Research Paper

The Comparison of Eight Weeks of HIIT and BFR on Mitochondrial Biogenesis and Angiogenesis Markers in Vastus Lateralis Muscle of Amateur Male Runners

*Seyyed Yaser Alavi¹, Shadmehr Mirdar¹

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

Citation Alavi SY, Mirdar Sh. The Comparison of Eight Weeks of HIIT and BFR on Mitochondrial Biogenesis and Angiogenesis Markers in Vastus Lateralis Muscle of Amateur Male Runners. Scientific Journal of Rehabilitation Medicine. 2021; 10(3):424-435. <https://doi.org/10.32598/sjrm.10.3.4>

doi <https://doi.org/10.32598/sjrm.10.3.4>

Received: 17 Mar 2021

Accepted: 16 Jun 2021

Available Online: 23 Jul 2021

Keywords:

High-Intensity Interval Training (HIIT), PGC-1 α , Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

ABSTRACT

Background and Aims Post-exercise Blood Flow Restriction (BFR) is a novel training method that, through alterations to the haemodynamic, metabolic, and hypoxic stimulus, could augment skeletal muscle adaptation in endurance-trained individuals. This study aimed to compare the effect of eight weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) and BFR on PGC-1 α and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) as mitochondrial biogenesis and angiogenesis biomarkers, respectively, in amateur male runners.

Methods In the current study, 15 runners (Mean $\pm$ SD of age: 23 $\pm$ 3 years; height: 172 $\pm$ 5 cm; weight: 73 $\pm$ 4 kg; BMI: 23 $\pm$ 1.7 kg/m²) voluntarily participating in this study were divided into three groups: 1-Control 2-HIIT and 3-HIIT+BFR or BFR. The experimental groups performed three sessions a week (six trials each session) for eight weeks. The biopsy samples were collected from the vastus lateralis muscle at the first and end of eight weeks. The protein expression levels of the PGC-1 α and VEGF were studied by immunohistochemical method. Data analysis was performed using the one-way Analysis of Covariance (ANCOVA), and a significance level of $P < 0.05$ was considered.

Results The findings showed that PGC-1 α values were significantly increased in the HIIT and BFR groups (54.9% and 60.85%, respectively) compared to the control group, as well as VEGF levels were 51.31% and 57.52%, respectively ($P < 0.05$). There were also significant differences between experimental groups in the protein expressions ($P < 0.05$).

Conclusion Given that activation of VEGF from the PGC-1 pathway is part of cellular-molecular mechanisms of high-intensity interval training, It seems that the combination of intense interval training and BFR can effectively affect the process of angiogenesis in the vastus lateralis muscle of amateur runners.

Extended Abstract

1. Introduction

P

ost-exercise Blood Flow Restriction (BFR) is a novel training method that, through alterations to the haemodynamic, metabolic,

and hypoxic stimulus, could augment skeletal muscle adaptation in endurance-trained individuals. Therefore this study aimed to compare the effect of eight weeks of HIIT and BFR on Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α (PGC-1 α) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) as mitochondrial biogenesis and angiogenesis biomarkers, respectively, in amateur male runners.

*Corresponding Author:

Seyyed Yaser Alavi, PhD.

Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

Tel: +98 (935) 1561928

E-Mail: yaseralavi@gmail.com

Figure 1. immunohistochemical expression of PGC-1 α protein of the vastus lateralis muscle cells in the groups (Control, BFR, and HIIT)

White spots are related to protein expression.

2. Methods

In the current study, 15 runners (Mean $\pm$ SD of age: 23 $\pm$ 3 years; height: 172 $\pm$ 5 cm; weight: 73 $\pm$ 4 kg; BMI: 23 $\pm$ 1.7 kg/m²) voluntarily participating in this study were divided into three groups: 1-Control 2-HIIT and 3-HIIT+BFR or BFR. Unlike the control group, which did not participate in any training, the experimental groups performed the 10-20-30 training pattern for eight weeks/three sessions per week. The 10-20-30 training consisted of a 15-min warm-up at a low intensity followed by 6 $\times$ 5 min running periods interspersed by 4 min of rest. Each 5-min running period consisted of five consecutive 1-min intervals divided into 30, 20, and 10 s at an intensity of $\sim$ 30%, $\sim$ 60%, and $\sim$ 90–100% of maximal running speed.

The difference between the experimental groups was that the BFR group had to lay supine on an adjacent carpet immediately after each trial. By installing an inflatable cuff on the highest part of the thigh of both legs, blood restriction was applied for two minutes and immediately rested for two minutes by removing the cuff from the position and then prepared for the next attempt. All runners were present in the medical laboratory 72 hours before exercise training and 72 hours after the last exercise session, and needle biopsies were taken from them. Tissue samples were stored in formalin-containing tubes for approximately one month

until transfer to the histology laboratory. After transferring the models, the protein expression levels of the PGC-1 α and VEGF were studied by immunohistochemical method. Data analysis was performed using the One-Way Analysis of Covariance (ANCOVA), and a significance level of $P < 0.05$ was considered.

3. Results

The results showed that the levels of PGC-1 α in the HIIT and BFR groups increased by 54.9% and 60.85%, respectively, compared to the control group ($P < 0.05$), and the difference between the experimental groups in the expression of this protein was significant ($P < 0.05$). Immunohistochemical expression of PGC-1 α protein of the vastus lateralis muscle cells has been shown for experimental and control groups (Figure 1). The lowest expression of this protein is seen in the control group, and the highest expression is seen in the BFR.

Also, VEGF levels in HIIT and BFR groups increased significantly by 51.31% and 57.52%, respectively, compared to the control group ($P < 0.05$), and the difference between the experimental groups in the expression of this protein was significant ($P < 0.05$). Figure 2 shows that the lowest expression of VEGF regarding the control group and the highest expression belongs to the BFR.

Figure 2. Immunohistochemical expression of VEGF protein of the vastus lateralis muscle cells in the groups (Control, BFR, and HIIT)

White spots are related to protein expressions.

