Univerzita Karlova

Prírodovedecká fakulta

Študijný program: Biológia

Tomáš Javorský

Fyziologické mechanizmy cvičenia pri reštrikcii krvného obehu

Bakalárská práca

Školiteľ: doc. Jiří Baláš, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Poprad, 2019

Čestné prehlásenie

Prehlasujem, že som záverečnú prácu spracoval samostatne a že som uviedol všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca, ani jej podstatná časť nebola použitá na získanie iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe, 9. 5. 2019

Poďakovanie

Pri písaní tejto práce to nebolo vždy jednoduché a občas sa mi stalo, že som nenašiel správnu cestu. Moja najväčšia vďaka patrí môjmu školitelovi doc. Jiří Baláš, Ph.D. a konzultantke RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.. Oni mi vždy pomohli sa vrátiť na cestu a táto práca vznikla tiež ich zásluhou. Ďalej by som chcel za gramatickú a štylistickú korektúru poďakovať Deniske Javorskej, ktorá vždy bude pre mňa moja malá sestra a Alici Jarošovej za pomoc s gramatikou jej zvýrazňovačmi. Veľkou pomocou pri písaní bol tiež mgr. Peter Uriel Hámor, ktorý svojou revíziou a poznámkami mi vždy ukázal, koľko toho ešte spraveného nebolo. Moji rodičia počas písania tejto práce mali so mnou obdivuhodnú trpezlivosť a ja im veľmi ďakujem za podporu a kľud ktorý mi poskytli. Počas písania, keď som nevedel ako vyzerá správny formát mi tiež pomohol Jan Hrabovský. Jeho dlhoročné skúseností s písaním odborných práci a neustála kontrola mi pomohli neprestávať pracovať. Chcel by som tiež poďakovať vývojárom internetu a jeho nástrojov ako je Google Scholar, PubMed, Science Direct a SciHub, vďaka ktorým som sa dostal k článkom, ktoré mi pomohli pochopiť fyziológiu reštrikcie krvného obehu a zjednodušili vyhľadávanie relevantných informácii. Bez všetkých spomenutých ľudí by táto práca nemala formu ako má, a preto im patrí ešte raz moja veľká vďaka.

Názov práce: Fyziologické mechanizmy cvičenia pri reštrikcii krvného obehu

Autor: Tomáš Javorský

Katedra: Katedra fyziológie

Vedúci bakalárskej práce: doc. Jiří Baláš, Ph.D.

Abstrakt: Počas cvičenia s nízkou intenzitou dochádza pri reštrikcii krvného obehu k fyziologickým zmenám na svaloch, ktoré majú za následok porovnateľný nárast maximálnej sily a objemu svalového vlákna ako pri tréningu s vysokou intenzitou. Cieľom tejto práce bolo zadefinovať fyziologické mechanizmy, ktoré sa uplatňujú pro reštrikcii krvného obehu a majú vplyv na športový výkon. Na úrovni tkaniva sú tieto mechanizmy - hypertrofia svalového vlákna, zvýšenie vaskularizácie a zmeny v svalovom metabolizme. Fyziologické mechanizmy ovplyvňujúce športový výkon na úrovni organizmu sú remote preconditioning a ovplyvnenie syntetickej funkcie obličiek. Pri reštrikcii krvného obehu dochádza k zvýšeniu sily a vytrvalosti svalu. Metódou získavania informácii bol rešerš na internete pomocou vyhľadávačov (PubMed, Google Scholar, SienceDirect). Táto práca poskytuje stručný prehľad fyziologických mechanizmov, ktoré sú ovplyvňené cvičením reštrikciou krvného obehu a majú vplyv na športový výkon.

Kľúčové slová: sval, svalové vlákno I a II typ, reštrikcia krvného obehu, fyzická záťaž, hypoxia, neúplná ischémia

Title: Physiological mechanisms of blood flow restricted excercise

Author: Tomáš Javorský

Department: Department of Physiology

Supervisor: doc. Jiří Baláš, Ph.D.

Abstract: During the blood flow restricted exercise with low intensity there are physiological changes on muscle fibers that are comparable with volume gain and maximum strength during high intensity training. The main aim of this work was to define physiological mechanisms that are important during restricted blood flow. On tissue level those mechanisms are: Muscle fiber hypertrophy, muscle metabolism adaptations and increased formation of the new blood cells. On organism level the physiological mechanisms are: Remote preconditioning and alteration of synthetic function of the kidneys. During blood flow restricted excercise muscle strenght and muscle endurance increase. The research was done with the Internet browsers such as Google Scholar, PubMed, ScienceDirect. The thesis provides a brief summary of physiological mechanisms which are influenced by the restricted blood flow and can have impact on sport performance

Keywords: muscle, muscle type I, muscle type II, Blood flow restriction, Physiological stress, hypoxia, incomplete ischemy

Obsah

1. ÚVOD ..... - 1 -

2. CVIČENIE S REŠTRIKCIOU KRVNÉHO OBEHU ..... - 2 -

3. VYBRANÉ SIGNÁLNE DRÁHY A PRENÁŠAČE OVPLYVNENÉ REŠTRIKCIOU KRVNÉHO OBEHU ..... - 3 -

3.1) HIF-1A ..... - 3 -

3.2) VASKULÁRNE-ENDOTELIÁLNY RASTOVÝ FAKTOR ..... - 4 -

3.3) RIBOZOMÁLNA S6 KINÁZA 1 ..... - 5 -

3.4) ANORGANICKÉ FOSFÁTY ..... - 5 -

3.5) MAKROFÁGY ..... - 5 -

3.6) ADENOZÍN ..... - 6 -

3.7) BRADYKINÍN ..... - 6 -

3.8) OPIOIDY ..... - 7 -

3.9) NO – OXID DUSNATÝ ..... - 7 -

3.10) ERYTROPOETÍN ..... - 8 -

3.11) REAKTÍVNE KYSLÍKOVÉ FORMY ..... - 8 -

3.12) PROLIFERÁCIOU AKTIVOVANÝ GAMMA KOAKTIVÁTOR ALFA ..... - 9 -

4. FYZIOLOGICKÉ MECHANIZMY PÔSOBIACE LOKÁLNE NA KONČATINU S REŠTRIKCIOU KRVNÉHO OBEHU ..... - 10 -

4.1) VASKULARIZÁCIA ..... - 11 -

4.2) VYUŽITIE SVALOVÉHO VLÁKNA PODĽA TYPU ..... - 12 -

4.3) SVALOVÝ METABOLIZMUS ..... - 13 -

4.4) HYPERTROFIA SVALOVÉHO VLÁKNA ..... - 14 -

5. FYZIOLOGICKÉ MECHANIZMY PÔSOBIACE NA ÚROVNI CELÉHO TELA PRI REŠTRIKCII KRVNÉHO OBEHU ..... - 15 -

5.1) REMOTE PRECONDITIONING ..... - 16 -

NEURONÁLNA A HUMORÁLNA DRÁHA ..... - 17 -

SYSTÉMOVÁ ODPOVEĎ ORGANIZMU ..... - 18 -

5.2) OVPLYVNENIE SYNTETICKEJ FUNKCIE OBLIČIEK ..... - 19 -

6. VPLYV CVIČENIA S REŠTRIKCIOU KRVNÉHO OBEHU NA ŠPORTOVÝ VÝKON ..... - 19 -

6.1) MAXIMÁLNA SILA ..... - 20 -

6.2) VYTRVALOSŤ ..... - 20 -

7. APLIKÁCIA TRÉNINGU S REŠTRIKCIOU KRVNÉHO OBEHU ..... - 21 -

7.1) POUŽIVANÉ PROTOKOLY PRI REŠTRIKCII KRVNÉHO OBEHU ..... - 21 -

7.2) ROZDIELY MEDZI POHLAVIAMI ..... - 22 -

7.3) POROVNANIE S TRÉNINGOM PRI VYSOKEJ INTENZITE ..... - 23 -

8. VYUŽITIE REŠTRIKCIE KRVNÉHO OBEHU V PRAXI ..... - 23 -

9. ZÁVER ..... - 24 -

10. BIBLIOGRAFIA ..... - 25 -

Zoznam skratiek

ATP	Adenozín tri-fosfát
CNS	Centrálny nervový systém
DOR	Delta-opioidný receptor
eEF2	Eukaryotický elongačný faktor translácie 2
EPO	Erytropoetín
FAK	Fokálne adhézna kináza
GH	Rastový hormón (Growth hormone)
HI	Tréning s vysokou intenzitou
HIF	Hypoxia Inducible Factor (hypoxiou indukovaný faktor)
IGF	z anglického Insulin like Growth Factor
MCP-1	Chemoatraktant monocytov 1
NO(S)	Oxid dusný (syntáza)
PGC-1α	Proliferátorovo aktivovaný
Pi	Anorganický fosfát
RKO	Reštrikcia krvného obehu
ROS	Reactive oxygen species (reaktívne kyslíkové formy)
RP	Remote preconditioning (vzdialená predpríprava)
S6K1	celým názvom p70S6K1, ribozomálna S6 kináza 1
TOR (mTOR)	z anglického (mammalian) target of ripomycin
VEGF	Vaskulárne-endotelálny rastový faktor

1. Úvod

Pri snahe o maximalizáciu športového výkonu dochádza k využívaniu rôznych metodík na zlepšenie silovej alebo vytrvalostnej zložky. Pomerne novým spôsobom tréningu, ktorý ovplyvňuje obidve zložky, je cvičenie s reštrikciou krvného obehu, pri ktorom dochádza k neúplnej ischémii a následnej reperfúzii zaťažovanej svalovej oblasti (Sjöström et al., 1982). Počas tohto cvičenia dochádza zároveň k zvyšovaniu oboch zložiek, tzn.: silovej (Lixandrão et al., 2018; Oliveira et al., 2016) a vytrvalostnej (Sousa et al., 2017). Tento typ tréningu poskytuje benefity najmä pre rekreačných športovcov (športovci, ktorí sa nevenujú športu na profesionálnej úrovni) a osobám po úrazoch. Vzhľadom na to, že pri tomto cvičení dochádza k ľahkej fyzickej záťaži, tréningové protokoly v štúdiách vykonávali tento typ tréningu približne pri 30% maximálnej sily svalu (Labarbera et al., 2013; Tennent et al., 2018).

Cieľom tejto práce bolo analyzovať fyziologické mechanizmy cvičenia s reštrikciou krvného obehu a popísať ich vplyv na športový výkon. Metódou rešeršu bolo využívanie internetových databáz ako je: Google Scholar, PubMed a Science Direct. Na začiatku práce bola určená problematika pomocou vyhľadávania termínov v týchto databázach: Blood flow restriction, Muscle blood restriction, Blood flow restricted excercise, Remote preconditioning. Následne po definovaní fyziologických mechanizmov bol rešerš vedený v smere jednotlivých mediátorov a ich spôsobu vplyvu na športový výkon.

Práca je prebraná formou indukcie, pri ktorej sú na začiatku v 3. kapitole rozobraté jednotlivé signálne dráhy, ktoré sú ovplyvnené reštrikciou krvného obehu a majú zásadný vplyv na športový výkon. Následne v kapitole 4. a 5. sú rozobrané jednotlivé fyziologické zmeny, ku ktorým dochádza. Delenie pôsobenia tréningu je spravené na základe oblasti, v ktorej dochádza k zmenám: a) lokálne pôsobenie, tzn.: pôsobia len v oblasti, na ktorú bol aplikovaný tréning s RKO (Ferguson et al., 2018; Gleadle & Mazzone, 2016; Hausenloy & Yellon, 2008) a b) globálne, tzn.: pôsobiace v rámci celého organizmu (Pearson & Hussain, 2015). V kapitolách dochádza k prekrývaniu akútnych a adaptačných zmien na organizmus. V práci je čitateľ upozornený, o aký typ sa jedná.

V kapitole 6. je zhrnutý vplyv jednotlivých zmien na športový výkon a kapitoly 7. a 8. slúžia čitateľovi na praktickú aplikáciu tréningu s reštrikciou krvného obehu. Kapitola 7. je venovaná metodike cvičenia spolu s porovnávaním medzipohlavných rozdielov a tréningových protokolov. Kapitola 8. je venovaná aplikácii tréningu so zreteľom na fyziologické predispozície.

