراحت غیرفعال با وجود کاهش ۷ درصدی مقادیر PGC-1α، این تغییرات معنی دار نبود ($p=۱/۰۰$).

جدول ۲. مقایسه متغیرهای PGC-1α و آیریزین پس از فعالیت سرعتی تکراری در دو محیط غوطه‌وری در آب سرد و معمولی

متغیر	گروه	خونگیری مرحله (۱)	خونگیری مرحله (۲)	خونگیری مرحله (۳)	خونگیری مرحله (۴)
PGC-1α نانوگرم/ میلی لیتر	CWI	۱۳/۳۵ ± ۷/۶۰	۱۸/۲۷ ± ۱۲/۲۰*	۱۵/۲۴±۱۱/۹۴	۱۲/۴۷±۷/۲۰
	CON	۱۲/۸۲±۱۱/۳۷	۹۵/۲۷ ± ۹/۰۰*	۱۸/۳۵±۱۱/۲۹	۱۲/۰۲±۱۰/۰۲
آیریزین نانوگرم/ میلی‌لیتر	CWI	۱۹/۰۳ ± ۱/۴۵	۴۵/۳ ± ۳/۹۰*	۳۲/۱۵ ± ۳/۶۰	۲۰/۲۰ ± ۲/۲۰
	CON	۱۴/۲۸ ± ۱/۸۱	۶۸/۷۰± ۲/۳۰*	۴۴/۱۱±۳/۲۰	۱۶/۴۳ ± ۱/۳۰

میزان PGC-1α و آیریزین پیش از فعالیت ورزشی سرعتی تکراری (مرحله ۱)، پس از پایان فعالیت ورزشی سرعتی تکراری (مرحله ۲)، پس از پایان ریکاوری (مرحله ۳)، ۲۴ ساعت پس از ریکاوری آب سرد و ریکاوری غیر فعال (مرحله ۴). مقادیر به صورت میانگین±انحراف استاندارد بیان شده اند. * نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به پیش از فعالیت سرعتی تکراری در سطح $p<۰/۰۵$.

1. Zellbio GMBH
2. Lowest detectable limit
3. ELISA
4. Calorimetry
5. Dystrobrevin beta
6. Spectrophotometry
7. May & Ghosh
8. Shapiro– Wilk
9. Bonferroni

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌های مربوط به تغییرات آیریزین در مراحل مختلف آزمایش در گروه‌های مختلف در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. عامل زمان بر مقادیر آیریزین اثر معنی‌داری داشت [η^2=۰/۴۷، p<۰/۰۰۱، F(۳، ۵۱) =۱۵/۳۸]، اما این تغییر بین دو گروه معنی‌دار نبود [p=۰/۴۹، F(۱، ۱۷) =۰/۴۸]. به علاوه، اثر معنی دار ترکیبی زمان و گروه (زمان × گروه) نیز مشاهده نشد [p=۰/۱۴، F(۳، ۵۱) =۱/۹۱]. عامل آیریزین در هر دو گروه (CWI و CON) پس از فعالیت سرعتی تکراری به میزان ۱۳۸ درصد افزایش معنی دار پیدا کرد (p<۰/۰۰۱)، در حالی است که با وجود افزایش ۶۹ درصدی مقادیر آیریزین (جدول ۲) پس از غوطه وری یا استراحت غیرفعال، این تغییر معنی دار نبود (p=۰/۶۰). همچنین ۲۴ ساعت پس از غوطه‌وری در آب سرد یا استراحت غیرفعال با وجود افزایش ۵ درصدی مقادیر آیریزین، این تغییرات معنی‌دار نبود (p=۱/۰۰).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پس از فعالیت سرعتی تکراری، مقادیر سرمی PGC-1α به میزان ۳۷ درصد در مردان جوان فعال در هر دو گروه CWI و CON افزایش می‌یابد اما غوطه‌وری در آب سرد یا استراحت غیرفعال، بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از آن، تاثیری بر مقادیر PGC-1α سرمی نداشت. از هنگام کشف PGC-1α به این سو، افزایش PGC-1α در پاسخ به فعالیت و تمرین تحت تحقیق‌های گسترده قرار گرفته و افزایش ۵ تا ۱۰ برابری بیان ژن آن تا ۳ ساعت پس از فعالیت گزارش شده است (الن و دیگران، ۲۰۱۷) که همسو با یافته تحقیق حاضر است. برخی دیگر از تحقیق‌ها نیز افزایش محتوای پروتئین PGC-1α تا ۳ برابر مقادیر استراحتی بلافاصله پس از تمرین را نشان داده‌اند (الن و دیگران، ۲۰۱۷). البته توجه به این موضوع لازم است که تقریبا تمامی تحقیق‌های بررسی شده در مورد PGC-1α از نمونه‌برداری بافت استفاده کرده‌اند. با این وجود برخی تحقیق‌ها هیچ افزایشی در مقادیر بیان ژن یا پروتئین PGC-1α پس از فعالیت نشان نداده‌اند (الن و دیگران، ۲۰۱۷). اختلاف بین یافته تحقیق حاضر درباره مقادیر PGC-1α و تحقیق‌های غیر همسو می‌تواند به نوع نمونه‌گیری (نمونه از بافت عضله در سایر تحقیق‌ها و نمونه سرمی در تحقیق کنونی) و یا زمان سنجش نمونه‌ها (۳ تا ۴ ساعت در سایر تحقیق‌ها و بلافاصله پس از فعالیت در تحقیق کنونی) مربوط باشد (ایمپی[1] و دیگران، ۲۰۱۶). چرا که بر اساس مطالعات انجام شده تا پیش از انجام این تحقیق، نمونه‌گیری سرمی به دلیل محدودیت های روش‌شناختی برای سنجش عامل PGC-1α به ندرت انجام شده است. لذا در این تحقیق با گردآوری مقالات متعدد و مشورت با اساتید و شرکت های معتبر بین المللی، از نمونه سرمی جهت سنجش مقادیر PGC-1α استفاده کردیم و با توجه به زمان‌بر بودن رهایش پروتئین در خون و این که حتی بیان ژن نیز نمی‌تواند دلیلی بر مشاهده قطعی پروتئین در خون باشد (الن و دیگران، ۲۰۱۷)، این نتیجه‌گیری درست به نظر می‌رسد.