4. Discussion and Conclusion

Given that activation of VEGF from the PGC-1 pathway is part of cellular-molecular mechanisms of high-intensity interval training, It seems that the combination of intense interval training and BFR can effectively affect the process of angiogenesis in the vastus lateralis muscle of amateur runners.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Research Ethics Committee of the University of Mazandaran Biology Research Center (Code: IR.UMZ.REC.1397.048). All ethical principles are considered in this article. The participants were informed about the purpose of the research and its implementation stages. They were also assured about the confidentiality of their information. They were free to leave the study whenever they wished, and if desired, the research results would be available to them.

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

Conceptualization, methodology, research analysis, resources, drafting, visualization, project management and financing: Seyed Yaser Alavi; Validation, editing and finalization of writing and supervision: Both authors.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

We would like to thank the University of Mazandaran for providing the research equipment needed.

مقاله پژوهشی

مقایسه هشت هفته تمرینات تناوبی شدید و محدودکننده جریان خون بر شاخص‌های بیویژنر میتوکندریایی و آنژیوژنز عضله پهن خارجی دوندگان مرد

*سید یاسر علوی^۱، شادمهر میردار^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: محدودسازی جریان خون پس از تمرین، یک روش تمرینی جدید است که از راه تغییرات همودینامیکی، متابولیکی و محرک هایپوکسی، می‌تواند سازگاری عضله اسکلتی در افراد تمرین‌کرده استقامتی را افزایش دهد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش مقایسه تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شدید و محدودکننده جریان خون بر PGC-1 α و VEGF به ترتیب به عنوان شاخص‌های بیویژنر میتوکندریایی و آنژیوژنز دوندگان مرد آماتور بود.

مواد و روش‌ها: ۱۵ دوندۀ مرد (سن ۲۲±۳ سال؛ قد: ۱۷۲±۵ سانتی‌متر؛ وزن: ۷۳±۴ کیلوگرم؛ شاخص توده بدن: ۲۳±۱/۷) به صورت داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند که به سه گروه: (۱) کنترل پایه، (۲) تمرینات تناوبی شدید و (۳) تمرینات محدودکننده جریان خون+تناوبی شدید (BFR) تقسیم شدند. گروه‌های تجربی سه جلسه در هفته (در هر جلسه شش و هله) تمرین را به مدت هشت هفته اجرا می‌کردند. قبل و بعد از هشت هفته، نمونه‌گیری بافتی از عضله پهن خارجی دوندگان با روش نمونه‌برداری سوزنی به عمل آمد و میزان بیان پروتئین‌های PGC-1 α و VEGF با روش ایمونوهیستوشیمی مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از آزمون آنالیز کوواریانس یک‌طرفه صورت گرفت و سطح معنی‌داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد مقادیر PGC-1 α در گروه‌های تناوبی شدید و BFR در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب به میزان ۵۴/۹ و ۶۰/۸۵ درصد و همین‌طور سطوح VEGF به ترتیب به میزان ۵۱/۳۱ و ۵۷/۵۲ درصد به صورت معنی‌دار افزایش یافته است ($P<0/05$). همچنین اختلاف میان گروه‌های تجربی در بیان هر دو پروتئین معنی‌دار بود ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه فعال‌سازی VEGF از مسیر PGC-1 α بخشی از فرایندهای سلولی مولکولی وابسته به تمرینات تناوبی شدید است، به نظر می‌رسد تلفیق تمرینات تناوبی شدید و BFR می‌تواند به طور مؤثری فرایند رگ‌زایی در عضله پهن خارجی دوندگان آماتور را تحت تأثیر قرار دهد.

تاریخ دریافت: ۲۷ اسفند ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۶ خرداد ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱ مرداد ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

تمرینات تناوبی شدید، تمرینات محدودکننده جریان خون، عامل تکثیر پراکسی‌زوم، عامل رشد اندوتلیال عروقی

مقدمه

در سال‌های اخیر، تمرینات تناوبی شدید^۱ (HIIT) به عنوان یکی از روش‌های تمرینی سودمند مورد توجه قرار گرفته‌اند که به صورت کوشش‌های تمرینی تکراری شدید (عموماً با شدتی فراتر از ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه) همراه با دوره‌های ریکاوری میان تناوب‌ها اجرا می‌شوند [۱]. مطالعات مختلف بهبود اجرای هوازی با اجرای این تمرینات را نشان می‌دهند و سازوکارهای وابسته به آن، مورد پرسش بسیاری از محققان است. نتایج

پژوهش‌های وابسته نشان داد فعال‌کننده همکار نوع اول آلفای گیرنده گامای فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی‌زوم^۲ (PGC-1 α) به عنوان تنظیم‌کننده اصلی بیویژنر میتوکندریایی [۲] با اجرای HIIT تنظیم مثبت می‌شود [۴، ۲].

همچنین PGC-1 α در آنژیوژنز ناشی از فعالیت ورزشی از مسیر گیرنده آلفای وابسته به استروژن^۳ (ERR α) مشارکت دارد و بدین‌وسیله تولید فاکتور رشد اندوتلیال عروقی^۴ (VEGF) را افزایش می‌دهد [۵]. نتایج یک پژوهش نشان داد در موش‌های

2. Peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α
3. Estrogen related receptor- α
4. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

1. High-Intensity Interval Training (HIIT)

* نویسنده مسئول:

سید یاسر علوی

نشانی: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۱۵۶۱۹۲۸ (۹۳۵) ۰۹۸

رایانامه: yaserlavi@gmail.com

mRNA را بلافاصله و سه ساعت پس از تمرین افزایش می‌دهد. این در حالی است که تفاوت میان دو روش تمرینی به معنی‌داری نرسید ($P < 0.05$). برخلاف نتایج تحقیق ذکر شده، نتایج مطالعه کریستیانسن و همکاران [۱۸] با بررسی تأثیرات حاد HIIT با شدت ۱۰۵ درصد آستانه لاکتات روی نوارگردان همراه با BFR نشان داد بیان PGC-1 α mRNA با تمرین HIIT همراه BFR نسبت به HIIT منفرد به طور معنی‌داری بیشتر است ($P < 0.05$). نتایج پژوهش میشل و همکاران [۲۰] نیز هیچ افزایشی را در نشانگرهای مویرگ‌زایی و محتوای پروتئین‌های میتوکندریایی عضله پهن خارجی دوچرخه‌سواران تمرین کرده مرد (میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه $62/8$ Vo_2max) با اجرای SIT منفرد یا همراه با BFR میان تناوب‌ها در طول چهار هفته تمرین آشکار نداشت.