2. Cvičenie s reštrikciou krvného obehu

Pod pojmom cvičenie s reštrikciou krvného obehu (RKO) sa rozumie fyzická aktivita, ktorá je vykonávaná s čiastočným obmedzením krvného obehu pomocou aplikovania mechanického tlaku na cievy. Tlak je aplikovaný nafukovacou alebo elastickou manžetou, pomocou ktorej je možné regulovať množstvo krvi privádzanej do končatiny. Zaužívaným štandardom je, že cvičenie prebieha na nízkej intenzite, približne okolo 30% maxima jedného opakovania (Oliveira et al., 2016; Pearson & Hussain, 2015; Thomas et al., 2018). V dostupnej literatúre dochádza k disonancii používaných termínov, kde jedna časť používa termín hypoxia (Laurentino et al., 2018; Nakajima et al., 2018; Rossi et al., 2018) a druhá časť používa termín ischémia (Bittar et al., 2018; Gleadle & Mazzone, 2016; Neto et al., 2017). Na správne porozumenie reálneho mechanizmu je potrebné vrátiť k významu týchto dvoch pojmov. Pod pojmom hypoxia sa rozumie prostredie, v ktorom zlyháva prenos kyslíka. Dôvody môžu byť na rôznych úrovniach, od nedostatočnej dostupnosti kyslíka vo vdychovanom vzduchu až po molekulárne dôvody, kedy zlyháva distribúcia kyslíka v tkanivách. Pri hypoxii však dochádza k cirkulácii krvi a normálnej distribúcii ostatných látok a prenášačov. Naopak, pri úplnej ischémii dochádza k obmedzeniu (zastaveniu) krvného obehu, pri ktorom v tkanive postihnutom ischémiou, sú nahromadené metabolity. Tento stav je pre bunku smrteľnejší ako hypoxia. Najzásadnejší rozdiel medzi hypoxiou a ischémiou je odvod metabolitov, ku ktorému pri cvičení s RKO v obmedzenom rozsahu dochádza, a preto dochádza pri cvičení s RKO zároveň k ischémií ako aj hypoxií. Jeden z priekopníkov reštrikcie krvného obehu, tento proces opísal ako „neúplnú ischémiu“, čo je najlepším pomenovaním, ktoré bolo v literatúre použité a tento termín bude v tejto práci preferovaný (Sjöström et al., 1982).

Cvičenie s RKO je pomerne modernou záležitosťou, ktorá bola prvýkrát experimentálne použitá v roku 1982 (Sjöström et al., 1982). Aj napriek tomu, že je to nová oblasť výskumu,

dochádza k rozsiahlej aplikácii tohto cvičenia. Cvičenie sa ukázalo ako dobrá, aj keď neúplná náhrada cvičenia s vysokou intenzitou (Larkin et al., 2013; Oliveira et al., 2016).

3. Vybrané signálne dráhy a prenášače ovplyvnené reštrikciou krvného obehu

Pri pôsobení neúplnej ischémie na organizmus dochádza k zmenám expresie viac ako 100 génov (Larkin et al., 2013). Okrem toho dochádza k zmene koncentrácie a stability ďalších prenášačov. Z nich je najdôležitejším hypoxiou indukovaný faktor 1 (HIF-1), ktorý sa dá považovať za hlavného regulátora zmien spôsobených hypoxiou, ischémiou a neúplnou ischémiou (Benizri et al., 2008; Larkin et al., 2013; Masoud & Li, 2015; Umbrello et al., 2013). Okrem HIF-1 existujú aj ďalšie proteíny a enzýmy, ktorých zmena počas alebo po neúplnej ischémii mediuje adaptačné zmeny na úrovni tkaniva (svalu) a/alebo organizmu. V nasledujúcej kapitole sú zhrnuté tie, ktoré svojím pôsobením ovplyvňujú športový výkon.

3.1) HIF-1α

Hypoxiou indukovaný faktor 1alfa (HIF-1α) je podjednotka heterodimerického transkripčného faktora HIF1. Podjednotka HIF-1α kódovaná génom *HIF1A* a tvorí spolu s HIF-1β podjednotku HIF. Zatiaľ čo HIF-1β je syntetizované kontinuálne (Benizri et al., 2008), je HIF-1α za normoxických podmienok ubiquitinované a do 5 minút degradované. K stabilite HIF-1α dochádza počas hypoxických podmienok a stáva sa stimulom na syntézu Vaskulárne-endotelálneho rastového faktora (VEGF) a viac ako 100 iných cieľových génov, ktoré sa zúčastňujú procesov angiogenézy, erytropoézy a glukózového metabolizmu (Larkin et al., 2013).

a) **Angiogenéza:** Gén ktorý je zásadne ovplyvnený pomocou HIF-1α je gén na Vaskulárne-endotelálny rastový faktor (VEGF), ktorý patrí medzi najvýznamnejšie endotelovo-špecifické mitogény, ktoré sa priamo zúčastňuju angiogenézy (Hong et al., 2004). HIF-1 ovplyvňuje inducibilnú syntázu oxidu dusnatého (iNOS), a tým zvyšuje produkciu oxidu dusnatého (NO). Funkcia NO je popísaná ďalej v tejto kapitole (Umbrello et al., 2013).

b) **Erytropoéza:** HIF-1α sa naväzuje spolu s HIF-1β na responzný element hypoxie (angl.: hypoxia response element) na géne na erytropoetín. To má za následok zvýšenie produkcie červených krviniek (Benizri et al., 2008; Hong et al., 2004; Masoud & Li, 2015).
c) **Metabolizmus:** Zníženie dostupnosti kyslíka sa prejavuje na zmenách energetického metabolizmu buniek. Bunky prestávajú využívať dráhy závislé na kyslíku na získanie ATP, ale začnú využívať metabolické dráhy, ktoré sú na kyslíku nezávislé. Z glykolýzy sa tak stane primárny zdroj energie pre bunku. Veľa génov regulujúcich príjem glukózy do bunky a glykolýzu je ovplyvnených pomocou HIF-1α. Ďalej reguluje HIF-1α syntézu každého enzýmu v glykolytickej metabolickej dráhe a tiež syntézu transportérov glukózy – GLUT1, GLUT3, ktoré regulujú uptake glukózy bunkou (Hong et al., 2004; Masoud & Li, 2015).
d) **Rastové faktory a bunková proliferácia:** Okrem vyššie spomenutých funkcií, HIF-1α tiež pozitívne reguluje faktory ovplyvňujúce rast a proliferáciu bunky (Masoud & Li, 2015).

Funkcia a pôsobenie HIF-1α sú obmedzené na intracelulárny priestor. Všetky funkcie HIF-1α, ktoré pôsobia mimo bunky postihnutej neúplnou ischémiou sú spojené s ďalšími mediátormi (Masoud & Li, 2015). Po zhrnutí niektorých funkcií je možné vyvodiť záver, že HIF-1α tvorí jeden zo základných prvkov na udržiavanie homeostázy kyslíka.

3.2) Vaskulárne-endoteliálny rastový faktor

Vaskulárne-endoteliálny rastový faktor (VEGF) je signálny proteín, ktorý produkujú bunky a stimuluje rast kapilár. Regulácia syntézy VEGF prebieha hlavne pomocou transkripčného faktora HIF-1α. Po naviazaní HIF-1α na regulačnú sekvenciu na VEGF géne dochádza k zvýšenej syntéze mRNA VEGF (Larkin et al., 2013). VEGF interaguje s VEGF receptorom 2, ktorý spúšťa tvorbu nových kapilár (Hong et al., 2004). VEGF tvorí najdôležitejší angiogénny faktor pri kapilarizácii svalov (Hoier & Hellsten, 2014). Nezávisle na HIF-1α je VEGF regulovaný pomocou peroxizómového gamma koaktivátora (PGC-1α). Pridanie PGC-1α pomocou adenovíru nemá vplyv na koncentráciu HIF-1α, ale koncentrácia VEGF sa zvyšuje (Bommi-Reddy et al., 2008).

3.3) Ribozomálna s6 kináza 1

Ribozomálna s6 kináza 1 (S6K-1) je prenášač signálu, ktorého úlohou je iniciácia mRNA translácie. Medzi funkcie S6K-1 patrí regulácia syntéza proteínov po cvičení a následná indukcia svalovej hypertrofie spojenej so zvýšením svalovej sily (Fujita et al., 2007). Jedná sa o intracelulárny prenášač, ktorý zvyšuje biogenézu ribozómov. U myší, ktoré mali knockoutovaný gén pre S6K-1 a S6K-2 nedochádzalo k zníženiu syntézy proteínov, ale k zníženiu biogenézy ribozómov. To poukazuje na to, že tento proteín nie je dôležitý len na samotnú hypertrofiu, ale hrá zásadnú rolu aj pri zvyšovaní svalovej sily (Marabita et al., 2016).

3.4) Anorganické fosfáty

Náhla potreba dodávky energie (Anaeróbny metabolizmus) v kostrovom svalstve spôsobuje enzymatické štiepenie kreatín-fosfátu na kreatín a ATP (PCr+ADP ---- Cr + ATP), ktorá udržuje vysoký pomer ATP/ADP a svalový výkon. Voľný kreatín neovplyvňuje anorganický fosfát (Pi). Kreatín neovplyvňuje kontraktilnú funkciu svalov, zatiaľ čo zvýšené hodnoty Pi v bunke vyvolané hydrolýzou ATP môžu znížiť kontraktilnú funkciu svalového vlákna (Westerblad et al., 2002). V svalových vláknach typu I (pomalé vlákna) je obvykle vysoká bazálna koncentrácia Pi. Naopak, pri vláknach typu II (rýchle svalové vlákna) je bazálna koncentrácia Pi nízka (Smith et al., 2016). Bolo zistené, že pri zvýšení koncentrácie Pi, budú rýchle svalové vlákna senzitívnejšie a zmena ich maximálnej sily bude výraznejšia. Oba typy svalových vláken sú v prostredí *in vitro* so zvýšenou koncentráciou Pi viac náchylné na prechodnú zmenu (zníženie) sily svalového vlákna (transient force decrease) (Smith et al., 2016).

3.5) Makrofágy

Makrofágy je možné rozdeliť na pro-(M1) a proti-(M2) zápalové. M1 makrofágy sú prítomné počas skorých štádií regenerácie po zranení, kde sú dôležité pri odstraňovaní zvyškov buniek (fagocytózou). M2 makrofágy sú prevalentne prítomné v neskorších štádiách regenerácie, kde utlmujú zápalové procesy a pomáhajú remodelácii a oprave tkanív. Makrofágy (M1 a M2) sprostredkuvávajú dôležité pro- a proti- zápalové procesy počas poškodenia svalov (Nielsen et al., 2017). Aktivovaný transkripčný faktor HIF-1α ovplyvňuje chemoatraktant monocytov 1

(MCP-1), ktorý tvorí chemokín ovplyvňujúci zhromažďovanie a aktiváciu makrofágov. Spoločné zapojenie makrofágov a neutrofilov pomáha k remodelácii kostrového svalu mechanizmom, ktorý ešte nie je kompletne definovaný (Rossi et al., 2018).

3.6) Adenozín

Adenozín je známy svojou funkciou modulácie bunkovej homeostázy. Je vylučovaný vo veľkých množstvách, ako odpoveď na metabolický stres (napríklad ischémia). Adenozín sa naväzuje na receptory A_1, A_{2a}, A_{2b} a A_3, ktoré sú spojené s G-proteínmi a moduluje biochemické procesy a prenos rôznych signálov v bunke (Mustafa et al., 2009; Randhawa & Jaggi, 2016). Adenozínové receptory A_1 a A_{2a} sú vysoko citlivé na adenozín, zatiaľ čo receptory A_{2b} a A_3 vykazujú nižšiu afinitu. Adenozínový receptor je známy tým, že zvyšuje prietok krvi koronárnymi artériami. Zvýšená tvorba adenozínu spôsobuje dilatáciu artériol. V srdci je za dilatácu artériol zodpovedný hlavne A_{2a} receptor (Mustafa et al., 2009). Protektívny efekt adenozínu je prevalentný v srdci, kde má zvýšenú koncentráciu receptorov. Prevláda názor, že adenozín je jedným z hlavných mediátorov ochrany srdca pri remote preconditioningu a zvyšuje odolnosť srdca na poškodenie spôsobené ischémiou (Randhawa & Jaggi, 2016). Adenozín je možné nájsť extracelulárne a po naviazaní na A_1 receptor aktivuje kardioprotekciu dráhou, ktorá nie je závislá na reaktívnych kyslíkových formách (Critz et al., 2005).