در افزایش مقادیر PGC-1α پس از فعالیت و تمرین، نقش کینازهای بالادستی کنترل کننده مقادیر PGC-1α یعنی AMPK و P38 MAPK با قاطعیت بیان شده است (کانتو و آور[2]، ۲۰۱۰). در این میان، p38 MAPK کینازی است که به استرس حساس است و نشان داده شده است که پس از یک وهله فعالیت فارغ از شدت آن، به‌شکل گسترده‌ای فسفوریله می‌شود (ایگان[3] و دیگران، ۲۰۱۰). همچنین P38 MAPK می‌تواند از طریق افزایش اثر عامل ۲ فعال کننده رونویسی[4] (ATF2) بر پیش‌برنده[5] PGC-1α و تغییرات PGC-1α تاثیر بگذارد (الن و دیگران، ۲۰۱۷). اما فسفوریلاسیون AMPK نیز که در اثر فعالیت ورزشی، افزایش قابل توجهی پیدا می کند و از کنترل کننده‌های اصلی مقادیر PGC-1α به‌شمار می‌رود؛ به شدت فعالیت وابسته است (الن و دیگران، ۲۰۱۷). از این منظر، فعالیت سرعتی تکراری بکار رفته در تحقیق حاضر که از شدت بالایی برخوردار بود، نیز احتمالا نقش برجسته‌ای در تغییر مقادیر PGC-1α داشته است. در نتیجه با توجه به افزایش مرتب فسفوریلاسیون P38 MAPK بر اثر فعالیت و تمرین (ویدگرن[6] و دیگران، ۱۹۹۸) و افزایش AMPK ناشی از

1. Impey
2. Cantó & Auwerx
3. Egan
4. Activating transcription factor 2
5. Promoter
6. Widegren

www.SID.ir

Archive of SID

شدت فعالیت، به‌نظر می‌رسد کینازهای مربوطه در تغییر مقادیر PGC-1α در تحقیق حاضر نیز دخالت داشته‌اند؛ هرچند که به دلیل عدم امکان اندازه‌گیری آن ها در این مطالعه، نمی‌توان این توضیحات را موثق دانست.