با توجه به اینکه در سال‌های اخیر رویکردهای تمرینی HIIT و BFR توسط ورزشکاران مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۸، ۱۳]، اطلاعات اندکی در ارتباط با سازوکارهای سلولی مولکولی HIIT در ترکیب با BFR، در دسترس است. با توجه به نتایج متناقض تحقیقات موجود در بررسی متغیرهای بیوژنز میتوکندریایی آنژیوژنیک، تحقیق حاضر در صدد است تأثیر هشت هفته تمرین HIIT و BFR بر بیان ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین‌های PGC-1 α و VEGF در عضله پهن خارجی دوندگان مرد آماتور را مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق از نوع نیمه تجربی است. نمونه آماری پژوهش شامل ۱۵ نفر دونده نیمه‌استقامت فعال آماتور (میانگین $\pm$ انحراف معیار سن: 23 ± 3 سال؛ قد: 172 ± 5 سانتی‌متر؛ وزن: 73 ± 4 کیلوگرم؛ شاخص توده بدن: $23 \pm 1/7$ کیلوگرم بر متر مربع) در مواد ۸۰۰ و ۱۵۰۰ متر بود که پس از فراخوانی محقق، داوطلب حضور در آن شدند. معیارهای ورود افراد به این تحقیق، عدم مصرف هرگونه ماده نیروزا و مکملی حداقل تا شش ماه اخیر، برخورداری از سلامت کامل و داشتن شاخص توده بدنی زیر ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع بود. در این تحقیق با در نظر گرفتن ملاحظات و موازین اخلاقی، از کلیه افراد آزمودنی رضایت‌نامه کتبی اخذ شد و با توجه به اینکه می‌بایست عمل نمونه‌برداری سوزنی روی آزمودنی‌ها اجرا شود، تأییدیه اخلاقی از کمیته اخلاق دانشگاه مازندران دریافت شد (IR.UMZ.REC.1397.048). در یک جلسه توجیهی پیش از شروع تمرینات، در خصوص روند اجرایی پژوهش، نکات و توصیه‌های لازم ارائه شد و اندازه‌گیری‌های آنترپومتریکی دوندگان شامل قد و وزن در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه مازندران به ثبت رسید و در جلسه‌ای دیگر، کلیه افراد جهت آشنایی با آزمون نوارگردان در آزمایشگاه حضور یافتند. سپس به منظور دسته‌بندی افراد دونده در گروه‌های متجانس، از آن‌ها آزمون وامانده‌ساز بروس به عمل آمد و پس از ثبت رکوردها، دوندگان در سه گروه پنج‌نفره کنترل پایه، HIIT و HIIT+BFR تقسیم شدند.

فاقد PGC-1 α ، آنژیوژنز ناشی از تمرین ورزشی در عضله اسکلتی مشاهده نمی‌شود [۶]. در همین راستا پژوهش بیاتی و همکاران [۷] با بررسی تأثیر چهار هفته HIIT بر تغییرات پروتئین‌های PGC-1 α و VEGF در عضله اسکلتی آزمودنی‌های فعال مرد، افزایش بیان این پروتئین‌ها را تأیید می‌کند. در تضاد با این بررسی‌ها، نتایج پژوهش گلایم و همکاران [۸] کاهش پروتئین VEGF عضلانی با اجرای هشت هفته HIIT در افراد دونده تفریحی را آشکار ساخت. بنابراین پاسخ پروتئین VEGF به یک دوره تمرین HIIT کاملاً شفاف نیست.

یکی از راهکارهای بالقوه افزایش سازگاری با تمرینات HIIT، ادغام این تمرینات با تمرینات محدودکننده جریان خون^۵ (BFR) است. تمرینات BFR که با استفاده از کاف یا باند‌های کشی اجرا می‌شوند، از راه کاهش موضعی جریان خون در درازمدت می‌توانند به پاسخ‌های سازگاری منتهی شوند [۹]. در مطالعات اولیه انجام شده که در آن‌ها از اتاقک‌های فشار بالا در هنگام تمرین پدال زدن با یک پا استفاده شد [۱۰]، افزایش بیشتر حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo_2max) و فعالیت آنزیم سیت‌رات سنتاز در پای تمرین BFR در مقایسه با پای تمرین کرده در شرایط طبیعی مشاهده شد. علاوه بر این، نتایج مطالعاتی که در آن‌ها از کاف‌های تنظیم‌کننده فشار استفاده شد نشان می‌دهند تمرینات BFR در دامنه فشار ۱۶۰ تا ۲۱۰ میلی‌متر جیوه در حین اجرای تمرین رکاب زدن با شدت پایین (تقریباً معادل ۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) روی دوچرخه کارسنج می‌تواند حداکثر اکسیژن مصرفی و ظرفیت تمرین را در مقایسه با همین شدت از تمرین بدون BFR افزایش بدهد [۱۱، ۱۲]. یافته‌های مشابهی در مطالعه پی‌تون و همکاران [۱۳] گزارش شد که در نتیجه آن اجرای BFR در حین وهله‌های تکراری ۳۰ ثانیه‌ای HIIT با شدت ۸۰ درصد بیشینه سرعت دویدن، پیشرفت‌های بالاتری را در حداکثر اکسیژن مصرفی و ظرفیت تمرین ورزشی در مقایسه با تمرین ورزشی بدون BFR ایجاد می‌کند.