3.7) Bradykinín

Bradykinín je endogénny peptid, ktorý dilatuje cievy a môže indukovať neuro- a kardioprotekciu (Billah et al., 2019; Cohen et al., 2015; Critz et al., 2005; Lalkovičová et al., 2015). Funguje ako mediátor pri poškodení mozgu po infarktových stavoch. Existujú dve možnosti pôsobenia bradykinínu na organizmus. V skutočnosti sú však protichodné. Prvou možnosťou je zvýšenie vazodilatácie po infarktových stavoch, ktoré má za následok zvýšenie permeability cerebrálnych ciev, čo vedie k sekundárnemu poškodeniu mozgu (Lalkovičová et al., 2015). Druhým spôsobom, ktorým pôsobí bradykinín na organizmus po aktivácii B2 receptorov, je spustenie signálnej kaskády receptorov spojených s G-proteínmi. Tie spôsobujú uvoľnenie reaktívnych kyslíkových foriem (Critz et al., 2005). Presný mechanizmus vylučovania bradykinínu

pri reštrikcii krvného obehu nie je známy. Jeho účinky na srdce známe sú a sú opísané v kapitole 5.1.

3.8) Opioidy

Opioidy (opiáty) patria k najstarším drogám, ktoré sú ľudstvu známe. Ich funkcia je analgetická. Tlmia bolesti, inhibujú ľudskú psychiku a emotívnu reakciu na bolesť. Medzi prirodzené endogénne opioidy patria napríklad endorfíny (Peart et al., 2005). Aktiváciou neuronálnej NO syntázy (nNOS) dochádza k zvýšeniu koncentrácie opioidov v cerebro spinálnej tekutine (Armstead, 1998). Oblasti myokardia sú taktiež miestom, kde sú opioidy uskladňované, uvoľňované a syntetizované (Peart et al., 2005). Opioidy pôsobia na opioidové receptory (Mu, Kappa, Delta), ale v súvislosti s hypoxickými podmienkami je najdôležitejší Delta-opioidný receptor (DOR). DOR sa nachádzajú v nervovom systéme, srdci, pľúcach, pečeni, gastrointestinálnom a reproduktívnom trakte (He et al., 2013). Opioidy sú uvoľnované počas stresových období, ako je napríklad ischémia (Peart et al., 2005). DOR sú spojené s G-proteínmi a po aktivácii dochádza k inhibícii adenylyl cyklázy, čo je typické pre kardioprotektívne receptory spojené G-proteínom (ako je aj adenozínový a bradykinínový receptor) (He et al., 2013; Peart et al., 2005). Po aktivácii DOR receptorov je kardioprotektívna dráhasprostredkovaná pomocou reaktívnych kyslíkových foriem (Critz et al., 2005).

3.9) NO – Oxid dusnatý

Oxid dusnatý (NO) je jedna z mála signálnych molekúl, ktoré na prechod bunkovou membránou nepotrebujú prenášač a prechádza difúziou. Je to jeden zo základných poslov cicavcov, ktorý plní svoju funkciu v rôznych biologických procesoch. Hlavná funkcia NO spočíva v sprostredkovaní angiogenézy a ovplyvňovaní tlaku krvi. NO je kľúčový faktor na tvorbu nových kapilár, keďže indukuje produkciu VEFG (Umbrello et al., 2013). V kostrovom svale NO zvyšuje príjem glukózy, glykolýzu a inhibuje respiráciu mitochondriami. NO tiež pomáha rozkladu fosfokreatínu. Každá z jeho funkcií je reverzibilná a má odlišný molekulárny cieľ (Baldelli et al., 2014).

Syntéza oxidu dusnatého (NO) je sprostredkovaná pomocou NO syntázy (NOS) (Umbrello et al., 2013). U cicavcov sú známe tri odlišné izoformy NOS. Neuronálna NOS (nNOS) je prvá izoforma, ktorá bola objavená. Nachádza sa hlavne, v neuronálnom tkanive a tiež vo vysokej miere v kosternom svalstve. Indukovateľná NOS (iNOS) je syntetizovaná v prípade potreby (nachádza sa najmä v makrofágoch a tkanivách). Ďalej, endoteliálna NOS (eNOS), ktorá bola prvýkrát opísaná v endoteliálnych bunkách, ale nachádza sa aj v iných tkanivách (napr.: kardiomyocyty alebo adipocyty) (Baldelli et al., 2014).

Endoteliálna NOS zvyšuje syntézu VEGF, ale tiež je pod vplyvom VEGF (ktorý zvyšuje syntézu NO), kedy dochádza k pozitívnej spätnej väzbe. Pomocou HIF-1 je indukovaná iNOS, ktorá sa tiež zúčastňuje angiogenézy ďalšou tvorbou NO (Umbrello et al., 2013).

3.10) Erytropoetín

Erytropoetín (EPO) je hlavným regulátorom tvorby červených krviniek. Tento proteín je zložený zo 165 aminokyselín. Syntéza EPO je regulovaná pomocou responzného elementu hypoxie. Na ten sa naväzuje HIF-1, ktoré spúšťa transkripčný proces a zvyšuje koncentráciu EPO (Schönenberger & Kovacs, 2015). Predošlé štúdie poukázali na to, že zvýšenie EPO v krvnom sére pomáha znížiť veľkosť infarktu a zlepšiť funkciu myokardu. EPO v izolovaných kardiomyocytoch pomáha zabrániť apoptóze pomocou aktivovania signálnej kaskády a pomocou utlmenia kináz, ktoré indukujú apoptózu v rôznych typoch buniek. To znamená, že schopnosť EPO zabrániť apoptóze nie je striktne viazaná na kardiomyocyty, ale pôsobí aj na neuronálne bunky, bunky hladkého svalstva a na vaskulárne bunky (Billah et al., 2019). Zvýšenie počtu červených krviniek tvorí adaptačnú odpoveď organizmu na distribúciu kyslíka pri neúplnej ischémii.

3.11) Reaktívne kyslíkové formy

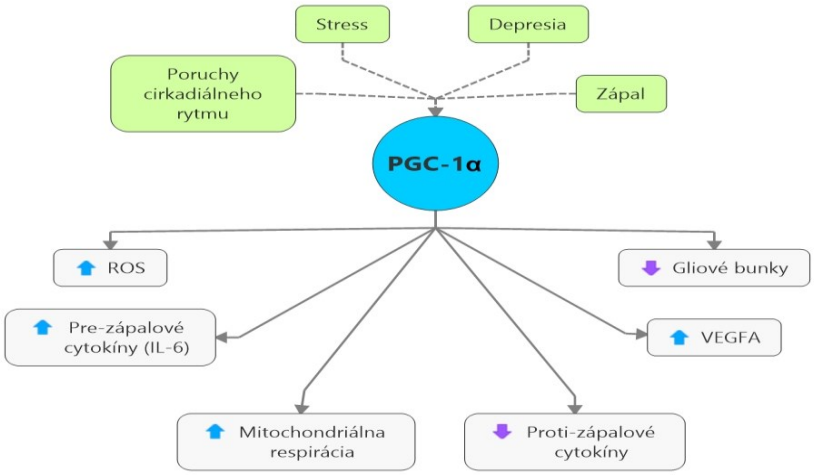
Reaktívne kyslíkové formy (Angl.: Reactive oxygen species – ROS) sú molekuly obsahujúce kyslík, ktoré sú väčším oxidačným činidlom, ako samotný kyslík v bunke. V minulosti boli považované za vedľajší produkt bunkového metabolizmu a ich funkcia bola známa hlavne na

fagocytujúcich bunkách. Postupom času bolo objavené, že ROS sú dôležitou intracelulárnou signálnou molekulou, ktorá plní funkciu druhého prenášača signálu (Gonzalez et al., 2002).

Formácia reaktívnych kyslíkových foriem vo svale počas cvičenia má za úlohu sprostredkovať anabolické adaptácie svalu po cvičení. Tvorba ROS pomáha rastu hladkého a srdcového svalu. Počas reperfúzie po neúplnej ischémii dochádza k zvýšenej tvorbe ROS (Pearson & Hussain, 2015). V prostredí, kde je nedostatok kyslíka sa zníži koncentrácia ROS v bunke, čo má za následok obmedzenie až zastavenie funkcie enzýmov degradujúcich HIF-1α (Gonzalez et al., 2002).

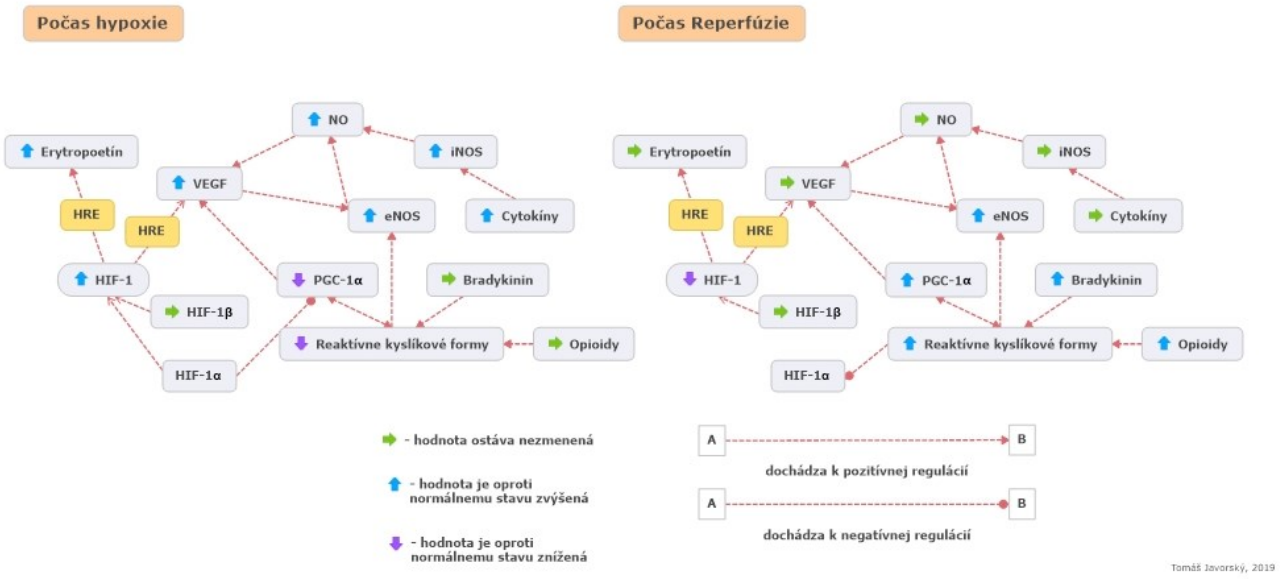
3.12) Proliferáciou aktivovaný gamma koaktivátor alfa

Proliferáciou aktivovaný gamma koaktivátor alfa (PGC-1α) je kľúčovým regulátorom zmien indukovaných cvičením na vláknach kostrového svalu. PGC-1α spôsobuje zmenu fenotypu svalových vlákien na pomalý typ (svalové vlákna typu I) a pôsobí ochranne pred atrofiou svalu. Zvýšenie obsahu PGC-1α v bunke je spojené so zvýšeným obsahom ROS v intracellulárnom priestore. PGC-1α má na ROS negatívnu spätnú vazbu, kde po fosforilácii PGC-1α dochádza k zvýšeniu ROS-detoxifikačných enzýmov (Steinbacher & Eckl, 2015). Schematické znázornenie funkcie PGC-1α a faktorov, ktoré jej funkciu ovplyvňujú je na obrázku č. 1



Obrázok č. 1.: Schematické znázornenie rôznych funkcií faktorov, ktoré ovplyvňujú PGC-1α (zvýraznené zelenou farbou) a mediátorov, ktoré zvýšená expresia PGC-1α ovplyvňuje. ROS – reaktívne kyslíkové formy, VEGFA – Vaskulárne endotelový rastový faktor A, IL-6 – interleukín 6. Upravené podľa Ryan s kolektívom (Ryan et al., 2018).