در تحقیق‌های اخیر بر اثر محیط سرد و غوطه‌وری در آب سرد، افزایش بیان ژن PGC-1α، ۳ تا ۶ ساعت پس از تمرین در عضله اسکلتی و همچنین ترجمه پروتئین آن نشان داده شده‌اند (الن و دیگران، ۲۰۱۷). سازوکار مربوط به پاسخ PGC-1α به سرما از گیرنده‌های دمای موجود در پوست حاصل می‌شود که بر اثر محیط سرد فعال می‌شوند (الن و دیگران ۲۰۱۷). از طرفی هم اخیراً نشان داده شده است که این پاسخ موضعی نیست، چرا که با وجود کاهش دما در عضو غوطه‌ور شده در آب سرد، مقادیر PGC-1α در عضو غوطه‌ور نشده نیز به همان میزان افزایش می‌یابد (الن و دیگران، ۲۰۱۷) و این موضوع نشان می‌دهد که می‌توان از نمونه سرمی جهت سنجش مقادیر PGC-1α استفاده کرد. نتایج تحقیق کنونی بر خلاف سایر تحقیق‌ها، افزایش و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه غوطه‌وری در آب سرد و بدون غوطه‌وری را بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از آن، در PGC-1α سرمی نشان نداد. به دلیل تعدد فاکتورهایی که باید سنجیده می‌شدند، ما بر خلاف سایر تحقیق‌ها نتوانستیم در ۳ یا ۶ ساعت پس از غوطه‌وری در آب سرد به نمونه‌گیری بپردازدیم. با توجه به افزایش بیان ژن و پروتئین PGC-1α در تحقیق‌های گوناگون (بار[1] و دیگران، ۲۰۰۲؛ اسلیوکا و دیگران، ۲۰۱۲؛ ایهسان و دیگران، ۲۰۱۵؛ چو[2]، ۲۰۱۵)، در ۳، ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت پس از محیط سرد یا غوطه‌وری در آب سرد (چو و دیگران، ۲۰۱۵)؛ نتایج دیگران با نتایج ما همسو نیست و به نظر می‌رسد زمان نمونه گیری در تحقیق حاضر، در عدم مشاهده افزایش این عامل تاثیر داشته است. همچنین با توجه به این که عامل PGC-1α عاملی بسیار موقتی است (ویلنا[3]، ۲۰۱۵)، بازگشت مقادیر سرمی این عامل پس از پیگیری ۲۴ ساعتی به مقادیر پایه قابل توضیح است. چرا که تغییرات همودینامیکی بین بافت سردتر رویی و بافت گرم‌تر عمقی از ۳۰ دقیقه پس از غوطه‌وری بعد از تمرین، منجر به گرم‌تر شدن تدریجی سطح رویی و انتقال تدریجی سرما به بافت‌های عمقی می‌شود (چو و دیگران، ۲۰۱۵) که می‌تواند خود عاملی در راستای کاهش PGC-1α به مرور زمان باشد. همچنین ممکن است اختلاف نتایج این تحقیق با سایر تحقیق‌ها به دلیل نوع نمونه (سرم در مقابل بافت) باشد. همچنین از آنجا که PGC-1α در آغاز به‌عنوان عاملی تحت تاثیر سرما معرفی شده است (الن و دیگران، ۲۰۱۷)، پیشنهاد شده که دمای عضو غوطه‌ور شده در آب سرد می‌تواند در میزان افزایش مقادیر PGC-1α دخالت داشته باشد (الن و دیگران، ۲۰۱۷؛ چو و دیگران، ۲۰۱۵). در تحقیق کنونی، با وجود کنترل دمای آب (۱۴ درجه سانتی‌گراد)، دمای بدن و بخش غوطه‌ور شده در آب سرد کنترل نشد و از تغییرات دمای بدن و اعضای غوطه‌ور شده در آب سرد اطلاع دقیقی در دست نیست. بنابراین، مشخص نیست که دمای بدن به اندازه‌ای کاهش یافته باشد که برای تحریک و افزایش مقادیر PGC-1α کافی بوده باشد و این نکته‌ای است که باید در تحقیق‌های آتی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه تحقیق حاضر در باره آیریزین سرمی نشان داد که پس از فعالیت سرعتی تکراری، مقادیر سرمی آیریزین به میزان ۱۳۸ درصد در مردان جوان فعال در هر دو گروه غوطه وری در آب سرد و کنترل افزایش می یابد. غوطه‌وری در آب سرد یا استراحت غیرفعال، بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از آن، تاثیری بر مقادیر آیریزین سرمی نداشت. نتایج تحقیق‌های گوناگون تا به امروز در زمینه تاثیر فعالیت و تمرین بر سطوح آیریزین در گردش بسیار مبهم هستند (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷). با وجود معرفی آیریزین به عنوان عاملی که از مغز و عضله اسکلتی ترشح می‌شود و تحت تاثیر PGC-1α است (پوگ سرور و اشپیگل‌مان[4]، ۲۰۰۳)، تحقیق‌های متعدد نتوانسته‌اند همبستگی این دو عامل به یکدیگر را روشن

1. Baar
2. Choo
3. Villena
4. Puigserrer & Spiegelman

www.SID.ir

Archive of SID

سازند و برخی از آنها به همبستگی افزایش آیریزین و PGC-1α دست یافته‌اند و برخی نیز همبستگی میان این دو با یکدیگر بدست نیاورده اند (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷). همچنین به دلیل تفاوت‌های روش شناختی (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷)، مقادیر آیریزین با دقت کامل اندازه‌گیری نمی‌شود و می‌بایست روش‌های دقیق‌تری برای سنجش مقادیر آیریزین در گردش معرفی شوند (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷). از بین تحقیق‌هایی که از روش های وسترن بلات[1] و طیف سنجی جرمی[2] به‌شکل جداگانه استفاده کرده‌اند، تنها یک تحقیق از هر دو روش استفاده کرده و افزایش مقادیر آیریزین سرمی بر اثر فعالیت شدید را گزارش کرده است (لی و دیگران، ۲۰۱۴). با توجه به تاثیر بیشتر شدت فعالیت بر مقادیر آیریزین (سوچیا[3] و دیگران، ۲۰۱۴)، فعالیت سرعتی تکراری مورد استفاده در تحقیق کنونی می‌تواند افزایش معنی‌دار مقادیر آیریزین در هر دو گروه پس از فعالیت سرعتی تکراری را توجیه نماید. برخی از تحقیق‌ها نیز به تفاوت‌های موجود بین آیریزین و پروتئین غشایی نوع I با نام FNDC5 توجه نداشته‌اند و برخی از گزارش‌ها مبنی بر افزایش مقادیر آیریزین، در واقع به افزایش مقادیر FNDC5 اختصاص دارند و امروزه مشخص شده است باید میان آیریزین در گردش و پروتئین غشایی مورد نظر، تفاوت قائل شد (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷). از بین تمامی تحقیق‌هایی که تاثیر یک جلسه تمرین را بر مقادیر آیریزین سرمی سنجیده‌اند، بیشتر آن ها افزایش مقادیر آیریزین را پس از فعالیت گزارش کرده‌اند و برخی نیز افزایشی در مقادیر آیریزین سرمی پس از فعالیت و تمرین مشاهده نکرده‌اند (دیناس و دیگران، ۲۰۱۷). لذا نتایج تحقیق کنونی هم‌راستا با تعداد زیادی از تحقیق‌های دیگر، افزایش مقادیر آیریزین در گردش را پس از فعالیت نشان می‌دهد. با استفاده از روش الایزا به‌نظر می‌رسد سطح آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها بر افزایش سطوح آیریزین بر اثر فعالیت موثر باشد (الداقری[4] و دیگران، ۲۰۱۵؛ کوازنیوسکا[5] و دیگران، ۲۰۱۶) و از این منظر با توجه به سطح VO_{2max} (۳/۸۴±۵۴/۱۴ میلی‌لیتر/کیلوگرم/دقیقه) آزمودنی‌های شرکت کننده در تحقیق کنونی، افزایش آیریزین سرمی پس از فعالیت سرعتی تکراری قابل توجیه است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که غوطه‌وری در آب سرد بلافاصله پس از فعالیت سرعتی تکراری و ۲۴ ساعت پس از آن، تاثیری بر مقادیر آیریزین سرمی در مقایسه با گروه کنترل ندارد؛ در این زمینه برخی تحقیق‌ها افزایش جزئی مقادیر آیریزین سرمی را همسو با نتایج تحقیق کنونی تا ۲۴ ساعت پس از یک وهله غوطه‌وری در آب سرد نشان داده اند (لومباردی[6] و دیگران، ۲۰۱۷). هر چند تحقیقی اخیراً نشان داده است که مقادیر آیریزین سرمی پس از غوطه‌وری در آب سرد در آزمودنی‌هایی که دارای سطح آمادگی جسمانی بالاتری هستند، کاهش می‌یابد (دالیان[7] و دیگران، ۲۰۱۵) و با توجه به سطح آمادگی آزمودنی‌ها در تحقیق کنونی و عدم تغییر معنی دار مقادیر آیریزین در این تحقیق، این موضوع قابل توجیه است. اما یکی از سازوکارهای اصلی در زمینه افزایش مقادیر آیریزین در اثر غوطه‌وری در آب سرد، تولید سازوکار لرزشی بر اثر سرماست (لومباردی و دیگران، ۲۰۱۷) چنان‌که در تحقیق دیگری نشان داده شده که مقدار لرزش حاصل از غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت شدید، با مقدار افزایش آیریزین تناسب دارد (لی و دیگران، ۲۰۱۴)؛ و با توجه به عدم سنجش سازوکار لرزشی در تحقیق کنونی، نمی‌توان به شکل دقیق در این باره اظهار نظر کرد. هر چند به‌نظر می‌رسد دما و زمان غوطه‌وری در آب سرد در تحقیق کنونی (۱۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ دقیقه) جهت تحریک سازوکار لرزشی کافی نبوده است و این شاید دلیلی بر عدم تاثیر غوطه‌وری در آب سرد بر مقادیر آیریزین باشد.

نتیجه گیری: با توجه به کاربرد فراوان فعالیت های سرعتی تکراری در انواع رشته‌های ورزشی و همچنین تاکید بر بازیافت هرچه سریع تر ورزشکاران با استفاده از غوطه‌وری در آب سرد، پیشنهاد می‌شود تحقیق‌های بیشتری در رابطه با تاثیر غوطه‌وری در آب سرد پس از فعالیت‌های سرعتی

1. Western Blot
2. Mass spectrometry
3. Tsuchiya
4. Al-Daghri
5. Kwaśniewska
6. Lombardi
7. Dulian

www.SID.ir

Archive of SID

تکراری بر سازوکارهای مربوط به سازگاری با تمرین انجام پذیرد. در این رابطه پیشنهاد می‌شود از دماهای پایین‌تر و مدت زمان غوطه‌وری بیشتری استفاده شود. همچنین با توجه به نیاز روش‌های الایزا به اعتبار سنجی، برای سنجش آیریزین پیشنهاد می‌شود از روش های دیگری در کنار این روش استفاده شود و نتایج با یکدیگر مقایسه شوند.

قدردانی و تشکر

بدینوسیله از زحمات و همکاری دکتر هوانلو و واحد آزمایشگاه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی و تمام کسانی که به عنوان آزمودنی در این تحقیق شرکت داشتند و این گروه تحقیقی را در انجام کار یاری نمودند، تشکر و قدردانی انجام می شود.

منابع

Al-Daghri, N. M., Alokail, M. S., Rahman, S., Amer, O. E., Al-Attas, O. S., Alfawaz, H., ... & Piya, M. K. (2015). Habitual physical activity is associated with circulating irisin in healthy controls but not in subjects with diabetes mellitus type 2. *European Journal of Clinical Investigation, 45***(8), 775-781.**

Allan, R., Sharples, A. P., Close, G. L., Drust, B., Shepherd, S. O., Dutton, J., ... & Gregson, W. (2017). Postexercise cold water immersion modulates skeletal muscle PGC-1α mRNA expression in immersed and nonimmersed limbs: evidence of systemic regulation. *Journal of Applied Physiology*, *123***(2), 451-459.**

Baar, K., Wende, A. R., Jones, T. E., Marison, M., Nolte, L. A., Chen, M. A. Y., ... & Holloszy, J. O. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *The Federation of American Societies For Experimental Biology Journal*, *16***(14), 1879-1886.**

Bartlett, J. D., Louhelainen, J., Iqbal, Z., Cochran, A. J., Gibala, M. J., Gregson, W., ... & Morton, J. P. (2013). Reduced carbohydrate availability enhances exercise-induced p53 signaling in human skeletal muscle: implications for mitochondrial biogenesis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 304***(6), R450-R458.**

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., ... & Kajimura, S. (2012). A PGC1-α dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature, 481***(7382), 463 -468.**

Boutcher, S. H. (2011). High-intensity intermittent exercise and fat loss. *Journal of Obesity*, *2011*, **1-10.**