در ارتباط با مکانیزم‌های مؤثر تمرینات BFR، نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهند استفاده از این تمرینات می‌تواند چندین تحریک انقباضی اولیه مانند استرس برشی [۱۴]، هایپوکسی عضلانی [۱۵]، فشار متابولیکی [۱۶، ۱۷] و فشار اکسایشی [۱۸] که مجموعاً در تحریک بیوژنز میتوکندریایی و آنژیوژنز اهمیت دارند را درگیر نماید. در یک رویکرد جدید در پژوهش تیلور و همکاران [۱۹] که تأثیر تمرینات BFR در زمان‌های برگشت به حالت اولیه تمرینات تناوبی سرعتی^۶ (SIT) به صورت تک‌جلسه در دوچرخه‌سواران تمرین کرده روی دوچرخه کارسنج را مورد بررسی قرار داد، نتایج نشان داد اجرای SIT همراه با BFR یا به صورت منفرد، بیان متغیرهای PGC-1 α و VEGF در سطح

5. Blood Flow Restricted (BFR)

6. Sprint Interval Training (SIT)

گروه HIIT

گروه کنترل

گروه HIIT+BFR

طب توانبخشی

تصویر ۱. وضعیت بیان ایمونوهیستوشیمیایی PGC-1α در سلول‌های عضله پهن خارجی در گروه‌های مختلف رنگ‌های سفید نشان‌دهنده بیان PGC-1α در سلول‌های عضله پهن خارجی هستند.

به وسیله سرنگ حاوی ماده لیدوکائین تزریق و بی‌حس می‌شد. در گام بعدی با استفاده از یک عدد سوزن پایوپسی، برش‌های ۱/۶ میلی‌متری از عضله جدا می‌شد و سریعاً در داخل لوله‌های فالتون‌دار حاوی فرمالین تخلیه می‌شد. نمونه‌های بافتی تا زمان انتقال به آزمایشگاه بافت‌شناسی جهت انجام بررسی‌های ایمونوهیستوشیمیایی نزدیک به یک ماه در داخل همین لوله‌های حاوی فرمالین نگهداری شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی، بیان ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین‌های VEGF و PGC-1α به روش آن‌ویژن^۷ و با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی VEGF کد SC-7269 ساخت شرکت سانتاکروز کشور آمریکا و PGC-1α کد Ab-54481 ساخت شرکت ابکم کشور آمریکا بررسی شد. در بخش تحلیل آماری پس از تعیین عدم برابری واریانس‌ها و نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون‌های لوین و کولموگروف اسمیرنوف، از آزمون آنالیز کوواریانس یک‌طرفه برای بررسی تغییرات برون‌گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در **تصویر شماره ۱**، بیان ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین PGC-1α در سلول‌های عضله پهن خارجی در گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده می‌شود. همان‌طور که در تصاویر مشخص شده است، کمترین میزان

7. Envision

گروه HIIT

گروه کنترل

گروه HIIT+BFR

طب توانبخشی

تصویر ۲. وضعیت بیان ایمونوهیستوشیمیایی VEGF در سلول‌های عضله پهن خارجی در گروه‌های مختلف رنگ‌های سفید نشان‌دهنده بیان VEGF در سلول‌های عضله پهن خارجی هستند.

برخلاف گروه کنترل پایه که در هیچ تمرینی شرکت نمی‌کرد، گروه‌های تجربی می‌بایست الگوی تمرینی ۳۰-۲۰-۱۰ را به مدت هشت هفته و سه جلسه در هفته اجرا می‌کردند. شیوه اجرای تمرین ۳۰-۲۰-۱۰ به این صورت بود که در هر جلسه دوندگان شش کوشش پنج‌دقیقه‌ای را همراه با برگشت به حالت اولیه چهاردقیقه‌ای میان کوشش‌ها اجرا می‌کردند. هر کوشش پنج‌دقیقه‌ای خود پنج تناوب یک‌دقیقه‌ای پی در پی را دربر می‌گرفت که در هر یک از تناوب‌ها به ترتیب ۱۰ ثانیه با ۹۰ درصد، ۲۰ ثانیه با ۶۰ درصد و ۳۰ ثانیه با ۳۰ درصد سرعت پیشینه هر فرد اجرا می‌شد. تفاوت میان گروه‌های تجربی در این بود که گروه HIIT+BFR می‌بایست پس از خاتمه هر کوشش تمرینی، بلافاصله در وضعیت طاق‌باز قرار می‌گرفت و با نصب کاف با قابلیت تنظیم فشار (Hokanson SC12L) روی بالاترین قسمت ران هر دو پا، به مدت دو دقیقه محدودیت خون را با فشار ۱۳۰ میلی‌متر جیوه اجرا می‌کرد و در ادامه بلافاصله با برداشتن کاف از روی موضع مورد نظر به مدت دو دقیقه استراحت می‌کرد و سپس برای کوشش بعدی آماده می‌شد.

۷۲ ساعت قبل از شروع تمرینات و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، کلیه دوندگان گروه‌های تجربی در آزمایشگاه طبی حضور یافتند و از آن‌ها نمونه‌برداری سوزنی به عمل آمد. جهت اجرای نمونه‌برداری سوزنی، در ابتدا هر آزمودنی روی تخت به حالت طاق‌باز می‌خوابید. سپس در ادامه، موضع مورد نظر که قسمت یک‌سوم تحتانی قدامی خارجی عضله پهن خارجی بود،

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار PGC-1α، VEGF و زمان رسیدن به واماندگی و درصد تغییرات هریک در گروه‌های پژوهش (تعداد در هر گروه= ۵ نفر)