V tejto kapitole boli vymenované základné molekulárne mediátory, ktoré sprostredkuvávajú adaptačné odpovede organizmu na neúplnú ischémiu. Stručne schematické zakreslenie sa nachádza na obrázku č. 2, ktorý zohľadňuje pôsobenie hypoxie a následnej reperfúzie na organizmus. V skutočnosti však pri neúplnej ischémii dochádza k zmene koncentrácie viac ako 100 molekúl. Ich vplyv na športový výkon je však zanedbateľný a podrobný opis všetkých faktorov presahuje rozsah tejto práce.



Obrázok č.2.: Schematické zakreslenie interakcií jednotlivých enzýmov a poslov, ktorých hodnota je alterovaná pomocou cvičenia s RKO počas hypoxie a reperfúzie. HIF-1 – hypoxiou indukovaný faktor 1, HIF-1α – Podjednotka α, ktorá tvorí dimér HIF-1, HIF-1β – podjednotka β, ktorá tvorí HIF-1, VEGF – Vaskulárne-endoteliálny rastový faktor, NO – oxid dusnatý, iNOS – indukovana syntáza oxidu dusnatého, eNOS – endoteliálna syntáza oxidu dusnatého, HRE – responzívny element hypoxie.

4. Fyziologické mechanizmy pôsobiace lokálne na končatinu s reštrikciou krvného obehu

Po identifikovaní základných ingrediencií v predošlej kapitole, bude táto kapitola venovaná predovšetkým fyziologickým zmenám a ich mechanizmom. V tejto kapitole budem postupne prechádzať jednotlivé zmeny, ktoré majú lokálny vplyv na športový výkon spolu s prenášačmi a signálnymi dráhami, ktoré dané zmeny spôsobujú.

Najdôležitejšími faktormi pri fyziologických zmenách počas tréningu s reštrikciou krvného obehu (RKO) sú metabolický stres, pôsobiaci na úrovni organizmu a zmena pôsobenia

mechanických síl (zmena šmykového napätia vo svale - shear stress). Metabolický a mechanický stres pôsobia synergicky a sprostredkovávajú mnoho adaptačných zmien na svale (Pearson & Hussain, 2015). Medzi tie zmeny patrí: a) zvýšenie vaskularizácie (Hoier & Hellsten, 2014; Oliveira et al., 2016); b) svalová hypertrofia (Hoier & Hellsten, 2014; Larkin et al., 2013; Sousa et al., 2017); c) zmeny v svalovom metabolizme (Sjöström et al., 1982; Suzuki, 2016); d) a s ním súvisiace zmeny vo využívaní svalového vlákna podľa typu (Fujita et al., 2007; Pearson & Hussain, 2015).

4.1) Vaskularizácia

Vaskularizácia je proces, pri ktorom sa zvyšuje počet kapilár v tkanive, čo má za následok zlepšenie rozvodu dýchacích plynov, živín a odvádzanie metabolitov (Seiler, 2009). Zvyšovanie prietoku krvi v orgáne prebieha dvomi spôsobmi: artériogenézou a angiogenézou. Artériogenéza je stimulovaná zvýšením pôsobením tlaku na steny kapilár, čo má za následok remodeláciu, rast a rozširovanie existujúcich kapilár (Hoier & Hellsten, 2014) . Angiogenéza je indukovaná hypoxiou a v procese sa tvoria nové kapiláry. V týchto procesoch sa uplatňujú monocyty, ktorých chemokíny, proteázy a rastové faktory pomáhaju rastu kapilár (Heil et al., 2006)

Na zvýšenie arteriogenézy po cvičení je potrebné splnenie troch podmienok. Tými podmienkami sú a) zvýšenie prietoku krvi svalom a následné zvýšenie šmykového napätia; b) mechanické naťahovanie svalového tkaniva; a c) zvýšenie svalového metabolizmu (Hoier & Hellsten, 2014).

V rámci tréningu s reštrikciou krvného obehu nás zaujíma hlavne zvýšenie šmykového napätia, ku ktorému nedochádza za bežných okolností bez zníženia tlaku krvi v cievach. Zvýšené šmykové napätie spôsobuje aktiváciu endotelových buniek a zvyšuje expresiu faktorov spojených s angiogenézou (ako napríklad VEGF a eNOS) (Oliveira et al., 2016).

NOS zvyšuje produkciu oxidu dusnatého, ktorý pomáha uvoľnovať VEGF z kostrového svalu do extracelulárneho priestoru, kde sa lokálne viaže na endotel a spôsobuje jeho proliferáciu (Ferguson et al., 2018; Park et al., 1993). VEGF sa naväzuje na VEGF receptor 2, ktorý ďalej zvyšuje eNOS a ovplyvňuje tvorbu NO, angiogenézu a vaskulárnu permeabilitu

(Umbrello et al., 2013). Toto je zaujímavá pozitívna regulácia, počas ktorej sa NO a VEGF navzájom pozitívne ovplyvňujú, pokým sa nezvýši obsah kyslíka v tkanive, a tým sa preruší tvorba a stabilizácia HIF-1α.

Pri opakovanej neúplnej ischémii a reoxygenácii dochádza k zvýšeniu tvorby reaktívnych kyslíkových foriem (ROS). Výskumy ukazujú, že ROS sú dôležité pri signalizácii adaptácií spojených s cvičením in vivo a koaktivujú PGC-1α (Oliveira et al., 2016). U myší, ktoré mali knock-out na PGC-1α nedochádza k zvýšeniu angiogenézy po cvičení (Hoier & Hellsten, 2014).

Pri tréningu s RKO dochádza k zníženej dostupnosti kyslíka vo svale, čo má za na následok stabilizáciu HIF-1α, ktorý ďalej ovplyvňuje transkripciu VEGF a EPO, ktoré pomáhajú zvýšiť prísun kyslíka do buniek (Billah et al., 2019; Ferguson et al., 2018). Prvá štúdia, ktorá dokázala zvýšenie syntézy mRNA HIF-1α po cvičení bola uskutočnená Kelly Larkin s kolektívom (Larkin et al., 2013). Taktiež zistili, že do 24 hodín po cvičení sa koncentrácia mRNA HIF-1α vráti na pôvodnú hodnotu (Larkin et al., 2013).

Po mechanickej aktivácii svalov dochádza k zvýšeniu extracelulárnych metaloproteináz, ktoré pomáhajú proteolýze bazálnej membrány kapilár, čo je dôležité pre rast nových kapilár (Ferguson et al., 2018).

4.2) Využitie svalového vlákna podľa typu

Vlákna kostrového svalstva sa dajú rozdeliť na dva základné typy: rýchle (Typ II) a pomalé (Typ I) vlákna. Oba typy majú svoje charakteristiky, ktoré sú dôležité pre rôzne druhy aktivít. Všeobecne však platí, že vlákna I typu sú odolné voči svalovej únave, zatiaľ čo vlákna II typu nie.

Počas cvičenia s RKO dochádza k zvýšenej aktivite svalových vláken II typu. Vzhľadom na princíp veľkosti podľa Hennemana (Henneman, 1985) sú svalové jednotky pri záťaži využívané od najmenšej po najväčšiu. Pri tréningu s vysokou intenzitou sú teda využívané hlavne svalové vlákna II typu. Naopak pri tréningu s RKO, kde je svalové vlákno využívané na 30% maximálnej kontrakcie, sa predpokladalo, že budú využívané hlavne svalové vlákna I typu. Opak je však pravdou – tréning s RKO potvrdzuje, že zapojenie rýchlych svalových vlákien je možné aj pri relatívne nízkej intenzite (Pearson & Hussain, 2015).

Fosforylácia S6K1 bola zaznamenaná vo zvýšenej miere v svalových vláknach II. typu v porovnaní so svalovými vláknami I. typu. S6K1 je zodpovedá za nárast objemu svalového vlákna (Fujita et al., 2007).

Z dostupnej literatúry nie je známe, či dochádza k zvýšenému využitiu vláken prvého alebo druhého typu. K obidvom typom je dostupná literatúra, ale je nutné urobiť ďalší výskum v tejto oblasti. Nedávno publikovaný článok z roku 2019 porovnáva hypertrofiu svalových vlákien. Vo vláknach prvého typu došlo pri cvičení s RKO k väčšej hypertrofii (12% v porovnaní s pôvodným svalom) oproti vláknam II. typu (4% v porovnaní s pôvodnou veľkosťou svalu) (BjØrnsen et al., 2019). Naopak, iné články tvrdia, že hypertrofia svalového vlákna typu II je väčšia (Fujita et al., 2007). Na zaujatie jednoznačného postoja je nutná metaanalýza a ďalší výskum špecifických mediátorov a markerov pre jednotlivé typy vlákien počas neúplnej ischémie.

4.3) Svalový metabolizmus

Za podmienok, pri ktorých vo svale dochádza ku kyslíkovej deprivácii, dochádza k zníženiu dostupnosti živín, ktoré podporujú správnu funkciu svalov. Konkrétne ide o voľné mastné kyseliny. RKO spôsobuje dysbalanciu medzi oxidáciou mastných kyselín a glukózy. Pokles oxidatívnej fosforylácie je spolu so znížením produkcie ATP priamo úmerný závažnosti ischémie. Tvorba energie sa presunie z mitochondrií na cytosolické zdroje glukózy (Jašová et al., 2017). Zvýšený prísun glukózy počas neúplnej ischémie umožňuje zvýšenú produkciu laktátu a svalové prekyslenie. Osoby zo zvýšenou periferálnou arteriálnou insuficienciou majú zvýšenú citlivosť na inzulín a vyšší príjem glukózy (Sjörström et al., 1982). Na samotnú zmenu preferenčného energetického zdroja pre sval svojou funkciou vplýva HIF-1α, ktorý ovplyvňuje zvýšený príjem glukózy svalom na základe zvýšenia koncentrácie glukózových transportérov a ostatných mediátorov ovplyvňujúcich glukózový metabolizmus, ako je zobrazené na obrázku č. 1 (Hong et al., 2004).

Tento stav zvýšeného glukózového metabolizmu je možné považovať za krátkodobý, keďže pri dlhodobom pôsobení tréningu s neúplnou ischémiou a následnou reperfúziou dochádza k zvýšeniu dostupnosti kyslíka do svalov pomocou angiogenézy (Laurentino et al., 2018) a mitochondriálnej biogenézy (Suzuki, 2016). Z dlhodobého hľadiska pomocou

angiogenézy, zvýšenia aktivity mitochondriálnych enzýmov a početnosti mitochondrií v bunke môže cvičenie s RKO zvyšovať výdrž svalu a zlepšovať metabolizmus mastných kyselín (Suzuki, 2016).

Okrem svalových vlákien má cvičenie s RKO tiež vplyv aj na štruktúru kostí a ich metabolizmus. Na základe metaanalýzy niekoľkých článkov bol v roku 2018 publikovaný súhrnný článok, ktorý ukázal, že počas tréningu s RKO dochádza k zvýšenej formácii kostrového tkaniva na základe analyzoványch markerov (Bittar et al., 2018).