Cantó, C., & Auwerx, J. (2010). AMP-activated protein kinase and its downstream transcriptional pathways. *Cellular and Molecular Life Sciences, 67***(20), 3407-3423.**

Dinas, P. C., Lahart, I. M., Timmons, J. A., Svensson, P. A., Koutedakis, Y., Flouris, A. D., & Metsios, G. S. (2017). Effects of physical activity on the link between PGC-1a and FNDC5 in muscle, circulating Irisin and UCP1 of white adipocytes in humans: A systematic review. *F1000Research*, *6*, **286.**

www.SID.ir

Dulian, K., Laskowski, R., Grzywacz, T., Kujach, S., Flis, D. J., Smaruj, M., & Ziemann, E. (2015). The whole body cryostimulation modifies irisin concentration and reduces inflammation in middle aged, obese men. *Cryobiology, 71***(3), 398-404.**

Egan, B., Carson, B. P., Garcia-Roves, P. M., Chibalin, A. V., Sarsfield, F. M., Barron, N., ... & O'Gorman, D. J. (2010). Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology, 588***(10), 1779-1790.**

Elsen, M., Raschke, S., & Eckel, J. (2014). Browning of white fat: does irisin play a role in humans? *Journal of Endocrinology, 222***(1), R25-R38.**

Girard, O., Mendez-Villanueva, A., & Bishop, D. (2011). Repeated-sprint ability—Part I. *Sports Medicine, 41***(8), 673-694.**

Gregson, W., Black, M. A., Jones, H., Milson, J., Morton, J., Dawson, B., ... & Green, D. J. (2011). Influence of cold water immersion on limb and cutaneous blood flow at rest. *The American Journal of Sports Medicine, 39***(6), 1316-1323.**

Hecksteden, A., Wegmann, M., Steffen, A., Kraushaar, J., Morsch, A., Ruppenthal, S., ... & Meyer, T. (2013). Irisin and exercise training in humans–results from a randomized controlled training trial. *BMC Medicine, 11***(1), 235.**

Heubert, R. A. P., Billat, V. L., Chassaing, P., Bocquet, V., Morton, R. H., Koralsztein, J. P., & Di Prampero, P. E. (2005). Effect of a previous sprint on the parameters of the work-time to exhaustion relationship in high intensity cycling. *International Journal of Sports Medicine, 26***(07), 583-592.**

Higgins, T. R., Cameron, M. L., & Climstein, M. (2012). Evaluation of passive recovery, cold water immersion, and contrast baths for recovery, as measured by game performances markers, between two simulated games of rugby union. *Journal of Strength and Conditioning Research*, **1-24.**

Ihsan, M., Markworth, J. F., Watson, G., Choo, H. C., Govus, A., Pham, T., ... & Abbiss, C. R. (2015). Regular postexercise cooling enhances mitochondrial biogenesis through AMPK and p38 MAPK in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 309***(3), R286-R294.**

Ihsan, M., Watson, G., Choo, H. C., Lewandowski, P., Papazzo, A., Cameron-Smith, D., & Abbiss, C. R. (2014). Postexercise muscle cooling enhances gene expression of PGC-1α. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 46* **(10), 1900-1907.**

Impey, S. G., Hammond, K. M., Shepherd, S. O., Sharples, A. P., Stewart, C., Limb, M., ... & Close, G. L. (2016). Fuel for the work required: a practical approach to amalgamating train-low paradigms for endurance athletes. *Physiological Reports, 4***(10), e12803.**

Joo, C. H. (2015). *Effect of post -exercise cold water immersion on molecilar on responses to high intesity intermittent exercise.* **Doctoral dissertation, Liverpool John Moores University.**

www.SID.ir

Archive of SID

Kwaśniewska, M., Kostka, T., Jegier, A., Dziankowska-Zaborszczyk, E., Leszczyńska, J., Rębowska, E., ... & Drygas, W. (2016). Regular physical activity and cardiovascular biomarkers in prevention of atherosclerosis in men: a 25-year prospective cohort study. *BMC Cardiovascular Disorders, 16***(1), 65.**

Lee, P., Linderman, J. D., Smith, S., Brychta, R. J., Wang, J., Idelson, C., ... & Kebebew, E. (2014). Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metabolism, 19***(2), 302-309.**

Lombardi, G., Ziemann, E., & Banfi, G. (2017). Whole-body cryotherapy in athletes: from therapy to stimulation. An updated review of the literature. *Frontiers in Physiology, 8***, 258.**

Manfredi, L. H., Zanon, N. M., Garófalo, M., Navegantes, L. C., & Kettelhut, I. (2013). Effect of short-term cold exposure onskeletal muscle protein breakdown in rats. *Journal of Applied Physiology, 115***(10), 1496-1505.**

May, M. J., & Ghosh, S. (1998). Signal transduction through NF-κB. *Immunology Today, 19***(2), 80-88.**

Melhim, A. (2001). Aerobic and anaerobic power responses tothe practice of taekwon-do. *British Journal of Sports Medicine, 35***(4), 231-234.**

Miura, S., Kawanaka, K., Kai, Y., Tamura, M., Goto, M., Shiuchi, T., ... & Ezaki, O. (2007). An increase in murine skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α (PGC-1α) mRNA in response to exercise is mediated by β-adrenergic receptor activation. *Endocrinology, 148***(7), 3441-3448.**

Norheim, F., Langleite, T. M., Hjorth, M., Holen, T., Kielland, A., Stadheim, H. K., ... & Drevon, C. A. (2014). The effects of acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *The Federation of European Biochemical Societies Journal, 281***(3), 739-749.**

Novelle, M. G., Contreras, C., Romero-Picó, A., López, M., & Diéguez, C. (2013). Irisin, two years later. *International Journal of Endocrinology, 2013***, 1-8.**

Oliveira, R. L., Ueno, M., de Souza, C. T., Pereira-da-Silva, M., Gasparetti, A. L., Bezzera, R. M., ... & Velloso, L. A. (2004). Cold-induced PGC-1α expression modulates muscle glucose uptake through an insulin receptor/Akt-independent, AMPK-dependent pathway. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 287***(4), E686 -E695.**

Pedersen, B. K. (2012). A muscular twist on the fate of fat. *New England Journal of Medicine, 366***(16), 1544-1545.**

Puigserver, P., & Spiegelman, B. M. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α (PGC-1α): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine Reviews, 24***(1), 78-90.**

Segsworth, B. M. (2015). *Acute sprint interval exercise induces a greater FGF-21 response in comparison to work-matched continuous exercise*. **Thesis Degree in Master of Science, Graduate Kinesiology, University of Western Ontario.**

www.SID.ir

Slivka, D., Heesch, M., Dumke, C., Cuddy, J., Hailes, W., & Ruby, B. (2013). Effects of post-exercise recovery in a cold environment on muscle glycogen, PGC-1α, and downstream transcription factors. *Cryobiology, 66***(3), 250-255.**

Slivka, D. R., Dumke, C. L., Tucker, T. J., Cuddy, J. S., & Ruby, B. (2012). Human mRNA response to exercise and temperature. *International Journal of Sports Medicine, 33***(02), 94-100.**

Taylor, C. W., Ingham, S. A., & Ferguson, R. A. (2016). Acute and chronic effect of sprint interval training combined with postexercise blood‐flow restriction in trained individuals. *Experimental Physiology, 101***(1), 143-154.**

Tsuchiya, Y., Ando, D., Goto, K., Kiuchi, M., Yamakita, M., & Koyama, K. (2014). High-intensity exercise causes greater irisin response compared with low-intensity exercise under similar energy consumption. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 233***(2), 135-140.**

Vandewalle, H., Peres, G., Heller, J., Panel, J., & Monod, H. (1987). Force-velocity relationship and maximal power on a cycle ergometer. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology, 56***(6), 650-656.**

Villena, J. A. (2015). New insights into PGC-1 coactivators: redefining their role in the regulation of mitochondrial function and beyond. *The Federation of European Biochemical Societies Journal, 282***(4), 647-672.**

Widegren, U., Jiang, X. J., Krook, A., Chibalin, A. V., Björnholm, M., Tally, M., ... & Zierath, J. R. (1998). Divergent effects of exercise on metabolic and mitogenic signaling pathways in human skeletal muscle. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 12***(13), 1379-1389.**

Wilcock, I. M., Cronin, J. B., & Hing, W. A. (2006). Physiological response to water immersion. *Sports Medicine, 36* **(9), 747-765.**

Yeargin, S. W., Casa, D. J., McClung, J. M., & Knight, J. C. (2006). Body cooling between two bouts of exercise in the heat enhances subsequent performance. *Journal of Strength and Conditioning Research, 20***(2), 383.**

www.SID.ir