متغیر	گروه	میانگین $\pm$ انحراف معیار	درصد تغییرات نسبت به HIIT+BFR	درصد تغییرات نسبت به HIIT	درصد تغییرات نسبت به کنترل
PGC-1α	HIIT+BFR	۵۱/۳۳ $\pm$ ۱/۶۷	-	۱۰/۷۷	۶۰/۸۵
	HIIT	۴۵/۸۱ $\pm$ ۱/۴۶	-۱۲/۰۷	-	۵۴/۷۹
	کنترل	۲۰/۷۱ $\pm$ ۱/۶۵	-۱۴۷/۹	-۱۲۱/۲	-
VEGF	HIIT+BFR	۵۳/۶۶ $\pm$ ۱/۹۵	-	۱۲/۷۷	۵۷/۵۲
	HIIT	۳۷/۰۷ $\pm$ ۱/۸۴	-۱۴/۶۴	-	۵۱/۳۱
	کنترل	۲۲/۹۲ $\pm$ ۱/۸۷	-۱۳۵/۴۳	-۱۰۵/۳۷	-
زمان رسیدن به واماندگی بر حسب ثانیه	HIIT+BFR	۹۵/۱۹۹ $\pm$ ۲/۵۸	-	۳/۰۱	۴/۷۳
	HIIT	۹۲۲/۳۷ $\pm$ ۲/۵۶	-۳/۱	-	۱/۷۸
	کنترل	۹۰۶/۹۳ $\pm$ ۲/۵۷	-۴/۹۷	-۱/۸۱	-

طب توانبخشی

نتایج این تحقیق نشان داد اجرای هشت هفته تمرین HIIT در مقایسه با مقادیر گروه کنترل به طور معنی‌داری بیان PGC-1α را افزایش می‌دهد ($P < ۰/۰۵$).

HIIT به صورت حاد غلظت گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر^۸ (ROS)، Ca^{2+} ، ADP، AMP، و لاکتات را در عضله اسکلتی افزایش می‌دهد. افزایش این ترکیبات، فعالیت کینازهایی مانند پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین^۹ (CaMKII)، پروتئین کیناز فعال‌شده با ای‌ام‌پی^{۱۰} (AMPK) و پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوز^{۱۱} (P38 MAPK) را افزایش می‌دهد که همگی در فعال‌سازی PGC-1α دخالت دارند [۲۱]. تکرار این تحریکات با انجام تمرین، در درازمدت می‌تواند به تغییرات ساختاری و محتوایی میتوکندریایی منجر شود [۲۲]. نتایج مطالعاتی که تأثیر یک دوره تمرین HIIT بر بیان پروتئین PGC-1α در نمونه‌های انسانی را مورد بررسی قرار داده‌اند، همسو با نتایج تحقیق فعلی است [۴، ۳]. در تحقیق پری و همکاران [۲] تأثیر هفت جلسه HIIT (در هر جلسه ۱۰ کوشش چهار دقیقه‌ای همراه با استراحت‌های دودقیقه‌ای میان کوشش‌ها) با چرخ کارسنج در ۹ آزمودنی مرد سالم (۲۳ $\pm$ ۰/۷ سال) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری سوزنی قبل، بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از جلسات اول، سوم، پنجم و هفتم به عمل آمد. بیان پروتئین PGC-1α در طی ۲۴ ساعت بعد از اولین جلسه به میزان ۲۳ درصد افزایش یافت و از جلسه سوم تا هفتم با افزایش ۳۰ تا ۴۰ درصدی به صورت یکنواخت تداوم پیدا کرد. در پژوهش لیتل و همکاران [۴] تأثیر شش جلسه تمرین HIIT روی دوچرخه کارسنج به مدت

بیان این پروتئین در گروه کنترل و بیشترین میزان بیان آن در گروه HIIT+BFR بود. در تصویر شماره ۲، بیان ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین VEGF سلول‌های عضله پهن خارجی در گروه‌های پژوهش مشاهده می‌شود. همان‌طور که از تصاویر پیداست، کمترین میزان بیان این پروتئین در گروه کنترل و بیشترین سطح بیان در گروه HIIT+BFR مشاهده شده است.

در جدول شماره ۱ مقادیر میانگین، انحراف معیار و درصد تغییرات بیان پروتئین VEGF، PGC-1α و رکوردهای زمان رسیدن به واماندگی در گروه‌های پژوهش مشخص شده است. همان‌گونه که اطلاعات جدول نشان می‌دهد، میزان بیان PGC-1α در گروه‌های HIIT و HIIT+BFR در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب به میزان ۵۴/۷۹ و ۶۰/۸۵ درصد بالاتر است ($P = ۰/۰۰۱$). علاوه بر این، گروه HIIT+BFR نسبت به HIIT به میزان ۱۰/۷۷ درصد بیان بیشتر این پروتئین را نشان می‌دهد ($P = ۰/۰۳۴$). همچنین اطلاعات جدول نشان می‌دهد میزان بیان VEGF در گروه‌های HIIT و HIIT+BFR به ترتیب به میزان ۵۱/۳۱ و ۵۷/۵۲ درصد نسبت به گروه کنترل بالاتر است ($P = ۰/۰۰۱$). همچنین گروه HIIT+BFR نسبت به HIIT به میزان ۱۲/۷۷ درصد بیان بیشتر این پروتئین را نشان می‌دهد ($P = ۰/۰۳$). به غیر از مقادیر مربوط به پروتئین‌ها، نتایج مربوط به رکوردهای زمان رسیدن به واماندگی با اجرای آزمون بروس بر حسب ثانیه برای گروه‌های تجربی و کنترل نیز در جدول شماره ۱ گزارش شده است.

بحث

هدف از انجام پژوهش حاضر، مقایسه تأثیر دو روش تمرین HIIT همراه با BFR و HIIT صرف بر پروتئین‌های PGC-1α و VEGF در عضله پهن خارجی دوندگان نیمه‌استقامتی مرد بود.