4.4) Hypertrofia svalového vlákna

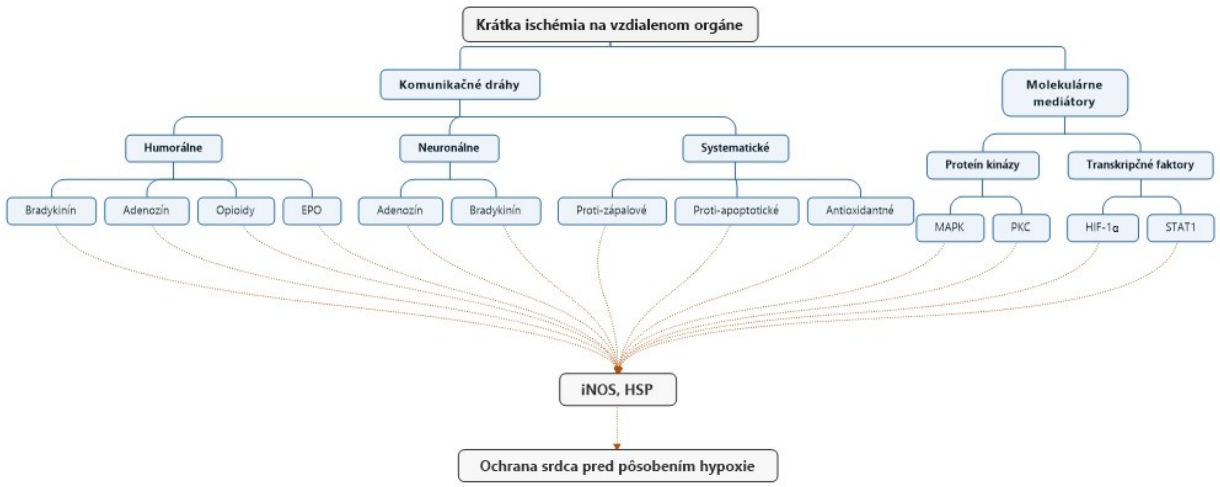
Hypertrofiou svalového vlákna sa rozumie nárast jeho objemu. Počas hypertrofie dochádza k zvýšenej syntéze proteínov vo svale (Abe et al., 2012)Počas cvičenia s RKO dochádza pomocou fokálne adhéznej kinázy (FAK) k zvýšeniu fosforylácie ribozomálnej S6 kinázy 1 (S6K1), ktorá ovplyvňuje dráhu mTOR (z anglického target of rapamycin) (Fujita et al., 2007; Rossi et al., 2018). S6K regulujú rast buniek u cicavcov. Výskumy z roku 2004 však naznačujú, že na raste svalového tkaniva sa podieľa hlavne S6K2, ktorej expresia počas neúplne ischemických stavov ostáva nezmenená (Hay & Sonenberg, 2004). Úloha S6K1 pri svalovej hypertrofií nie je zanedbateľná (Fujita et al., 2007).

V r. 2007 Fujita spolu s kolektívom zistil, že tréning s nízkou intenzitou spojený s RKO stimuluje fosforyláciu S6K1 (ktorá je kľúčovým komponentom začatia translácie) a syntézu proteínov v ľudskom kostrovom svalstve. mTOR signálna dráha a syntéza proteínov sa nezmenila pri cvičení s nízkou intenzitou bez reštrikcie krvného obehu. Z tohto dôvodu je možné predpokladať, že aktivácia mTOR signálnych dráh je dôležitým bunkovým mechanizmom, ktorý môže vysvetliť zvýšenú syntézu proteínov počas cvičenia s RKO pri nízkej intenzite. Fosforyláciou S6K1 signálnej kaskády dochádza taktiež k inhibícii kinázy eukaryotického elongačného faktoru 2, ktorá znižuje fosforyláciu eukaryotického elongačného faktoru 2, a to má za následok predĺženie translačných procesov v bunke (Fujita et al., 2007). Zvýšená produkcia reaktívnych kyslíkových foriem svalom počas cvičenia tvorí ďalší dôležitý mechanizmus na anabolické adaptácie, ktoré prebiehajú po cvičení s neúplnou ischémiou a reperfúziou svalového vlákna. ROS pomáha rastu vláken kostrového svalstva rovnako ako aj

rastu vláken srdcového svalu a hrá dôležitú úlohu pri hypertrofií kostrového svalu počas tréningu s RKO, keďže neúplná ischémia a následná reperfúzia spôsobujú zvýšenie tvorby ROS. Reaktívne kyslíkové formy sú vo väčšej miere produkované v svalových vláknach II typu (Pearson & Hussain, 2015).

5. Fyziologické mechanizmy pôsobiace na úrovni celého tela pri reštrikcii krvného obehu

Pri aplikovaní tréningu s RKO nedochádza len k fyziologickým zmenám v rámci oblasti, na ktorú pôsobila neúplná ischémia a následná reperfúzia tkaniva, ale k dôležitým zmenám dochádza aj v rámci celého organizmu. V nasledujúcej kapitole sa pokúsim zhrnúť zmeny, ktoré prebiehajú v organizme a ich vplyv na športový výkon. Hypoxické svaly vylučujú viacero mediátorov, ktoré cirkulujú v krvnom obehu ako napríklad C-X-C motív chemokín 12 a HIF-1α (Gleadle & Mazzone, 2016). Ako je zobrazené na obrázku č. 3, cirkulujúce mediátory sa dajú rozdeliť na transkripčné faktory a proteín kinázy (Gassanov et al., 2014).



Obrázok č. 3.: Schematické znázornenie mediátorov a komunikačných kanálov, ktoré sú indukované krátkym pôsobení ischémie na orgáne ktorý je vzdialený od srdca. EPO – erytropoetín, MAPK – Mitogén aktivovaná proteín kináza, PKC – proteín kináza C, HIF-1α – podjednotka hypoxiou indukovaného faktora 1 α, STAT1 – prenášač signálu a aktivátor transkripcie. Schéma je upravená podľa Gassanov et al. (Gassanov et al., 2014).

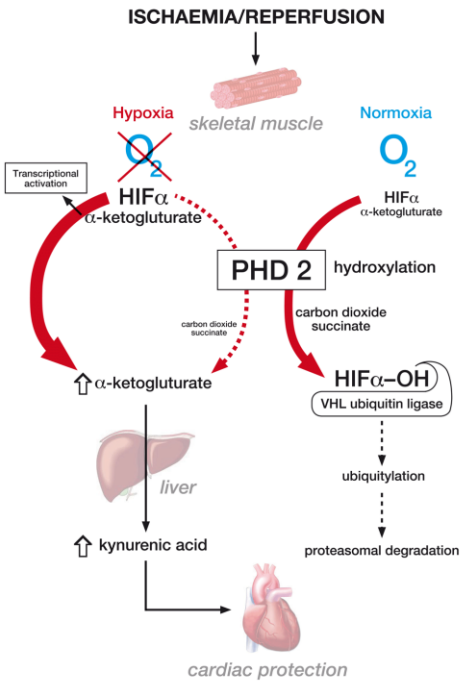
5.1) Remote preconditioning

Remote preconditioning (RP) by mohlo byť doslovne preložené ako vzdialená predpríprava je neinvazívnou stratégiou aplikovanou na orgán vzdialený od srdca a pomáha po ischemickej chorobe srdca oddialiť apoptózu kardiomyocytov (Przyklenk et al., 1993). Signálna kaskáda ochrany srdca začína pri uvoľnení autakoidov (napríklad: Adenozín, bradykinín alebo opioidy), ktoré aktivujú receptory spojené s G-proteínom alebo receptory cytokínov. Táto aktivácia spôsobuje zapojenie PPAR-α, ktorá sa za účelom zachovania produkcie energie počas akútnej alebo chronickej deprivácie kyslíka zúčastňuje výberu substrátov na energetický metabolizmus (Mastné kyseliny vs. Glukóza) (Jašová et al., 2017).

Počas cvičenia s RKO dochádza k stabilizácii a zvýšeniu koncentrácie HIF1-α (Larkin et al., 2013), ktorá v srdci hrá dôležitú úlohu pri koordinácii transkripčnej odpovede na tréning s RKO. Myši so zvýšenými hladinami HIF-1α mali zvýšenú odolnosť voči srdečnej ischémii. Existuje široké spektrum odpovedí, ktoré sú mediované pomocou HIF na hypoxické podmienky a uplatňujú sa počas ischemického RP. Medzi tieto mechanizmy patrí zvýšenie anaeróbneho metabolizmu (ako bolo opísané v predošlom odstavci), zvýšenie vaskularizácie (tvorba anastomotických kanálov - anastomóz), zvýšenie vazodilatácie (pomocou NO a NOS), ochrana pomocou reaktívnych kyslíkových radikálov (ROS) a zmeny v prežívaní bunky (Gleadle & Mazzone, 2016).

Anastomotické kanály, tiež nazývane kolaterálne kanály, spájajú epikardiálne koronárne artérie. To spôsobuje, že v prípade zníženia prietoku krvi jednou artériou je postihnutá oblasť zásobovaná krvou z tej druhej. Na experimentálnom modeli bolo dokázané, že zvýšený počet anastomóz zmenšil oblasť infarktu pri potkanoch. Spolu s RP patrí mechanizmus vzniku anastomóz ku kardioprotektívnym mechanizmom, ktoré sú ovplyvnené cvičením s RKO (Seiler et al., 2013).

Dôležitými zmenami počas RP prechádzajú mitochondrie, ktoré hrajú kľúčovú úlohu v rôznych typoch srdcových chorôb. Počas krátkych ischemických periód dochádza k spusteniu endogénnych protektívnych mechanizmov po uvoľnení HIF-1α (Larkin et al., 2013). Schematicky je stabilizácia HIF-1α zobrazená na obrázku č. 4.



Obrázok č. 4.: Schematický nákres zmien vedúcich ku kardioprotekcii po reštrikcii krvného obehu. Na ľavej strane schémy sa nachádza hypoxický stav a jeho dráha. Na pravej strane schémy sa nachádza normálny stav, kedy prístup kyslíka do bunky nie je zmenený. PHD2 – propyl hydroxyláza, ktorá má na starosti degradovanie HIF-1α, HIF-1α – podjednotka hypoxiou indukovaného faktora 1 α (Gleadle & Mazzone, 2016)

Odpoveď organizmu na RP sa dá rozdeliť na humorálnu, neuronálnu a systematickú. Schematicky je to zobrazené na obrázku č. 4 (Gassanov et al., 2014). Keďže pri humorálnej a neuronálnej dráhe dochádza k pôsobeniu podobných proteínov, ďalej to bude zhrnuté pod jednou podkapitolou.

Neuronálna a humorálna dráha

Adenozín, bradykinín a opioidy spoločne ovplyvňujú receptory spojené s G-proteínom, ktoré majú kardioprotektívne účinky (Peart et al., 2005). Vzhľadom k ich podobným funkciám pôsobia redundantne, no odlišujú sa funkčným mechanizmom.

Po RP dochádza k uvoľneniu bradykinínu, ktorý aktivuje senzorické nervy (Lalkovičová et al., 2015). Bradykinín taktiež stimuluje kardiomyocyty, ktoré produkujú ROS (Critz et al., 2005).

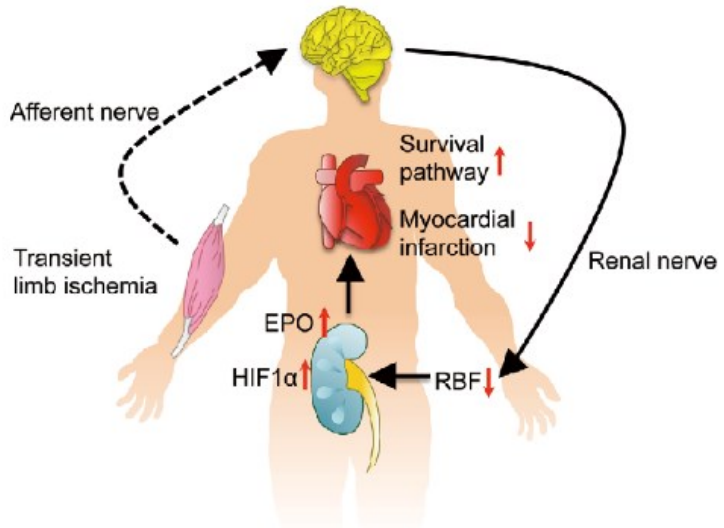
Mechanizmus protekcie opiátmi pomocou DOR (delta-opioidného receptoru) sa skladá z viacerých časti:

- Stabilizácia homeostázy iónov
- Inhibícia uvoľnovania excitačných transmiterov
- Zvýšenie antioxidačnej kapacity
- Regulácia metabolických dráh v bunke – inhibícia apoptotických signálov a aktivácia kaskády na prežitie bunky
- Regulácia expresie špecifických génov a syntézy proteínov
- Up-regulácia vylučovania endogénnych opioidov (He et al., 2013).