8. Reactive Oxygen Species (ROS)

9. Ca^{2+} /calmodulin dependent protein kinase II (CaMKII)

10. AMP- activated protein kinase (AMPK)

11. P38 Mitogen Activated Protein Kinase (P38 MAPK)

دو هفته در هفت آزمودنی مرد غیرفعال (سن 21 ± 1 سال) مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه مقادیر $PGC-1\alpha$ به میزان ۲۵ درصد پس از اجرای تمرینات افزایش یافت.

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد اجرای هشت هفته تمرین HIIT در مقایسه با مقادیر گروه کنترل، بیان پروتئین VEGF را افزایش می‌دهد ($P < 0.05$). بررسی‌های تحقیقی چین‌سومبون و همکاران [۵] و آرانی و همکاران [۲۳] نشان می‌دهند $PGC-1\alpha$ از راه فعال‌سازی مسیر $ERR\alpha$ در تحریک آنژیوژنز ناشی از تمرین ورزشی با افزایش بیان VEGF نقش مهمی ایفا می‌کند. اگرچه فعالیت سایر مسیرهای پیام‌رسانی بالادستی بیان VEGF مانند عامل القایی هایپوکسی^{۱۲} (HIF) و AMPK نیز ممکن است در این فرایند دخالت داشته باشند، با این وجود نتایج یک بررسی نشان می‌دهد در مایس‌های فاقد $PGC-1\alpha$ بیان پروتئین VEGF عضلاتی به میزان ۶۰ تا ۸۰ درصد کاهش یافت [۶]. در پژوهش بیاتی و همکاران [۷] نیز اجرای چهار هفته HIIT، بیان پروتئین‌های $PGC-1\alpha$ و VEGF در عضله پهن خارجی دانشجویان مرد فعال را افزایش داد ($P < 0.01$). نتایج تحقیقات مشابه دیگر مبنی بر افزایش پروتئین VEGF در پاسخ به یک دوره SIT [۲۴، ۲۵] نیز با یافته‌های تحقیق حاضر همسو هستند. برخلاف نتایج این تحقیق، نتایج مطالعه گلايمن و همکاران [۸] هیچ افزایشی در مویرگ‌زایی افراد فعال تفریحی با اجرای هشت هفته HIIT به صورت دو جلسه در هفته همراه با اجرای یک جلسه دوی تداومی مجزا را آشکار نداشت و با کاهش بیان پروتئین VEGF نیز همراه بود. به نظر می‌رسد علت عدم هم‌خوانی نتایج میان تحقیق ذکرشده و تحقیق فعلی با حجم تمرینات به کارگرفته‌شده ارتباط دارد. در تحقیق فعلی در هر جلسه شش کوشش تمرین ۳۰-۲۰-۱۰ اجرا می‌شد، در صورتی که در تحقیق مورد بحث چهار وهله تمرین در هر جلسه تمرین ۳۰-۲۰-۱۰ برگزار می‌شد. نتایج یک بررسی نشان داد حجم تمرین نسبت به شدت در تحریک آنژیوژنز از نقش مهم‌تری برخوردار است، زیرا با کاهش حجم تمرین میزان استرس برشی عروق کاهش می‌یابد. استرس برشی محصول شدت و مدت تمرین است. اگرچه سطوح بالای استرس برشی در هنگام اجرای تناوب‌های شدید HIIT ایجاد می‌شود، اما تداوم مدت این تحریکات مهم‌تر به نظر می‌رسد که با حجم بالاتر تمرین به دست می‌آید [۲۶].

نتایج تحقیق فعلی نشان داد اجرای هشت هفته تمرین HIIT در ترکیب با BFR، بیان پروتئین‌های $PGC-1\alpha$ و VEGF را در مقایسه با مقادیر گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ($P < 0.05$). استفاده از تمرینات BFR در حین اجرای تمرین ورزشی و شرایط استراحت، چندین مسیر پیام‌رسانی مانند افزایش فشار برشی، کاهش اکسیژن‌رسانی عضله و افزایش نشانگرهای استرس اکسایشی که در تحریک فرایندهای آنژیوژنیک و بیوژنز میتوکندریایی دخالت دارند را فعال می‌کند [۲۷، ۱۸، ۱۵]. علاوه بر این، نتایج تحقیق حاضر نشان داد تمرین HIIT همراه BFR نسبت به تمرین HIIT

منفرد، بیان پروتئین‌های $PGC-1\alpha$ و VEGF را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ($P < 0.05$). نتایج این قسمت با یافته‌های مطالعاتی که در آن‌ها پاسخ‌های حاد تمرینات HIIT و SIT همراه با BFR پس از تمرین روی متغیرهای $PGC-1\alpha$ در سطح mRNA مورد بررسی قرار گرفت، همسوست [۱۹، ۱۸]. نتایج کریستیانسن و همکاران [۱۸] نشان داد ترکیب BFR با تمرین دویدن تناوبی نوارگردان با شدت ۱۰۵ درصد آستانه لاکتات، بیان $PGC-1\alpha$ mRNA را افزایش می‌دهد. همچنین نتایج تیلور و همکاران [۱۹] نشان داد اجرای SIT همراه با BFR یا به صورت منفرد، بیان متغیرهای $PGC-1\alpha$ و VEGF در سطح mRNA را بلافاصله و سه ساعت پس از تمرین افزایش می‌دهد ($P < 0.05$). با این وجود، این یافته‌ها با نتایج پژوهش میشل و همکاران [۲۰] که در آن چهار هفته تمرین SIT همراه با BFR پس از تمرین، به صورت اجرای تناوب‌های ۳۰ ثانیه‌ای روی دوچرخه کارسنج، دو جلسه در هفته انجام شد، هم‌خوانی ندارد. نتایج تحقیق اخیر، هیچ افزایشی در مارکرهای مویرگ‌زایی و محتوای پروتئین‌های میتوکندریایی عضله پهن خارجی دوچرخه‌سواران تمرین کرده نشان نداد. در تحقیق حاضر تعداد کل جلسات در طی دوره، ۲۴ جلسه بود و افراد دوندۀ در سطح آماتوری فعالیت داشتند، در صورتی که کل جلسات تحقیق مورد بحث هشت جلسه بود و افراد آزمودنی دوچرخه‌سواران تمرین کرده‌ای بودند که از آمادگی بدنی بسیار بالایی برخوردار بودند. بنابراین به نظر می‌رسد در تحقیق میشل و همکاران [۲۰]، عدم تأثیرگذاری تمرین بر شاخص‌های مورد نظر با وضعیت کاملاً تمرین کرده افراد آزمودنی و حجم کم تمرینات در ارتباط است. همچنین در مطالعه تیلور و همکاران [۱۹]، هیچ اختلافی در مقادیر $PGC-1\alpha$ و VEGF در سطح mRNA در شرایط استراحتی و سه ساعت پس از اجرای تمرینات SIT منفرد و همراه با BFR مشاهده نشد ($P < 0.05$) که نشان می‌دهد BFR پس از تمرین نتوانست افزایش رونویسی از این ژن‌ها را به میزان لازم تحریک کند. بنابراین به نظر می‌رسد زمانی که ترکیب BFR با پروتکل‌های تمرینی شدت استاندارد صورت می‌گیرد، تحریکات بالقوه BFR در افزایش بعدی پاسخ رونویسی کاهش می‌یابد.