Systémová odpoveď organizmu

Počas RP dochádza k systémovej odpovedi na vzdialenú ischémiu pomocou po-transkričného alebo transkripčného modulovania protizápalových buniek. Po vzniku ischemického signálu systémová odpoveď zahŕňa protizápalové bunky a protizápalovú odpoveď. Bolo zistené, že RP znižuje expresiu istých typov neutrofilov u ľudí (Billah et al., 2019). Dominantne nastáva zníženie génovej expresie v ľudských leukocytoch, ovplyvňujúce chemotaxiu, adhéziu, migráciu, exocytózu, vrodenú imunitu, signálne dráhy alebo apoptózu. Ďalej dochádza k potlačeniu génov regulujúcich produkciu niektorých cytokínov. Naopak, gény regulujúce protizápalové procesy (Billah et al., 2019; Konstantinov et al., 2004) a gény spojené s opravou DNA sú pozitívne regulované (Gassanov et al., 2014).

5.2) Ovplyvnenie syntetickej funkcie obličiek



Obrázok č.5.: Schematický nákres hypoxiou indukovaného zvýšenia produkcie HIF-1α, ktorý aktiváciou nervových dráh spôspobuje zvýšenú tvorbu červených krviniek a HIF-1α a pôsobí kardioprotektívne RBF – prietok krvi obličkami, EPO – erytropoetín, HIF-1α - podjednotka hypoxiou indukovaného faktora 1 α (Oba et al., 2015)

Ischémia v končatine aktivuje aferentné nervové dráhy a následne eferentné obličkové nervové dráhy cez centrálny nervový systém (CNS). Po tejto aktivácii dôjde k zníženiu prietoku krvi obličkami, čo indukuje syntézu HIF-1α a zvýšené uvoľnovanie a tvorbu erytropoetínu (EPO), ktorý ďalej zvyšuje syntézu červených krviniek, ktoré pomáhajú zvýšiť aeróbnu výdrž organizmu. Schematicky je dráha zo svalu smerujúca k zvýšeniu EPO zobrazená na obrázku č. 5 (Oba et al., 2015). Zvýšenie EPO má vplyv na syntézu erytrocytov, ktoré pomáhajú zvýšiť dostupnosť kyslíka do tkanív a $VO2_{max}$ (Oliveira et al., 2016).

6. Vplyv cvičenia s reštrikciou krvného obehu na športový výkon

Fyziologické mechanizmy popísané v predošlých kapitolách pozitívne ovplyvňujú športový výkon jednotlivca, ktorý je zložený z dvoch zložiek – silovej a vytrvalostnej. Pri rôznych športových aktivitách sú tieto dve odlišné zložky rozdielne trénované. Pri cvičení s RKO dochádza k zlepšeniu obidvoch (Oliveira et al., 2016; Suzuki, 2016). V nasledujúcej kapitole bude zhrnuté ako RKO ovplyvňuje tieto dve zložky športového výkonu.

6.1) Maximálna sila

Hypertrofia svalového vlákna a zmeny v metabolizme svalu sa prejavia zvýšením maximálnej sily (Tzn.: zvýšenie 1-repetičného maxima). V štúdií z roku 2016 Oliveirazistil, že pri tréningovom protokole trvajúcom 4 týždňe, kedy bol počas každého týždňa pridávaný počet repetícií, došlo k zvýšeniu maximálnej sily o 11% (Oliveira et al., 2016). Iné štúdie pri 16 týždňovom tréningovom pláne zaznamenali dokonca ~61% zmenu sily pri tlakovej záťaži na nohy. Avšak v súhrne nie je uvádzané, na akej vzorke populácie sa výskum uskutočnil (Pearson & Hussain, 2015). Každopádne výsledky poukazujú na to, že počas cvičenia s RKO a správnom nastavení tréningového plánu dochádza k zvýšeniu maximálnej sily v oblasti postihnutej neúplnou ischémiou a následnou reperfúziou. Zvýšenie maximálnej sily je priamo úmerné s objemom svalu. Z článkov je zrejmé, že testovacie subjekty boli vo väčšine prípadov mladí dospelí vo veku 18 – 25 rokov, ktorí sa nevenovali športu profesionálne a nemali vytvorený špeciálny tréningový program (Abe et al., 2012; Oliveira et al., 2016).

6.2) Vytrvalosť

Vytrvalostná zložka športového výkonu je tvorená viacerými prvkami, ktoré dohromady umožňujú vykonávať dlhšie svalovú prácu bez vyčerpania. Dostupnosť kyslíka do svalu je jedným z limitujúcich faktorov, ktoré ovplyvňujú svalovú vytrvalosť. Limitujúcim faktorom, ktorý ovplyvňuje vytrvalosť svalu je prekrvenie. Vytrvalostní športovci majú 3-4x viac kapilár v svale ako ľudia, ktorí nešportujú (Hoier & Hellsten, 2014). Preto zvýšená syntéza VEGF a následná tvorba kapilár de novo pomáha distribuovať krv do oblastí, kde by inak hrozila pri zvýšenej fyzickej aktivite hypoxia. Tvorba nových červených krviniek pomocou EPO pomáha tiež zvýšiť objem kyslíka, ktorý je distribuovaný do tela. Tréning s RKO u zajacov vyvolal zvýšenie vytrvalosti, ktorá bola spôsobená zvýšením syntézy prvého typu svalového vlákna (Oliveira et al., 2016). Hlavný faktor, ktorý určuje vytrvalosť svalov v organizme je $VO2_{max}$. Ten určuje maximálne využitie kyslíka v organizme. $VO2_{max}$ je priamo úmerné vytrvalosti. Pri tréningu s RKO dochádza k zvýšeniu tejto hodnoty, čo spôsobuje zvýšenie vytrvalosti. Nárast $VO2_{max}$ počas tréningu s RKO môže byť spôsobený adaptáciami oxidatívnej kapacity svalu (Abe et al., 2010). Pri vytrvalosti svalu je dôležitá dostatočná distribúcia kyslíka, ktorá zabezpečuje, že sval bude

fungovať na aeróbny metabolizmus a nedôjde k rýchlemu vyčerpaniu energetických zásob. Tomu pomáha zvýšená tvorba červených krviniek a zvýšená vaskularizácia kosterných svalov a srdečného svalu (Ferguson et al., 2018; Seiler et al., 2013).

7. Aplikácia tréningu s reštrikciou krvného obehu

Ako sme si postupne v jednotlivých kapitolách prešli ingredienciami a výsledkom cvičenia s reštrikciou krvného obehu, v tejto kapitole budeme diskutovať o recepte. Je mnoho rôznych metód, ktoré sa odlišujú v premenných. Medzi hlavné premenné patrí šírka manžety, aplikovaný tlak na manžetu, dĺžka cvičenia, dĺžka oddychu a intenzita cvičenia .

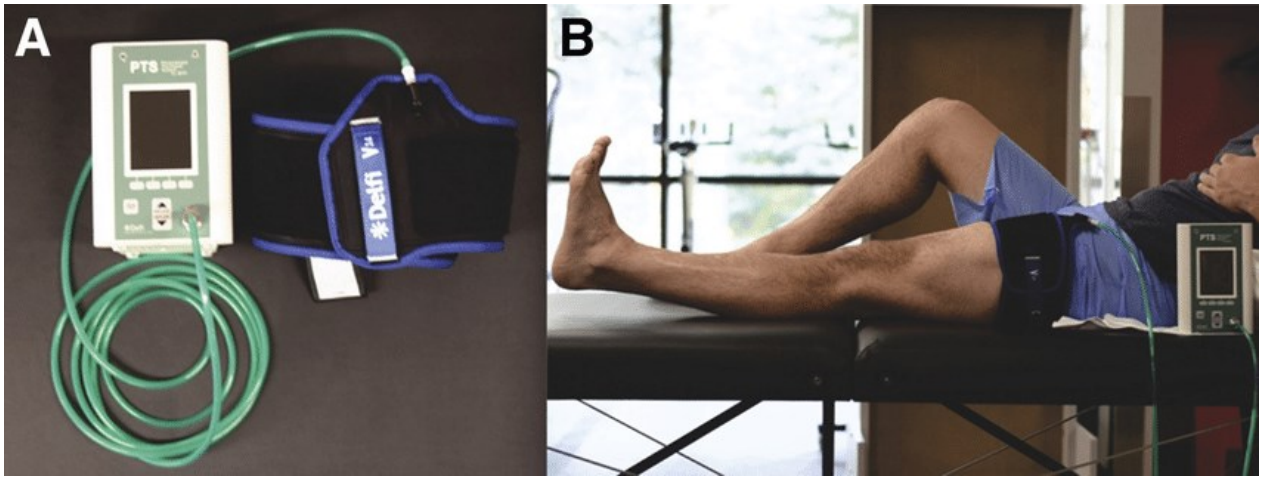
7.1) Používané protokoly pri reštrikcii krvného obehu

Jedným z najdôležitejších úloh pri aplikovaní oklúzie na končatinu je správny výber manžety. Keďže už uplynula nejaká doba od objavu tohto spôsobu cvičenia, na trhu je možné nájsť rôzne komerčne dostupné manžety. Ich výhodou je možnosť regulácie aplikovaného tlaku a štandardizácia podmienok pre testované osoby. Ďalšou možnosťou, ktorá je finančne menej náročná, je využitie obyčajnej elastickej manžety, ktorá sa použije na obmedzenie prívodu krvi do končatiny. Nevýhodou tohto spôsobu je náročná štandardizácia aplikovaného tlaku (Paravlić et al., 2016). Vo všetkých štúdiách bol počas priebehu cvičenia a počas oddychu aplikovaný tlak na manžetu (Fujita et al., 2007; Nielsen et al., 2017; Oliveira et al., 2016; Paravlić et al., 2016). Tlak vyvíjaný na manžetu sa pohybuje v rozmedzí od 30 mmHg do 250 mmHg. Bežné hodnoty, ktoré sú aplikované počas oklúzie sú v rozmedzí od 100 mmHg do 180 mmHg (Paravlić et al., 2016). Zaujímavým spôsobom cvičenia s RKO je metóda, pri ktorej dochádza ku graduálnemu zvýšeniu aplikovaného tlaku na končatinu. Zmena tlaku môže prebiehať v rozmedzí niekoľkých týždňov (Paravlić et al., 2016), ale aj v rámci jedného cvičenia (Fujita et al., 2007). Pri tomto spôsobe RKO je nutné dbať na zreteľ subjektívne pocity testovaných osôb.

Ďalšou variabilnou počas cvičenia s RKO je intenzita a frekvencia cvičenia. Intenzita je určená v percentách na základe maximálnej sily cvičenej oblasti svalov. Obvykle sa zistí takzvané 1-repetičné maximum, z ktorého sa zvolí v percentách intenzita záťaže počas cvičenia s RKO. Obvyklou intenzitou je 20%-35% maximálnej sily. Frekvenciu cvičenia je nutné nastaviť, aby

dochádzalo k dostatočnej regenerácii svalov. Počet tréningov za týždeň je rôzny. Od 2x (Paravlić et al., 2016) až do 5x (BjØrnsen et al., 2019).

Pri výbere manžety, je vhodné zvoliť väčšiu šírku, keďže k dosiahnutiu rovnakého efektu je pri užších manžetách nutné používať vyšší tlak, pri ktorom hrozí vyššie riziko poranenia. Avšak pri voľbe príliš širokej manžety dochádzalo k diskonfortu a zvýšenej kompresii mäkkých tkanív (Loenneke et al., 2012). Preto považujem za výhodné používať komerčne dostupné manžety, ako je napríklad na obrázku č. 7



Obrázok č. 6.: A – príklad používáneho prístroja na aplikáciu tlaku od firmy Delfi Medical, B – spôsob aplikácie manžety na dolnú končatinu (Dephillipo et al., 2018)

7.2) Rozdiely medzi pohlaviami

Medzi pohlaviami boli zaznamenané podobné známky svalovej únavy po cvičení s reštrikciou krvného obehu. Pri ženskom pohlaví ale zaznamenali Labarbera s kolektívom väčšiu vytrvalosť, kedy testované osoby ženského pohlavia boli schopné vykonať väčší počet opakovaní ako muži (Labarbera et al., 2013). Relatívna záťaž (počet opakovaní x hmotnosť závažia) bola u oboch pohlaví porovnateľná (Labarbera et al., 2013; Oliveira et al., 2016).

Na základe týchto zistení počas cvičenia s reštrikciou krvného obehu je vhodné zvýšiť počet opakovaní u žien. Avšak, je nutný ďalší výskum a kvantitatívne definovanie relatívneho zvýšenia cvičenia oproti mužom. Vo výskume od Labarbery a kolektívu ženám trvalo približne dvakrát tak dlho ukončenie cvičenia z vyčerpania na 30% 1 RM (Labarbera et al., 2013).

7.3) Porovnanie s tréningom pri vysokej intenzite

Tréning s vysokou intenzitou (HI) je tréning pri ktorom dochádza k aplikovaní >65% 1-repetičného maxima (Pearson & Hussain, 2015). Dochádza pri ňom hlavne k využívaniu anaeróbnych metabolických dráh. V mnohých aspektoch je tréning s RKO a HI porovnateľný. Pri obidvoch typoch dochádza k vylučovaniu podobných mediátorov a zmene rovnakých metabolických procesov – napríklad stabilizácia HIF-1α (Gonzalez et al., 2002) alebo zvýšenie tvorby kapilár (Ferguson et al., 2018). Taktiež po cvičení dochádza pri HI a RKO tréningu k podobnému zníženiu sily maximálnej svalovej kontrakcie (Fatela et al., 2018). Zmeny v hypertrofii svalov alebo v sile svalového vlákna sú pri HI signifikantnejšie (Lixandrão et al., 2018; Oliveira et al., 2016). Porovnanie skupín testovaných osôb s RKO a HI ukázalo, že rozdiely v sile svalu boli priemerne 7,36% v prospech tréningu s vysokou intenzitou (Lixandrão et al., 2018). Pri HI dochádza tiež k maximalizácii svalovej aktivácie, ktorá vedie k väčšej svalovej únave ako cvičenie s RKO (Fatela et al., 2018). HI tréning nie je nahraditeľný tréningom s RKO. Cieľovou skupinou pre cvičenie s RKO teda nie sú vrcholový športovci, ale iné skupiny ľudí, ako je rozobrané v následujúcej kapitole.

8. Využitie reštrikcie krvného obehu v praxi

Ako je z predošlého textu zrejmé, reštrikcia krvného obehu v porovnaní s HI tréningom má isté nedostatky, ktoré sú kľúčové pri tréningu vrcholových športovcov, a preto sa cvičenie s RKO nedá považovať za vhodný doplnok tréningového plánu tejto skupiny. Pre koho je teda naozaj tento druh pohybu určený? Tréning s RKO je vhodný ako tréningová stratégia najmä pre športovcov, ktorí sú po zranení. Ďalej táto forma cvičenia vhodná pre osoby s neuromuskulárnymi poruchami, sarkopéniou alebo aj astronautov (Larkin et al., 2013). Počas tréningu na 30% 1RM je riziko zranenia nízke, priam neexistujúce, takže uvedené skupiny môžu z tejto formy pohybu benefitovať najviac. Tréning s RKO je vhodný ako spôsob rehabilitácie pri zraneniach, kde hrozí riziko atrofie svalov. Cvičenie s reštrikciou krvného obehu spôsobuje nárast jedno-repetičného maxima a zvýšenie vytrvalosti. To vedie k zrýchlenej rehabilitácii a zlepšeniu funkčnosti postihnutej svalovej skupiny (Ferraz et al., 2018; Tennent et al., 2018).

Rizikovou skupinou pri cvičení s RKO môžu byť osoby s kardiovaskulárnymi chorobami, vysokým krvným tlakom a aterosklerózou (Paravlić et al., 2016). Do budúcna je potrebný ďalší výskum, nakoľko v článku z januára 2019, je napísané, že stále nie je známe, či riziko tromboembólie a následnej trombózy spojené so športovaním pri RKO je väčšie, alebo rovnaké ako riziko počas HI tréningu (Bond et al., 2019).

Pri tréningu s reštrikciou krvného obehu dochádza k zaujímavému fenoménu hypoalgézie, kedy pri bolesti prednej strany kolena počas cvičenia dochádza k zníženiu vnímanej bolesti (Korakakis et al., 2018)

9. Záver

Reštrikciou krvného obehu sa rozumie obmedzenie prívodu krvi do končatiny na hranici ischémie a hypoxie, preto sa to dá nazývať obmedzenou ischémiou. Počas RKO dochádza k ovplyvneniu viac ako 100 mediátorov adaptačných zmien. Pre športový výkon je relevantných hlavne 12 (HIF-1α, VEGF, S6K1, Pi, Makrofágy, Adenozín, Bradykinín, Opioidy, NO, EPO, ROS a PGC-1α).

Ich vplyv na organizmus sa dá rozdeliť na lokálne adaptačné zmeny a adaptačné zmeny organizmu. Medzi lokálne adaptačné zmeny patrí zvýšenie vaskularizácie vo svale, ktoré pomáha zvýšiť prístup kyslíka do tkaniva. Ďalej dochádza k zmene využívania energetického zdroja pre sval, kedy sa sval začína viac orientovať na anaeróbny metabolizmus. To možno súvisí so zmenou vo frekvencií využívania a následnej hypertrofie svalového vlákna. To však doteraz nebolo dokázané. Medzi adaptačné zmeny svalu na cvičenie v hypoxických podmienkach patrí hypertrofia svalového vlákna, ktorá je výraznejšia pri protokole, ktorý zahŕňa tréning s RKO.

Na úrovni organizmu dochádza k ovplyvneniu syntetickej funkcie obličiek, ktoré produkujú EPO vo zvýšenom množstve. To spôsobuje nárast tvorby červených krviniek a tiež zlepšuje prekrvenie svalu. Pri procese RP dochádza k zlepšeniu funkcie srdcového svalu a jeho odolnosti na infarkt.

Tieto adaptačné zmeny vedú k zvýšeniu maximálnej sily a vytrvalosti. Významným faktorom určujúcim vytrvalosť organizmu je $VO2_{max}$. Po hypertrofii svalu dochádza k zvýšeniu jeho objemu

a to spôsobuje nárast sily. Tieto zistenia sú relatívne, pretože pri porovnávaní HI tréningu a tréningu s RKO je výhodnejší HI tréning. Tréning s RKO je vhodný najmä pre osoby, ktoré z určitých dôvodov HI tréning vykonávať nemôžu. Naopak, tréning s RKO nie je vhodný pre vrcholových športovcov.

Z využívaných protokolov vyzerá byť najvýhodnejší ten protokol, v ktorom testované osoby vykonávajú cvičenie s reštrikciou krvného obehu na 30% jedno-repetičného maxima 4x týždenne po dobu aspoň 3 týždňov, aby sa prejavili adaptačné zmeny. Tlak aplikovaný na manžetu je vhodné udržať na 150 mmHg. Na jeho udržanie nutné používať komerčne dostupné manžety.

Po preštudovaní dostupnej literatúry je zrejmé, že za 30 rokov od prvého opísania tréningu s RKO došlo k výraznému pokroku v tejto oblasti. Stále však existujú otázky, ktoré zodpovedané neboli a ponúkajú možnosť ďalšieho výskumu. Je tréning s reštrikciou krvného obehu vhodnejší na zvýšenie vytrvalosti alebo sily? Aké svalové vlákna sú predominantne využívané? Sú to svalové vlákna I typu, alebo svalové vlákna II typu?

10. Bibliografia

Abe, T., Fujita, S., Nakajima, T., Sakamaki, M., Ozaki, H., Oga-sawara, R., … Ishii, N. (2010). Effects of low-intensity cycle training with restricted leg blood flow on thigh muscle volume and VO2max in young men. *Journal of Sports Science and Medicine*, *9*(April), 452–458.

Abe, T., Loenneke, J. P., Fahs, C. A., Rossow, L. M., Thiebaud, R. S., & Bemben, M. G. (2012). Exercise intensity and muscle hypertrophy in blood flow-restricted limbs and non-restricted muscles: A brief review. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, *32*(4), 247–252. https://doi.org/10.1111/j.1475-097X.2012.01126.x

Armstead, W. M. (1998). Nitric oxide contributes to opioid release from glia during hypoxia. *Brain Research*, *813*(2), 398–401. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)01022-1

Baldelli, S., Barbato, D. L., Tatulli, G., Aquilano, K., & Ciriolo, M. R. (2014). The role of nNOS and PGC-1 a in skeletal muscle cells, 4813–4820. https://doi.org/10.1242/jcs.154229

Benizri, E., Ginouvés, A., & Berra, E. (2008). The magic of the hypoxia-signaling cascade. *Cellular*

and Molecular Life Sciences, *65*, 1133–1149. https://doi.org/10.1007/s00018-008-7472-0

Billah, M., Ridiandries, A., Allahwala, U., & Mudaliar, H. (2019). Circulating mediators of remote ischemic preconditioning : search for the missing link between non-lethal ischemia and cardioprotection. *Oncotarget*, *10*(2), 216–244.

Bittar, S. T., Pfeiffer, P. S., Santos, H. H., & Cirilo-Sousa, M. S. (2018). Effects of blood flow restriction exercises on bone metabolism: a systematic review. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, *38*(6), 930–935. https://doi.org/10.1111/cpf.12512

BjØrnsen, T., Wernbom, M., Kirketeig, A., Paulsen, Gø., SamnØy, L., BÆkken, L., … Raastad, T. (2019). Type 1 Muscle Fiber Hypertrophy after Blood Flow-restricted Training in Powerlifters. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *51*(2), 288–298. https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001775

Bommi-Reddy, A., Laznik, D., Girnun, G., Ma, Y., Chinsomboon, J., Spiegelman, B. M., … Arany, Z. (2008). HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1α. *Nature*, *451*(7181), 1008–1012. https://doi.org/10.1038/nature06613

Bond, C. W., Hackney, M. S. K. J., Brown, S. L., & Noonan, S. C. S. B. C. (2019). Blood Flow Restriction Resistance Exercise as a Rehabilitation Modality Following Orthopaedic Surgery: A Review of Venous Thromboembolism Risk, *49*(1), 17–27. https://doi.org/10.2519/jospt.2019.8375

Cohen, M. V, Yang, X., Liu, G. S., Heusch, G., & Downey, J. M. (2015). not Adenosine , Trigger Preconditioning by Generating Free Radicals and Opening Mitochondrial K ATP Channels, 273–279.

Critz, S. D., Cohen, M. V., & Downey, J. M. (2005). Mechanisms of acetylcholine- and bradykinin-induced preconditioning. *Vascular Pharmacology*, *42*(5–6), 201–209. https://doi.org/10.1016/j.vph.2005.02.007

Dephillipo, N., Kennedy, M., Aman, Z., Bernhardson, A., & Luke, B. (2018). Blood Flow Restriction Therapy After Knee Surgery : *Arthroscopy Techniques*, (September).

https://doi.org/10.1016/j.eats.2018.06.010

Fatela, P., Reis, J. F., Mendonca, G. V., Freitas, T. S., Valamatos, M. J., Avela, J., & Mil-Homens, P. (2018). Acute neuromuscular adaptations in response to low-intensity blood-flow restricted exercise and high-intensity resistance exercise: Are there any differences? *Journal of Strength and Conditioning Research*, *32*(4), 902–910. https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002022

Ferguson, R. A., Hunt, J. E. A., Lewis, M. P., Martin, N. R. W., Player, D. J., Stangier, C., … Turner, M. C. (2018). The acute angiogenic signalling response to low-load resistance exercise with blood flow restriction. *European Journal of Sport Science*, *18*(3), 397–406. https://doi.org/10.1080/17461391.2017.1422281

Ferraz, R. B., Gualano, B., Rodrigues, R., Kurimori, C. O., Fuller, R., Lima, F. R., … Roschel, H. (2018). Benefits of Resistance Training with Blood Flow Restriction in Knee Osteoarthritis. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *50*(5), 897–905. https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001530

Fujita, S., Abe, T., Drummond, M. J., Cadenas, J. G., Dreyer, H. C., Sato, Y., … Rasmussen, B. B. (2007). Blood flow restriction during low-intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. *Journal of Applied Physiology*, *103*(3), 903–910. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00195.2007

Gassanov, N., Nia, A. M., Caglayan, E., & Er, F. (2014). Remote Ischemic Preconditioning and Renoprotection: From Myth to a Novel Therapeutic Option? *Journal of the American Society of Nephrology*, *25*(2), 216 LP-224. https://doi.org/10.1681/ASN.2013070708

Gleadle, J. M., & Mazzone, A. (2016). Remote ischaemic preconditioning: closer to the mechanism? *F1000Research*, *5*(0), 2846. https://doi.org/10.12688/f1000research.9633.1

Gonzalez, C., Sanz-Alfayate, G., Agapito, M. T., Gomez-Niño, A., Rocher, A., & Obeso, A. (2002). Significance of ROS in oxygen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hypoxia. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, *132*(1), 17–41. https://doi.org/10.1016/S1569-9048(02)00047-2

Hausenloy, D. J., & Yellon, D. M. (2008). Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovascular Research*, *79*(3), 377–386. https://doi.org/10.1093/cvr/cvn114

Hay, N., & Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes and Development*, *18*(16), 1926–1945. https://doi.org/10.1101/gad.1212704

He, X., Sandhu, H. K., Yang, Y., Hua, F., Belser, N., Kim, D. H., & Xia, Y. (2013). Neuroprotection against hypoxia/ischemia: δ-opioid receptor-mediated cellular/molecular events. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *70*(13), 2291–2303. https://doi.org/10.1007/s00018-012-1167-2

Heil, M., Eitenmuller, I., Schmitz-Rixen, T., & Schaper, W. (2006). Arteriogenesis versus angiogenesis: similarities and differences. *Angiogenesis Review Series*, *10*(1), 44–55.

Henneman, B. Y. E. (1985). The size-principle: A deterministic outpot emerges from a set of probabilistic connections, *112*, 105–112.

Hoier, B., & Hellsten, Y. (2014). Exercise induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Mikrocirculation*, *21*(4), 301–314. https://doi.org/10.1111/micc.12117

Hong, S., Lee, H., & Kim, K. (2004). HIF-1α : a Valid Therapeutic Target for Tumor Therapy. *Cancer Research and Treatment*, *36*(6), 343–353.

Jašová, M., Kancirová, I., Waczulíková, I., & Ferko, M. (2017). Mitochondria as a target of cardioprotection in models of preconditioning. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *49*(5), 357–368. https://doi.org/10.1007/s10863-017-9720-1

Konstantinov, I. E., Arab, S., Kharbanda, R. K., Li, J., Cheung, M. M. H., Cherepanov, V., … Redington, A. N. (2004). The remote ischemic preconditioning stimulus modifies inflammatory gene expression in humans. *Physiological Genomics*, *19*(1), 143–150. https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00046.2004

Korakakis, V., Whiteley, R., & Epameinontidis, K. (2018). Blood Flow Restriction induces

hypoalgesia in recreationally active adult male anterior knee pain patients allowing therapeutic exercise loading. *Physical Therapy in Sport*, *32*, 235–243. https://doi.org/10.1016/j.ptsp.2018.05.021

Labarbera, K. E., Murphy, B. G., Laroche, D. P., & Cook, S. B. (2013). Sex differences in blood flow restricted isotonic knee extensions to fatigue. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *53*(4), 444–452. https://doi.org/10.1002/14651858.CD003793.pub2.7.

Lalkovičová, M., Bonová, P., Burda, J., & Danielisová, V. (2015). Effect of Bradykinin Postconditioning on Ischemic and Toxic Brain Damage. *Neurochemical Research*, *40*(8), 1728–1738. https://doi.org/10.1007/s11064-015-1675-1

Larkin, K., Macneil, G., Dirain, M., Sandesara, B., Manini, T., & Bufford, T. (2013). Blood Flow Restriction Enhances Post–Resistance Exercise Angiogenic Gene Expression. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *44*(11), 2077–2083. https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182625928.Blood

Laurentino, G., Aoki, M., Fernandes, R., Soares, A., Ugrinowitsch, C., Hoschel, H., & Tricoli, V. (2018). Low-load Resistance Exercise with Blood Flow Restriction Changes Hypoxia-Induced Genes Expression. Retrieved from https://www.fasebj.org/doi/abs/10.1096/fasebj.2018.32.1_supplement.855.23#f1-85523

Lixandrão, M. E., Ugrinowitsch, C., Berton, R., Vechin, F. C., Conceição, M. S., Damas, F., … Roschel, H. (2018). Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*, *48*(2), 361–378. https://doi.org/10.1007/s40279-017-0795-y

Loenneke, J. P., Fahs, C. A., Rossow, L. M., Sherk, V. D., Thiebaud, R. S., Abe, T., … Bemben, M. G. (2012). Effects of cuff width on arterial occlusion: implications for blood flow restricted exercise, 2903–2912. https://doi.org/10.1007/s00421-011-2266-8

Marabita, M., Baraldo, M., Solagna, F., Ceelen, J. J. M., Sartori, R., Nolte, H., … Blaauw, B. (2016). S6K1 Is Required for Increasing Skeletal Muscle Force during Hypertrophy. *Cell Reports*,

17(2), 501–513. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.020

Masoud, G. N., & Li, W. (2015). HIF-1α pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *5*(5), 378–389. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.007

Mustafa, J., Morrison, R., Bunyen, T., & Pelleg, A. (2009). Adenosine Receptors in Health and Disease. *Handb Exp Pharmacol*, *61*(193), 161–188. https://doi.org/10.1007/978-3-540-89615-9_6

Nakajima, T., Koide, S., Yasuda, T., Hasegawa, T., Yamasoba, T., Obi, S., … Kano, Y. (2018). Muscle hypertrophy following blood flow-restricted low force isometric electrical stimulation in rat tibialis anterior: Role for muscle hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, japplphysiol.00972.2017. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00972.2017

Neto, G. R., Novaes, J. S., Dias, I., Brown, A., Vianna, J., & Cirilo-Sousa, M. S. (2017). Effects of resistance training with blood flow restriction on haemodynamics: a systematic review. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, *37*(6), 567–574. https://doi.org/10.1111/cpf.12368

Nielsen, J. L., Aagaard, P., Prokhorova, T. A., Nygaard, T., Bech, R. D., Suetta, C., & Frandsen, U. (2017). Blood flow restricted training leads to myocellular macrophage infiltration and upregulation of heat shock proteins, but no apparent muscle damage. *Journal of Physiology*, *595*(14), 4857–4873. https://doi.org/10.1113/JP273907

Oba, T., Yasukawa, H., Nagata, T., Kyogoku, S., Minami, T., Nishihara, M., … Imaizumi, T. (2015). Renal Nerve-Mediated Erythropoietin Release Confers Cardioprotection During Remote Ischemic Preconditioning, *79*(July). https://doi.org/10.1253/circj.CJ-14-1171

Oliveira, M. F. M., Caputo, F., Corvino, R. B., & Denadai, B. S. (2016). Short-term low-intensity blood flow restricted interval training improves both aerobic fitness and muscle strength. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *26*(9), 1017–1025. https://doi.org/10.1111/sms.12540

Paravlić, A., Geržević, M., & Pišot, R. (2016). Restricted blood flow resistance training: the optimal training protocol to increase muscle mass and strenght. *Research in Physical Education*, *5*(1), 9–16.

Park, J. E., Keller, G., & Ferrara, N. (1993). The Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Isoforms: Differential Deposition into the Subepithelial Extracellular Matrix and Bioactivity of Extracellular Matrix-bound VEGF. *Mollecular Biology of the Cell*, *4*(December), 1317–1326.

Pearson, S. J., & Hussain, S. R. (2015). A Review on the Mechanisms of Blood-Flow Restriction Resistance Training-Induced Muscle Hypertrophy. *Sports Medicine*, *45*(2), 187–200. https://doi.org/10.1007/s40279-014-0264-9

Peart, J. N., Gross, E. R., & Gross, G. J. (2005). Opioid-induced preconditioning: Recent advances and future perspectives. *Vascular Pharmacology*, *42*(5–6), 211–218. https://doi.org/10.1016/j.vph.2005.02.003

Przyklenk, K., Bauer, B., Ovize, M., Kloner, R. A., & Whittaker, P. (1993). Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, *87*(3), 893–899. https://doi.org/10.1161/01.CIR.87.3.893

Randhawa, P. K., & Jaggi, A. S. (2016). Unraveling the role of adenosine in remote ischemic preconditioning-induced cardioprotection. *Life Sciences*, *155*, 140–146. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.05.009

Rossi, F. E., De Freitas, M. C., Zanchi, N. E., Lira, F. S., & Cholewa, J. M. (2018). The role of inflammation and immune cells in blood flow restriction training adaptation: A review. *Frontiers in Physiology*, *9*(OCT), 1–9. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01376

Ryan, K. M., Patterson, I., & Mcloughlin, D. M. (2018). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator-1 alpha in depression and the response to electroconvulsive therapy, 1–10.

Schönenberger, M. J., & Kovacs, W. J. (2015). Hypoxia signaling pathways : modulators of

oxygen-related organelles, *3*(July). https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00042

Seiler, C. (2009). Collateral circulation of the heart. *Collateral Circulation of the Heart*, *11*(1), 1–418. https://doi.org/10.1007/978-1-84882-342-6

Seiler, C., Stoller, M., Pitt, B., & Meier, P. (2013). The human coronary collateral circulation: Development and clinical importance. *European Heart Journal*, *34*(34), 2674–2682. https://doi.org/10.1093/eurheartj/eht195

Sjöström, M., Neglén, P., Fridén, J., & Eklöf, B. (1982). Human skeletal muscle metabolism and morphology after temporary incomplete ischaemia. *European Journal of Clinical Investigation*, *12*(1), 69–79. https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1982.tb00941.x

Smith, I. C., Bellissimo, C., Herzog, W., & Tupling, A. R. (2016). Can inorganic phosphate explain sag during unfused tetanic contractions of skeletal muscle? *Physiological Reports*, *4*(22), 1–18. https://doi.org/10.14814/phy2.13043

Sousa, J. B. C., Neto, G. R., Santos, H. H., Araújo, J. P., Silva, H. G., & Cirilo-Sousa, M. S. (2017). Effects of strength training with blood flow restriction on torque, muscle activation and local muscular endurance in healthy subjects. *Biology of Sport*, *34*(1), 83–90. https://doi.org/10.5114/biolsport.2017.63738

Steinbacher, P., & Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, *5*(2), 356–377. https://doi.org/10.3390/biom5020356

Suzuki, J. (2016). Short-duration intermittent hypoxia enhances endurance capacity by improving muscle fatty acid metabolism in mice. *Physiological Reports*, *4*(7), 1–11. https://doi.org/10.14814/phy2.12744

Tennent, D. J., Burns, T. C., Johnson, A. E., Owens, J. G., & Hylden, C. M. (2018). Blood flow restriction training for postoperative lower-extremity weakness: A report of three cases. *Current Sports Medicine Reports*, *17*(4), 119–122. https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000470

Thomas, H. J., Scott, B. R., & Peiffer, J. J. (2018). Acute physiological responses to low-intensity

blood flow restriction cycling. *Journal of Science and Medicine in Sport*, *21*(9), 969–974. https://doi.org/10.1016/j.jsams.2018.01.013

Umbrello, M., Dyson, A., Feelisch, M., & Singer, M. (2013). The Key Role of Nitric Oxide in Hypoxia: Hypoxic Vasodilation and Energy Supply–Demand Matching. *Antioxidants & Redox Signaling*, *19*(14), 1690–1710. https://doi.org/10.1089/ars.2012.4979

Westerblad, H., Allen, D. G., & Lännergren, J. (2002). Muscle Fatigue: Lactic Acid or Inorganic Phosphate the Major Cause? *Physiology*, *17*(1), 17–21. https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2002.17.1.17