همان‌گونه که در جدول شماره ۱ نشان داده شد، نتایج آزمون نوارگردان در گروه‌های HIIT همراه با BFR و HIIT منفرد نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر حداکثر اکسیژن مصرفی افراد آزمودنی مورد بررسی قرار نگرفت، به نظر می‌رسد بهبود رکوردهای زمان رسیدن به واماندگی در هر دو گروه احتمالاً با عوامل مرتبط با ظرفیت بی‌هوازی مانند افزایش ظرفیت تامپونی عضله اسکلتی [۲۸] و افزایش پروتئین ناقل مونوکربوکسیلاز [۲۹] در ارتباط است. این سازگاری‌ها میزان خستگی ناشی از تولیدات متابولیکی را کاهش می‌دهند و بنابراین در جایی که هموستاز متابولیکی کاهش می‌یابد، از راه افزایش توان [۲۰] می‌توانند زمان رسیدن به واماندگی را به تأخیر بیندازند.

نتیجه گیری

یافته های تحقیق فعلی نشان می دهند انجام یک دوره هشت هفته ای تمرینات HIIT همراه با BFR و به صورت منفرد، می تواند بیان پروتئین های PGC-1 α و VEGF عضله پهن خارجی دوندگان نیمه استقامتی مرد آماتور را افزایش دهد. با توجه به اینکه فعال سازی VEGF از مسیر PGC-1 α بخشی از فرایندهای سلولی مولکولی وابسته به تمرینات تناوبی شدید است، به نظر می رسد تلفیق تمرینات تناوبی شدید و BFR می تواند به طور مؤثری فرایند رگ زایی که در عملکرد هوازی مؤثر است را در عضله پهن خارجی دوندگان آماتور تحت تأثیر قرار دهد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در اجرای پژوهش، ملاحظات اخلاقی مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه مازندران در نظر گرفته شده و کد اخلاق به شماره IR.UMZ.REC.1397.048 دریافت شده است. اصول اخلاقی تماماً در این مقاله رعایت شده است. شرکت کنندگان اجازه داشتند هر زمان که مایل بودند از پژوهش خارج شوند. همچنین همه شرکت کنندگان در جریان روند پژوهش بودند. اطلاعات آنها محرمانه نگه داشته شد.

حامی مالی

این تحقیق هیچ گونه کمک مالی از سازمان های تأمین مالی در بخش های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی، روش شناسی، تحلیل تحقیق و بررسی، منابع، نگارش پیش نویس، بصری سازی، مدیریت پروژه و تأمین مالی: سید یاسر علوی؛ اعتبار سنجی، ویراستاری و نهایی سازی نوشته و نظارت: هر دو نویسنده.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه مازندران برای تأمین تجهیزات مورد نیاز این تحقیق تشکر و قدردانی می شود.

References

- [1] Macinnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*. 2017; 595(9):2915-30. [DOI:10.1113/JP273196] [PMID] [PMCID]
- [2] Gibala J, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low- volume, high intensity interval training in health and disease. *The Journal of Physiology*. 2012; 590(5):1077-84. [DOI:10.1113/jphysiol.2011.224725] [PMID] [PMCID]
- [3] Perry CG, Lally J, Holloway GP, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL. Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. 2010; 588(23):4795-810. [DOI:10.1113/jphysiol.2010.199448] [PMID] [PMCID]
- [4] Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low volume high intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle; potential mechanisms. *The Journal of Physiology*. 2010; 588(6):1011-22. [DOI:10.1113/jphysiol.2009.181743] [PMID] [PMCID]
- [5] Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, et al. The transcriptional coactivator PGC-1 α mediates exercise induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(50):21401-6. [DOI:10.1073/pnas.0909131106] [PMID] [PMCID]
- [6] Leick L, Hellsten Y, Fentz J, Lyngby SS, Wojtaszewski JFP, Hidalgo J, et al. PGC-1 α mediates exercise induced skeletal muscle VEGF expression in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009; 297(1):92-103. [DOI:10.1152/ajpendo.00076.2009] [PMID]
- [7] Bayati M, Gharakhanlou R, Nikkha M, Amani Shalamzari S. The Effect of Four Weeks of High-intensity Interval Training on PGC-1 α and VEGF Protein Contents in Skeletal Muscle of Active Men. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2018; 21(3):24-32. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5641-en.html>
- [8] Gliemann L, Gunnarsson TP, Hellsten Y, Bangsbo J. 10-20-30 training increases performance and lowers blood pressure and VEGF in runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2015; 25(5):e479-89. [DOI:10.1111/sms.12356] [PMID]
- [9] Spranger MD, Krishnan AC, Levy PD, O'Leary DS, Smith SA. Blood flow restriction training and the exercise pressor reflex: A call for concern. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2015; 309(9):H1440-52. [DOI:10.1152/ajpheart.00208.2015] [PMID] [PMCID]
- [10] Kaijser LE, Sundberg CJ, Eiken O, Nygren AN, Esbjornsson M, Sylven C, et al. Muscle oxidative capacity and work performance after training under local leg ischemia. *Journal of Applied Physiology*. 1990; 69(2):785-7. [DOI:10.1152/jap-1990.69.2.785] [PMID]
- [11] Abe T, Fujita S, Nakajima T, Sakamaki M, Ozaki H, Ogasawara R, et al. Effects of low-intensity cycle training with restricted leg blood flow on thigh muscle volume and $\text{VO}_{2\text{max}}$ in young men. *Journal of Sports Science & Medicine*. 2010; 9(3):452-8. [PMCID] [PMID]
- [12] Park S, Kim JK, Choi HM, Kim HG, Beekley MD, Nho H. Increase in maximal oxygen uptake following 2-week walk training with blood flow occlusion in athletes. *European Journal of Applied Physiology*. 2010; 109(4):591-600. [DOI:10.1007/s00421-010-1377-y] [PMID]
- [13] Paton CD, Addis SM, Taylor LA. The effects of muscle blood flow restriction during running training on measures of aerobic capacity and run time to exhaustion. *European Journal of Applied Physiology*. 2017; 117(12):2579-85. [DOI:10.1007/s00421-017-3745-3] [PMID]
- [14] Paiva FM, Vianna LC, Fernandes IA, Nóbrega AC, Lima RM. Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: A time course analysis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2016; 49. [DOI:10.1590/1414-431X20155100]
- [15] Karabulut M, McCarron J, Abe T, Sato Y, Bembem M. The effects of different initial restrictive pressures used to reduce blood flow and thigh composition on tissue oxygenation of the quadriceps. *Journal of Sports Sciences*. 2011; 29(9):951-8. [DOI:10.1080/02640414.2011.572992] [PMID]
- [16] Suga T, Okita K, Takada S, Omokawa M, Kadoguchi T, Yokota T, et al. Effect of multiple set on intramuscular metabolic stress during low-intensity resistance exercise with blood flow restriction. *European Journal of Applied Physiology*. 2012; 112(11):3915-20. [DOI:10.1007/s00421-012-2377-x] [PMID] [PMCID]
- [17] Takarada Y, Sato Y, Ishii N. Effects of resistance exercise combined with vascular occlusion on muscle function in athletes. *European Journal of Applied Physiology*. 2002; 86(4):308-14. [DOI:10.1007/s00421-001-0561-5] [PMID]
- [18] Christiansen D, Murphy RM, Bangsbo J, Stathis CG, Bishop DJ. Increased *FXR1* and *PGC-1 α* mRNA after blood flow-restricted running is related to fibre type-specific AMPK signalling and oxidative stress in human muscle. *Acta Physiologica*. 2018; 223(2):e13045. [DOI:10.1111/apha.13045] [PMID] [PMCID]
- [19] Taylor CW, Ingham SA, Ferguson RA. Acute and chronic effect of sprint interval training combined with postexercise blood-flow restriction in trained individuals. *Experimental Physiology*. 2016; 101(1):143-54. [DOI:10.1113/EP085293] [PMID]
- [20] Mitchell EA, Martin NR, Turner MC, Taylor CW, Ferguson RA. The combined effect of sprint interval training and postexercise blood flow restriction on critical power, capillary growth, and mitochondrial proteins in trained cyclists. *Journal of Applied Physiology*. 2019; 126(1):51-9. [DOI:10.1152/jap-physiol.01082.2017] [PMID]
- [21] Hoshino D, Kitaoka Y, Hatta H. High-intensity interval training enhances oxidative capacity and substrate availability in skeletal muscle. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. 2016; 5(1):13-23. [DOI:10.7600/jpfsm.5.13]
- [22] Hood DA. Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2001; 90(3):1137-57. [DOI:10.1152/jappl.2001.90.3.1137] [PMID]
- [23] Arany Z, Foo SY, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Giron G, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α . *Nature*. 2008; 451(7181):1008-12. [DOI:10.1038/nature06613] [PMID]

- [24] Hoier B, Passos M, Bangsbo J, Hellsten Y. Intense intermittent exercise provides weak stimulus for vascular endothelial growth factor secretion and capillary growth in skeletal muscle. *Experimental Physiology*. 2013; 98(2):585-97. [DOI:10.1113/expphysiol.2012.067967] [PMID]
- [25] Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, et al. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. *The Journal of Physiology*. 2013; 591(3):641-56. [DOI:10.1113/jphysiol.2012.239566] [PMID] [PMCID]
- [26] Gliemann, L. Training for skeletal muscle capillarization: a Janus-faced role of exercise intensity? *European Journal of Applied Physiology*. 2016; 116:1443-4. [DOI:10.1007/s00421-016-3419-6] [PMID]
- [27] Gundermann DM, Fry CS, Dickinson JM, Walker DK, Timmerman KL, Drummond MJ, Volpi E, Rasmussen BB. Reactive hyperemia is not responsible for stimulating muscle protein synthesis following blood flow restriction exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2012; 112(9):1520-8. [DOI:10.1152/japplphysiol.01267.2011] [PMID] [PMCID]
- [28] Weston AR, Myburgh KH, Lindsay FH, Dennis SC, Noakes TD, Hawley JA. Skeletal muscle buffering capacity and endurance performance after high-intensity interval training by well-trained cyclists. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1996; 75(1):7-13. [DOI:10.1007/s004210050119] [PMID]
- [29] Bickham DC, Bentley DJ, Le Rossignol PF, Cameron-Smith D. The effects of short-term sprint training on MCT expression in moderately endurance-trained runners. *European Journal of Applied Physiology*. 2006; 96(6):636-43. [DOI:10.1007/s00421-005-0100-x] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank