

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
REABILITAÇÃO FUNCIONAL**

Edson Missau

**HIPOTERMIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS SESSÃO DE
EXERCÍCIOS RESISTIDOS EM ADULTOS DESTREINADOS**

Santa Maria, RS
2017

Edson Missau

**HIPOTERMIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS SESSÃO DE EXERCÍCIOS
RESISTIDOS EM ADULTOS DESTREINADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Funcional, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Reabilitação Funcional**.

Orientador: Prof. Dr. Luis Ulisses Signori

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica

Edson Missau

**HIPOTERMIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS SESSÃO DE EXERCÍCIOS
RESISTIDOS EM ADULTOS DESTREINADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Funcional, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Reabilitação Funcional**.

Aprovada em 07 de julho de 2017.

Luis Ulisses Signori, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Giovani Sturmer, Dr. (UNICRUZ)

Antonio Marcos Vargas da Silva, Dr. (UFSM)

José Edson Paz da Silva, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2017

Dedico este trabalho à minha mãe **Delmira C. Missau** (*in memoriam*) e ao meu pai **Orlando S. Missau** (*in memoriam*), maior exemplo de perseverança e que apesar das dificuldades souberam transmitir toda sua sabedoria e apoio constante.

AGRADECIMENTOS

Se você está lendo esta página é porque eu consegui. E não foi fácil chegar até aqui. Do processo seletivo, passando pela aprovação até a conclusão do Mestrado, foi um longo caminho percorrido. Nada foi fácil, nem tampouco tranquilo. “A sola do pé conhece toda a sujeira da estrada” (provérbio africano).

Quero agradecer a todos aqueles que sempre confiaram em mim, desde sempre.

À minha família e aos meus verdadeiros amigos, sempre.

Aos meus pais (*in memoriam*), por me terem dado educação, valores e por me terem ensinado a andar. A vocês que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento. Que falta vocês me fazem!

Desde o início do mestrado, tive o privilégio de contar com a confiança e o apoio de inúmeras pessoas e instituições. Sem aqueles contributos, esta investigação não teria sido possível.

À minha amada esposa, Mirian, e aos meus filhos amados, Edson Missau Junior, Caroline Missau e Juliano Missau, sendo esse, meu colega de mestrado, na mesma Instituição, mas no Programa da Engenharia Química. Pai e filho. Começamos e terminamos juntos. Imensa emoção e alegria.

Aos meus irmãos Elcion, Helvio e Mariele por tudo que representam para mim.

Não posso deixar de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Luis Ulisses Signori, por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho e em todos aqueles que realizei durante o mestrado. Muito obrigado por me ter corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar.

Desejo igualmente agradecer a todos os meus colegas do Mestrado em Reabilitação Funcional, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todos os momentos.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Funcional e também do Departamento de Fisioterapia e Reabilitação pela solicitude e solidariedade perante minhas dificuldades.

Aos professores Antonio Marcos Vargas da Silva (Coordenador do PPG/UFSM), Giovani Sturmer (UNICRUZ) e Prof. Jose Edson Paz da Silva (Diretor do Centro de Ciências da Saúde/UFSM) que aceitaram compor minha banca de qualificação e de defesa, pelas sugestões e análises significativas as quais tentarei atender na versão definitiva do texto. Ao Prof. Rafael Moresco sempre disposto a me ajudar.

Meu agradecimento também a Universidade Federal de Santa Maria e a Fundação Universidade de Rio Grande.

Com vocês, queridos, divido a alegria desta experiência.

RESUMO

HIPOTERMIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS SESSÃO DE EXERCÍCIOS RESISTIDOS EM ADULTOS DESTREINADOS

AUTOR: Edson Missau

ORIENTADOR: Luis Ulisses Signori

Os exercícios resistidos são especialmente utilizados para o aumento da hipertrofia e força muscular em indivíduos saudáveis ou em reabilitação. Entretanto, esses exercícios realizados em alta intensidade podem promover o estresse oxidativo, o que desencadeia um processo inflamatório resultando na dor muscular de início tardio (DMIT). A DMIT promove a diminuição da funcionalidade e ao conseqüente abandono a prática regular dos exercícios, especialmente em indivíduos destreinados. Diferentes técnicas não farmacológicas são utilizadas para reduzir a DMIT e atenuar as suas conseqüências, dentre estas se destacam a suplementação com antioxidantes (vitaminas C e E) e os banhos de imersão em água fria. A presente pesquisa objetiva verificar as alterações agudas na dinâmica hematológica, nos marcadores inflamatórios e no estresse oxidativo de voluntários saudáveis destreinados submetidos à hipotermia por imersão em água fria após sessão de exercícios resistidos. Métodos: Treze voluntários (26 ± 5 anos de idade) não praticantes de ER foram randomizados e submetidos a sessões de ER Controle e ER com IAF. As sessões de exercícios (cadeira extensora, agachamento e *leg press*) consistiram de quatro séries de 10 repetições máximas (intervalo de uma semana entre a avaliação e as sessões). A IAF consistiu de imersão em água (15°C), ao nível da cicatriz umbilical, por 10 minutos imediatamente após a sessão de exercícios. Hemograma completo, PCR ultrasensível, creatina quinase (CK) e lipoperoxidação (LPO) foram avaliados previamente (basal), imediatamente, 30 minutos e 120 minutos após os ER. A DMIT foi avaliada 24 horas após as sessões. Resultados: Os ER induziram a uma progressiva leucocitose ($P < 0,001$). A PCR se elevou 120 minutos após os exercícios ($P = 0,008$) apenas na sessão de ER Controle. A CK aumentou após os 30 minutos e 120 minutos após os exercícios ($P < 0,001$) na sessão Controle, enquanto na sessão IAF o aumento foi observado após 120 minutos ($P < 0,001$). A LPO aumentou somente na sessão Controle em 120 minutos ($P = 0,025$). A IAF reduziu em 57% a DMIT ($P < 0,001$). Conclusão: A IAF retarda a resposta inflamatória e reduz a DMIT em indivíduos destreinados submetidos à ER.

Palavras-chave: Tolerância aos Exercícios. Dor. Inflamação. Estresse Oxidativo. Crioterapia.

ABSTRACT

HYPOTHERMIA IN THE INFLAMMATORY RESPONSE AFTER SESSION OF RESISTANT EXERCISES IN TEACHING ADULTS

AUTHOR: Edson Missau
ADVISOR: Luis Ulisses Signori

Resisted exercises are especially used to increase hypertrophy and muscle strength in healthy individuals or rehabilitation. In all cases, exercises performed at high intensity may promote oxidative stress, which triggers an inflammatory process resulting in delayed onset muscle soreness (DOMS). DOMS decreased functionality and the consequent abandonment of regular exercise practice, especially in untrained individuals. Different non-pharmacological techniques are used to reduce DOMS and to attenuate its consequences, among which are the antioxidant supplementation (vitamins C and E) and cold water immersion baths. This present research aims to verify the interventions in hematological dynamics, inflammatory markers and oxidative stress of healthy untrained volunteers submitted to hypothermia by immersion in cold water after a session of resistance exercises. **Methods:** Thirteen volunteers (26 ± 5 years old) non-RE practitioners were randomized and submitted to sessions ER Control and ER with CWI. Exercises sessions (extensor chair, squat and leg press) consisted of four sets of 10 maximum repetitions (one week interval between the evaluation and the sessions). CWI consisted of immersion in water (15°C) at the umbilical scar level for 10 minutes immediately after the exercise session. Complete blood count, high-sensitivity CRP, creatine kinase (CK) and lipoperoxidation (LPO) were previously assessed (baseline), immediately, 30 minutes and 120 minutes after RE. DOMS was evaluated 24 hours after the sessions. **Results:** RE induced a progressive leukocytosis ($P < 0.001$). CRP was elevated 120 minutes after the exercises ($P = 0.008$) only in the RE Control session. CK increased after 30 minutes and 120 minutes after exercise ($P < 0.001$) in the Control session, whereas in the CWI session the increase was observed after 120 minutes ($P < 0.001$). LPO increased only in the Control session in 120 minutes ($P = 0.025$). CWI reduced the DOMS by 57% ($P < 0,001$). **Conclusion:** CWI slows the inflammatory response and reduces DONS in untreated individuals submitted RE.

Keywords: Tolerance to the Exercises. Ache. Inflammation. Oxidative stress. Cryotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fluxograma do estudo. IAF: Imersão na Água Fria.....	46
Figura 2 -	2A. Alterações no lactato após sessões de exercícios resistidos. 2B. Alterações na lipoperoxidação após sessões de exercícios resistidos. 2C. Dor Muscular de Início Tardio (DMIT) avaliada 24 horas após sessões de exercícios resistidos. IAF: Imersão na Água Fria. *p<0,05 vs basal ou Sessão Controle; \$p<0,05 vs 30min.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Características clínicas e metabólicas dos voluntários nas diferentes sessões de exercícios resistidos.....	42
Tabela 2 -	Modificações nos eritrogramas e eletrólitos resultantes das diferentes sessões de exercícios resistidos.....	43
Tabela 3 -	Modificações nos leucogramas após sessões de exercícios resistidos.....	44
Tabela 4 -	Modificações nos marcadores inflamatórios e parâmetros de estresse oxidativo após sessões de exercícios resistidos.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CK	Creatina quinase
CWI	Cold Water Immersion
IAF	Imersão em água fria
DIMT	Dor muscular de início tardio
ER	Exercício Resistidos
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERON	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
GPx	Enzima glutathiona peroxidase
GSH	Enzima glutathiona
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HDL	Lipoproteína de alta intensidade
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa intensidade
LPO	Lipoperoxidação
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
O ₂	Oxigênio
⁻ OH	Radical hidroxil
ONOO ⁻	Peróxido nitrito
RO ₂	Radical peroxil
SOD	Enzima superóxido dismutase
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3	OBJETIVOS.....	19
3.1	OBJETIVO GERAL.....	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4	ARTIGO.....	20
	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXO A – Normas da Revista Brasileira de Medicina do Esporte.....	54

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos houve uma evolução nos conhecimentos sobre a ciência do exercício físico, e também sobre a importância da atividade física a respeito da prevenção, promoção de saúde, da terapêutica e da reabilitação. Cada vez mais existe a necessidade de uma maior integração das diferentes áreas da saúde, para que os exercícios físicos e/ou a atividade física seja desenvolvida da forma segura e eficiente, em cada situação. A evolução do conhecimento a respeito dos mecanismos envolvidos na realização de exercícios físicos e/ou atividades físicas são de extrema importância. Dentre os diversos tipos de exercícios, atualmente os exercícios resistidos (ER) vem cada vez mais ganhando importância pelo o número de praticantes, seus benefícios e pela facilidade de realizá-los.

Esse tipo de exercício é mais eficiente no ganho de hipertrofia e de força muscular, os quais são advindos de estímulos fisiológicos à sinalização celular que resultam no remodelamento muscular em adaptação ao treinamento. Entretanto, quando esses são realizados de forma intensa, provocam danos musculares que resultam numa resposta inflamatória excessiva, clinicamente conhecida como dor muscular de início tardio (DMIT). Esses sintomas, normalmente iniciam 24 horas após a prática dos exercícios e podem durar por uma semana e, em indivíduos destreinados ou sedentários, podem resultar no abandono a prática dessas atividades físicas.

A inflamação ocasionada pelos ER pode surgir em decorrência do estresse mecânico (que provoca lesões em tecidos contráteis e conjuntivos) ou do estresse metabólico (ativação hormonal e seus resultantes) causando lesões celulares. Durante a execução dos ER, ocorre a vasodilatação com o objetivo de aumentar o fluxo sanguíneo e assim melhorar o aporte de oxigênio (O_2) e de nutrientes para os músculos que estão sendo solicitados. Esse aumento da demanda metabólica leva alterações no equilíbrio redox, gerando as espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais podem provocar lesões nos constituintes celulares, em especial o dano lipídico nas membranas dos miócitos, o que provoca o extravasamento do citoplasma para o meio extracelular, aumentando sinalização celular e a consequente resposta inflamatória e a DMIT.

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são os produtos intermediários do metabolismo celular oxidativo, uma vez que os derivativos destas reações são usualmente chamados de forma inadequada de radicais livres, pois existem espécies reativas danosas que não são radicais livres, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Entretanto, essas ERO fazem parte do metabolismo celular normal, mas que em excesso podem provocar danos aos constituintes celulares e nos

ER levar ao abandono da prática dessas atividades físicas em especial aos seus iniciantes, pois seus mecanismos adaptativos, em especial seus antioxidantes endógenos (enzimas) não estão preparados para o aumento da demanda metabólica durante os exercícios. Nesta condição, é importante controlar o processo inflamatório, através do uso de mecanismos antioxidantes para diminuir o desconforto pós-exercício, e evitar o abandono às práticas de atividades físicas, os quais vêm ganhando cada vez mais interesse na literatura.

Baseado nestes propósitos, vários métodos ergogênicos que melhoram a capacidade antioxidante e/ou que reduzem o dano tecidual, tem sido utilizado para moderar os efeitos do estresse oxidativo e conseqüentemente da resposta inflamatória. Dentre estes se destacam o ácido ascórbico (vitamina C), os tocoferóis (vitamina E) e os agentes hipotérmicos. Essas vitaminas aumentam a capacidade antioxidante exógena e a hipotermia diminui o consumo do O₂ reduzindo a formação das ROS e os danos causados por essas. O racional do presente projeto que será aprofundado no próximo capítulo, onde se buscou estudar a interação desses agentes ergogênicos na resposta inflamatória após ER em voluntários saudáveis destreinados frente a uma sessão de ER. Associação desses agentes podem ter efeitos aditivos, pois atuam tanto na capacidade antioxidante exógena, como na endógena, para neutralizar os danos causados pelo excesso das ROS. Técnicas de recuperação pós-exercício são amplamente discutidas na pesquisa científica. Estas técnicas visam diminuir o estresse causado pelo exercício. Uma dessas técnicas é a Imersão em Água Fria (IAF). Os efeitos da imersão em água fria no fluxo sanguíneo, na oxigenação tecidual e na dor muscular de origem tardia (DMIT) pode ajudar a melhorar nossa compreensão desta modalidade de recuperação. A presente dissertação terá como enfoque os efeitos da hipotermia, em especial, o banho de imersão na água fria, e apresentará neste contexto os resultados desta interação na leucocitose, na resposta inflamatória, no estresse oxidativo e na DMIT em forma de artigo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A prática regular de atividades físicas é recomendada pelo *American College of Sports Medicine* e pelo *American Heart Association* (AMERICAN COLLEGE SPORTS MEDICINE, 2009), sendo um importante fator na promoção e manutenção da saúde (HASKELL et al., 2007). Dentre os tipos de atividade física se destacam os benefícios dos exercícios resistidos (força ou musculação), este treinamento se refere a uma modalidade de atividade física sistematizada composta de variáveis (volume, intensidade, frequência, duração, recuperação, ordem dos exercícios, equipamentos e tipo de treinamento) que precisam ser controladas para otimizar os benefícios (RHEA et al., 2003). Dentre essas variáveis, a intensidade ou a carga total utilizada para um exercício é, provavelmente, a variável mais importante (KEMMLER et al., 2004).

Os exercícios podem promover muitas adaptações no organismo no qual o treinamento e tipo de programa podem influenciar nas respostas fisiológicas. Estudos comprovam os efeitos favoráveis dos exercícios a médio e longo prazo na melhora da qualidade de vida e como forma de prevenir e/ou reabilitar doenças (GILLISON et al., 2009). O aumento da prevalência de doenças cardio-metabólicas teve início na década de 1980 e parte desse aumento estava vinculado ao aumento dos comportamentos de estilo de vida, incluindo inatividade física, aumento do tempo de assento e proliferação de alimentos processados (TUOMI et al., 2014). Estima-se que um terço dos adultos em todo o mundo estão inativos (HALLAL et al., 2012). O exercício está consolidado no controle ponderal (AMERICAN COLLEGE SPORTS MEDICINE, 2009), sendo também uma importante ação não farmacológica para saúde pública na prevenção dos efeitos deletérios da obesidade (HASKELL et al., 2007).

A alta intensidade desses exercícios é o principal fator capaz de provocar danos ao músculo esquelético e resposta inflamatória, a qual é percebida pelo praticante através das dores após os exercícios (BAYLEY et al., 2007; GLASGOW et al., 2014).

A prática aguda de exercícios físicos, de uma forma geral induz a uma resposta inflamatória, pois a atividade provoca um aumento na concentração de leucócitos na circulação (SUZUKI et al., 2002). A leucocitose pode aumentar linearmente conforme a elevação da intensidade do exercício, sendo este aumento, em parte, devido a liberação de catecolaminas (PRESTES et al., 2007). Esta inflamação induzida pelo exercício pode surgir em decorrência da lesão tissular advinda do estresse mecânico (que provoca lesões em tecidos contráteis e conjuntivos) e/ou do estresse metabólico (ativação hormonal e seus resultantes) causando lesões dos componentes celulares (CRUZAT et al., 2007).

Danos tissulares de qualquer natureza (física, química ou biológica), dentre estes o exercícios físicos intensos, desencadeiam de imediato uma série de eventos que se caracterizam de uma forma simplista se traduzem como: rubor, tumor, calor e dor que através de uma série de reações físico-químicas resultando no reparo do tecido lesado (BALBINO et al., 2005). Estes sintomas estão relacionados com a dor tardia, que frequentemente acomete atletas de alto nível e principiantes em atividades físicas, a dor está relacionada com a descontinuidade dos programas de exercícios (CHEUNG et al., 2003). O processo inflamatório caracteriza-se como uma resposta de defesa do organismo frente a um agente agressor. A intensidade desse processo é regulada por fatores pró e anti-inflamatórios. Considera-se a inflamação um processo benéfico e necessário enquanto relacionada ao treinamento físico regular e sistematizado, uma vez que em conjunto com a ação de hormônios e outras moléculas sinalizadoras é responsável pela regeneração e reparo das estruturas danificadas (ZALDIVAR, 2006). O mecanismo de reparo do dano pode ser dividido em três fases: uma fase degenerativa seguida de uma fase regenerativa, e uma terceira fase de remodelamento do tecido danificado (SMITH, 2004). Constitui um quadro bastante complexo, no qual as células inflamatórias promovem tanto dano quanto regeneração. Isso é realizado através da ação combinada de ERO, antioxidantes enzimáticos, fatores de crescimento, hormônios e citocinas, que mantêm um equilíbrio entre atividades pró e antioxidantes e pró e anti-inflamatórias (GLEESON, 2007 ; TIDBALL et al., 2007)

A fase inflamatória se caracteriza pela emissão de sinais que resultam na ativação de células nervosas, estromais, vasculares e circulatórias. A sinalização físico-química é feita por estruturas das células rompidas (porções da membrana celular e organelas), fragmentos dos elementos inertes dos tecidos (colágenos, elastinas, fibronectinas, e outros), proteínas séricas que extravasam dos vasos rompidos e por ação de mediadores inflamatórios pré-formados (liberados principalmente dos grânulos das plaquetas, mastócitos e terminações nervosas periféricas) ou neo-sintetizados (eicosanóides e PAF) (CONTRAN et al., 2001). Essas moléculas, ao se ligarem a receptores localizados na superfície da membrana das células locais, induzem profundas modificações no seu metabolismo, na expressão de genes e conseqüentemente em seu fenótipo. Como resposta, observa-se a produção de uma segunda onda de mediadores de natureza lipídica (eicosanóides) e peptídica (citocinas, fatores de crescimento e neuropeptídeos) e a externalização na superfície das células endoteliais voltada para a luz dos vasos das moléculas de adesão (selectinas, superfamília das imunoglobulinas e as integrinas) para os leucócitos. Além disso, como decorrência do próprio trauma ou da ativação celular, o microambiente tem sua composição físico-química alterada (baixa tensão de

O₂, diminuição de pH, presença de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio) sendo esta também uma outra forma de sinalização que ativa as células envolvidas no reparo tissular (BALBINO et al., 2005).

As espécies reativas do oxigênio (ERO) são os produtos intermediários do metabolismo celular oxidativo, sendo que os derivados bioquímicos destas reações são chamados de radicais livres, os quais atuam como sinalizadores moleculares vasculares (SIGNORI et al., 2007). As principais espécies reativas de oxigênio são: o ânion superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o radical hidroxil ([•]OH) (BACHSCHMID et al., 2005). A formação do O₂⁻ leva à menor biodisponibilidade do NO por inativação progressiva deste, pois estes reagem e formam o peroxinitrito (ONOO⁻), um potente e duradouro oxidante, ligando as espécies reativas de oxigênio às de nitrogênio (ERON), as quais podem provocar a peroxidação dos lipídios, das proteínas e dos ácidos nucleicos e, conseqüentemente, a apoptose celular (BACHSCHMID et al., 2005; FREIN et al., 2005; FLEMING, 2004).

Em oposição as ERON existem os mecanismos de defesa enzimáticos (celulares) e não enzimáticos (extracelulares). As principais enzimas que participam no mecanismo de defesa celular são a superóxido dismutase (SOD), catalase e a glutathiona peroxidase (GPx). As defesas não enzimáticas (ou defesas extracelulares) são principalmente as vitaminas A, C e E. A função endotelial está na dependência direta do adequado funcionamento dos mecanismos de defesa. Neste sentido, o estresse oxidativo é um estado no qual o excesso da ERO (espécies reativas de oxigênio) sobrepõe os sistemas antioxidantes (SINGH; JIALAL, 2006).

Durante o exercício físico ocorre um aumento significativo nas ERON (RIETJENS et al., 2008), sendo que o aumento da carga de exercícios é o fator determinante para provocar ativação das vias metabólicas específicas resultando na produção de radicais livres (CUEVAS et al., 2005). Estes radicais livres podem resultar em dano tecidual, isso ocorre quando há um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes que prevalecem sobre os antioxidantes resultando no estresse oxidativo (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). O estresse oxidativo induzido pelo exercício estimula a resposta inflamatória, a qual ativa mediadores químicos e as moléculas de adesão do endotélio vascular (SAHNOUN et al., 1998) para a invasão do tecido muscular lesado por leucócitos (AOR et al., 2004; TIDBALL, 2005). Isto promove uma maior produção das ERO que ativam as vias inflamatórias como o fator nuclear kappaB (NFkB) acompanhado de uma degradação do inibidor kappaB (IkappaB) (CUEVAS et al., 2005; RIETJENS et al., 2008), os quais contribuem para o dano secundário (PIZZA et al., 2008). Estudos indicam que os exercícios anaeróbios demonstram aumentos significativos no estresse oxidativo (HELLSTEN et al., 1996; FINAUD et al., 2006; RIETJENS et al., 2008). Especificamente nos exercícios

excêntricos parece ocorrer maior dano muscular, ativando a mobilização dos leucócitos para musculatura exercitada (PAULSEN et al., 2010).

Portanto, parece racional controlar a transdução do sinal inflamatório, através do uso de mecanismos antioxidantes para atenuar o desconforto pós-exercício (CHEUNG et al., 2003), pois este aumenta a formação mitocondrial das EROs (WANG, 2006). Baseado nestes pressupostos, vários métodos que melhoram a capacidade antioxidante e/ou que reduzem o dano tecidual, tem sido utilizado para moderar os efeitos do estresse oxidativo e conseqüentemente da resposta inflamatória (GULMEZ et al., 2007; BLOCK, et al., 2008). Dentre estes se destacam o ácido ascórbico (vitamina C), os tocoferóis (vitamina E) e os agentes hipotérmicos, entretanto seus resultados isoladamente são controversos, mas o consumo de vitaminas (McGINLEY et al., 2009) assim como a utilização dos agentes hipotérmicos (McDERMOTT et al., 2009), parecem colaborar para otimizar as adaptações do organismo, iniciadas pelo treinamento de força ou qualquer situação de prática esportiva.

O ácido ascórbico (vitamina C) que é um antioxidante hidrossolúvel que tem sido utilizado na tentativa de minimizar o dano tecidual causado pelo exercício através da neutralização dos efeitos das EROs (GOLDFARB et al., 2005; THOMPSON et al., 2001). Esta vitamina é usada na forma de suplementos e pode proporcionar a diminuição dos níveis de cortisol no pós-exercício (CARRILLO et al., 2008), reduzindo os marcadores inflamatórios em pessoas destreinadas (TOMPSON et al., 2001), atenuando a lipoperoxidação, resultando na diminuição da lesão muscular provocada pelo exercício (NAKHOSTIN-ROOHI et al. 2008). Entretanto, estudos apontam para não interferência na resposta da interleucina-6 (IL-6) frente a exercícios excêntricos (TOMPSON et al., 2004; NAKHOSTIN-ROOHI et al., 2008).

Em exercícios excêntricos, a suplementação alimentar de vitaminas C e E por duas semanas melhora a resposta de IL-6 frente aos exercícios de resistidos (FISCHER et al., 2004), não interferindo nos resultados da força muscular (KEATING et al., 2004). Isso ocorreu pelos aumentos esperados na capacidade antioxidante exógena, mas também na capacidade endógena devido ao aumento da glutathione redutase (SCHWINGEL et al., 2006).

O uso de imersão em água fria em temperaturas $<15^{\circ}\text{C}$ é um método de recuperação cada vez mais popular. Foi proposto que a pressão hidrostática exercida sobre o corpo quando imerso em água fria provoca mudanças no fluido intracelular, reduzindo a inflamação e edema, preservando assim a função muscular e mantendo o desempenho muscular (WILCOCK, 2006, BLEAKLEY et al., 2012)

As aplicações usando a imersão em água fria (IAF) são recomendados para melhorar a recuperação de atletas depois de sessões de exercícios resistidos (BLEAKLEY et al., 2004; BLEAKLEY et al., 2010; WEGMANN et al., 2012).

A imersão em água fria provoca vasoconstrição periférica que resulta em uma associação central de sangue, seguida de vasodilatação periférica imediatamente após a saída da água fria (AL HADDAD et al., 2010). Este mecanismo pode melhorar a taxa em que os músculos se tornam reoxigenados. A espectroscopia de infravermelho é um método não invasivo e direto para estudar a oxigenação tecidual local e hemodinâmica ao monitorar mudanças na oxi e desoxihemoglobina. Esta técnica pode determinar informações locais sobre o consumo de oxigênio muscular e fluxo sanguíneo. Vários estudos analisaram especificamente os efeitos da imersão em água fria na oxigenação muscular (TSENG et al., 2013; IHSAN et al., 2013). Em relação ao estresse oxidativo a aplicação da hipotermia após exercícios intensos resulta em aumento das enzimas SOD, GPx e reduz a lipoperoxidação, atenuando a resposta inflamatória, pela redução na formação das citocinas e o dano muscular, favorecendo a uma recuperação mais rápida (MILA-KIERZENKOWSKA et al., 2009) hormônios (NEMET et al., 2009). Kumar et al. (2010) relatam que o aumento da permeabilidade vascular, que propicia o extravasamento para o interstício (exsudato) seria a marca do processo inflamatório. A perda de proteínas do plasma ocasionará a redução da pressão osmótica intravascular e aumento da pressão osmótica do líquido intersticial. A pressão hidrostática encontra-se elevada em consequência da vasodilatação advinda da lesão e da resposta inflamatória subsequente, que leva a um acentuado fluxo de líquido que se acumula entre os tecidos ocasionando o edema.

Os benefícios da IAF na recuperação de atletas vêm sendo amplamente estudados, mas os resultados gerais são conflitantes e os mecanismos ainda não estão bem esclarecidos. Alguns estudos relataram os efeitos benéficos no desenvolvimento da força muscular (BROPHY et al., 2011; LEEDER et al., 2012; VERSEY et al., 2012), por outro lado outros estudos encontraram somente pequenos efeitos positivos (CORBETT et al., 2011; KING et al., 2009; KINUGASA et al., 2009). Uma meta-análise teve como resultado que o CWI melhora efetivamente a força e o desempenho muscular além de reduzir a DMIT, principalmente após os exercícios de alta intensidade ou excêntricos (LEEDER et al., 2012).

A IAF promove a vasoconstrição das arteríolas e vênulas, que reduz a circulação local e, portanto, reduzindo o extravasamento de líquidos para o espaço intersticial (WATERMAN et al., 2012).

O mecanismo fisiológico proposto da IAF é a diminuição da temperatura do tecido e redução no fluxo sanguíneo (MAWHINNEY et al., 2013; ROBERTS et al., 2015). Esses

mecanismos fisiológicos da IAF seriam benéficos na limitação da resposta inflamatória ocasionada pelos ER em modelos animais (VIEIRA RAMOS et al., 2016). Entretanto, em recente estudo com seres humanos demonstrou que a IAF (10min em água a 10^o C) apresentou resultados na resposta anti-inflamatória semelhantes a recuperação ativa (PEAKE et al., 2017).

Estudos descritos anteriormente sugerem que os suplementos vitamínicos (vitaminas C e E) e os métodos de hipotermia não alteram a performance dos atletas, mas podem individualmente atenuar a resposta inflamatória pós-exercício.

A eficiência do sistema de defesa antioxidante depende do equilíbrio entre a ingestão e depleção de antioxidantes. Sem a intervenção adequada dos mecanismos antioxidantes celulares, a peroxidação lipídica mediada por ERO pode promover a perda da integridade das membranas celulares e danos teciduais (GEORGE & OSHARECHIREN, 2009).

O racional deste estudo baseia-se em aumentar a capacidade antioxidante previamente aos exercícios através do ácido ascórbico e tocoferol (vitaminas C e E) e após o exercício atenuar o dano com a hipotermia (imersão na água a 15°C). Entretanto, estudos que evidenciaram a utilização de hipotermia (imersão 15°C) associada a suplementos vitamínicos (vitaminas C e E) nestes marcadores ainda não foram realizados. Estudar a interferência dos suplementos antioxidantes (vitaminas C e E) associados da hipotermia nas respostas fisiológicas e bioquímicas derivadas do treinamento de força poderá auxiliar na resposta inflamatória durante e pós-exercício e conseqüentemente na regeneração muscular beneficiando atletas e iniciantes nesta atividade física.

3 OBJETIVOS

A presente pesquisa faz parte do projeto temático intitulado: “Efeitos dos antioxidantes associados à hipotermia na dinâmica hematológica, marcadores inflamatórios e estresse oxidativo provocadas pelo treinamento de força em sedentários saudáveis” registrado no Gabinete de Apoio a Pesquisa sob o número 044993.

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as alterações agudas na dinâmica hematológica, nos marcadores inflamatórios e no estresse oxidativo de voluntários sedentários saudáveis submetidos à prévia suplementação de antioxidante (vitamina C e vitamina E) associada à hipotermia (imersão 15°C) durante e após exercícios excêntricos anaeróbicos (musculação).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A presente dissertação objetiva estudar as alterações agudas na dinâmica hematológica, nos marcadores inflamatórios e no estresse oxidativo de voluntários saudáveis submetidos a banho de imersão em água fria imediatamente após exercícios resistidos em voluntários saudáveis destreinados.

Os resultados do presente trabalho resultaram no artigo intitulado: Cold water immersion in the oxidative stress parameters and inflammatory response after session of resistant exercises in untrained volunteers: a randomized controlled trial, o qual será apresentado a seguir.

4 ARTIGO

Revista Brasileira de Medicina do Esporte

IMERSÃO NA ÁGUA FRIA NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS EXERCÍCIOS RESISTIDOS

COLD WATER IMMERSION IN THE INFLAMMATORY RESPONSE AFTER RESISTANT EXERCISES

IMERSIÓN EN AGUA FRÍA EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA DESPUÉS EJERCICIOS RESISTIDOS

¹Edson Missau, ²André de Oliveira Teixeira, ³Carlos Eduardo da Rosa, ⁴Willian Perez, ⁵Luis Ulisses Signori.

¹ Fisioterapeuta - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Educador Físico - Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil.

³ Biólogo - Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil.

⁴ Farmacêutico – Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS, Brasil.

⁵ Fisioterapeuta - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

Autor Correspondente:

Luis Ulisses Signori. Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Físico-Funcional, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Av. Roraima, 1000. Bairro Camobi, ZIP: 97105-900 – Santa Maria – RS [Brasil]. Tel: (55) 55 3220-8234.

e-mail: l.signori@hotmail.com

Total de palavras: 2932 palavras

RESUMO

Introdução: Os exercícios resistidos (ER) realizados em alta intensidade provocam uma resposta inflamatória que reduz a funcionalidade. Objetivo: Avaliar os efeitos da imersão na água fria (IAF) sobre a leucocitose, os marcadores inflamatórios e a dor muscular de início tardio (DMIT) resultantes de uma sessão ER em voluntários destreinados. Métodos: Treze voluntários (26 ± 5 anos de idade) não praticantes de ER foram randomizados e submetidos a sessões de ER Controle e ER com IAF. As sessões de exercícios (cadeira extensora, agachamento e *leg press*) consistiram de quatro séries de 10 repetições máximas (intervalo de uma semana entre a avaliação e as sessões). A IAF consistiu de imersão em água (15°C), ao nível da cicatriz umbilical, por 10 minutos imediatamente após a sessão de exercícios. Hemograma completo, PCR ultrasensível, creatina quinase (CK) e lipoperoxidação (LPO) foram avaliados previamente (basal), imediatamente, 30 minutos e 2 horas após os ER. A DMIT foi avaliada 24 horas após as sessões. Resultados: Os ER induziram a uma progressiva leucocitose ($P < 0,001$). A PCR se elevou 2 horas após os exercícios ($P = 0,008$) apenas na sessão de ER Controle. A CK aumentou após os 30 minutos e 2 horas após os exercícios ($P < 0,001$) na sessão Controle, enquanto na sessão IAF o aumento foi observado após 2 horas ($P < 0,001$). A LPO aumentou somente na sessão Controle em 2 horas ($P = 0,025$). A IAF reduziu em 57% a DMIT ($P < 0,001$). Conclusão: A IAF retarda a resposta inflamatória e reduz a DMIT em indivíduos destreinados submetidos à ER.

Descritores: exercício; inflamação; estresse oxidativo; crioterapia; ensaio clínico.

ABSTRACT

Introduction: Resistance exercises (RE) when performed at high intensity cause an inflammatory response that reduces functionality. Objective: To evaluate the effects of Cold Water Immersion (CWI) on leukocytosis, inflammatory markers and delayed onset muscle soreness (DOMS) resulting from a RE session in untrained volunteers. Methods: Thirteen volunteers (26 ± 5 years old) non-RE practitioners were randomized and submitted to sessions ER Control and ER with CWI. Exercises sessions (extensor chair, squat and leg press) consisted of four sets of 10 maximum repetitions (one week interval between the evaluation and the sessions). CWI consisted of immersion in water (15°C) at the umbilical scar level for 10 minutes immediately after the exercise session. Complete blood count, high-sensitivity CRP, creatine kinase (CK) and lipoperoxidation (LPO) were previously assessed (baseline), immediately, 30 minutes and 2 hours after RE. DOMS was evaluated 24 hours after the sessions. Results: RE induced a progressive leukocytosis ($P < 0.001$). CRP was elevated 2 hours after the exercises ($P = 0.008$) only in the RE Control session. CK increased after 30 minutes and 2 hours after exercise ($P < 0.001$) in the Control session, whereas in the CWI session the increase was observed after 2 hours ($P < 0.001$). LPO increased only in the Control session in 2 hours ($P = 0.025$). CWI reduced the DOMS by 57% ($P < 0,001$). Conclusion: CWI slows the inflammatory response and reduces DONS in untreated individuals submitted RE.

Keywords: *exercise; inflammation; oxidative stress; cryotherapy; clinical trial.*

RESUMEN

Introducción: Los ejercicios resistidos (ER) realizados en alta intensidad provocan una respuesta inflamatoria que reduce la funcionalidad. Objetivo: Evaluar los efectos de la inmersión en agua fría (IAF) sobre la leucocitosis, marcadores inflamatorios y en el dolor muscular de inicio tardío (DMIT) resultantes de una sesión de ER en voluntarios desentrenados. Métodos: Trece voluntarios (26 ± 5 años de edad) no practicantes de ER fueron aleatorizados y sometidos a sesiones de ER Control y ER con IAF. Las sesiones de ejercicios (silla extensora, sentadillas y leg press) consistieron en cuatro series de 10 repeticiones máximas (intervalo de una semana entre la evaluación y las sesiones). La IAF consistió en inmersión en agua (15°C), al nivel de la cicatriz umbilical, durante 10 minutos después de la sesión de ejercicios. Se realizó un análisis completo de hemograma, PCR ultrasensible, creatina quinasa (CK) y lipoperoxidación (LPO), los cuales se evaluaron previamente (basal), inmediatamente, después de 30 minutos y 2 horas después de los ER. La DMIT fue evaluada 24 horas después de las sesiones. Resultados: Los ER indujeron a una progresiva leucocitosis ($P < 0,001$). La PCR se elevó 2 horas después de los ejercicios ($P = 0,008$) sólo en la sesión de ER Control. La CK aumentó después de 30 minutos y 2 horas después de los ejercicios ($P < 0,001$) en la sesión Control, mientras que en la sesión IAF el aumento se observó después de 2 horas ($P < 0,001$). La LPO sólo aumentó en la sesión de Control en 2 horas ($P = 0,025$). La IAF redujo en 57% el DMIT ($P < 0,001$). Conclusión: La IAF retarda la respuesta inflamatoria y reduce e, DMIT en individuos desentrenados sometidos a ER.

Descriptor: exercise; inflammation; estrés oxidativo; cryotherapy; clinical trial.

INTRODUÇÃO

Os exercícios resistidos (ER) são utilizados para o desenvolvimento da hipertrofia e/ou da força muscular esquelética devendo fazer parte de qualquer programa de exercícios, pois contribuem para a melhora do desempenho desportivo, bem como, para a profilaxia e o tratamento de doenças¹. Estes exercícios de forma aguda geram um estresse mecânico e/ou metabólico, que podem variar de acordo as variáveis de treinamento e, dependendo da sua intensidade, podem resultar em dano muscular².

Durante e após a execução destes exercícios em alta intensidade ocorre um desequilíbrio na oxidação/redução³, pois a produção das espécies reativas de oxigênio supera a capacidade antioxidante enzimática (SOD, Catalase e Glutathione peroxidase) e não enzimática (Vitaminas A, C, E e ácido úrico) resultando na oxidação dos constituintes celulares^{4,5,6} e a consequente resposta inflamatória^{3,7}. Clinicamente, estas alterações se caracterizam pela dor muscular de início tardio (DMIT) resultando na redução da contratilidade⁸ e da funcionalidade muscular⁹. Indivíduos sedentários e/ou destreinados são especialmente mais vulneráveis^{2,9}, pois a DMIT apresenta uma natureza transitória (pico da dor entre 24 – 72h e a resolução dos sintomas entre 5-7 dias)¹⁰ e pode levar ao abandono dos programas de exercícios^{2,9}.

Várias estratégias terapêuticas estão sendo investigadas para minimizar e/ou acelerar a recuperação da DMIT^{9,11,12}. Dentre essas, a imersão na água fria (IAF) vem se destacando, pois recentemente vários estudos vêm aumentando as evidências que a aplicação desta terapêutica favorece a recuperação da DMIT e da função muscular após os exercícios^{6,10,13-25}. Agudamente, a IAF favorece a

recuperação da fadiga central, melhora a distribuição do fluxo sanguíneo (redirecionamento do fluxo sanguíneo de áreas periféricas para áreas centrais), favorece a depuração metabólica e reduz a atividade simpática²⁶. Porém, esses efeitos variam de acordo com o tipo exercício, características individuais e em especial as dosagens (o tempo de aplicação, a temperatura e a área corporal imersa) devem ser levadas em consideração²⁷.

Recente meta-análise demonstrou as dosagens mais adequadas para a aplicação da IAF, sendo sugerida a temperatura da água (entre 11 a 15°C) e o tempo de aplicação (entre 11 a 15min)²¹. Entretanto, os mecanismos envolvidos ainda não estão bem esclarecidos^{6,27}, pois dentro da dosagem sugerida, o estado redox em indivíduos destreinados frente à ER ainda não foi estudado e sua recomendação pode ser reconsiderada²⁵. O objetivo do presente estudo é estudar as alterações agudas na dinâmica hematológica, nos marcadores inflamatórios e em parâmetros de estresse oxidativo de voluntários saudáveis destreinados submetidos à IAF (15°C por 10min) após sessão aguda de ER. A hipótese a ser investigada é que a IAF melhora o estado redox e, isso interfere na resposta inflamatória e leucocitária após sessão aguda de ER em voluntários destreinados.

MÉTODOS

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande (CEPAS/FURG protocolo nº 23116.002536/2010-48) e registrado no Clinical Trials (Identifier: NCT02902315). Os sujeitos foram previamente avaliados por médico assistente, e após foram informados sobre os procedimentos da avaliação, da coleta de dados e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com a Resolução (nº 196/96) do Conselho Nacional de Saúde.

Critérios de elegibilidade

Os voluntários incluídos se apresentavam clinicamente saudáveis, com idades entre 20 a 35 anos, com índice de massa corporal (IMC) menor que 30 kg/m², não praticantes de atividades físicas e/ou exercícios físicos regularmente (+1 vez por semana), não estar participando de programas de dietas alimentares, bem como, não possuir diagnóstico prévio de doenças reumatológicas, cardiovasculares, metabólicas, neurológicas, oncológicas, imunológicas e hematológicas foram incluídos no estudo. Os indivíduos que faziam uso de qualquer tipo de suplementos alimentares, vitamínicos e/ou ergogênicos, medicação e fumantes não foram incluídos no estudo. Os sujeitos eram orientados a manter suas rotinas diárias e seus hábitos alimentares.

Os critérios de exclusão compreenderam aqueles voluntários que apresentassem ao longo do estudo lesões musculoesqueléticas, fizessem uso de medicação anti-inflamatórias e/ou analgésicas, bem como, aqueles que apresentassem em uma das avaliações laboratorial basal, uma resposta inflamatória (PCR ultrasensível >3 mg/dL), glicemia (>100 mg/dL), leucocitose

(>11.000 x10³/mm³), hipertermia (>38°C), alterações na pressão arterial sistêmica (>140/90 mmHg) e ainda algum sintoma de dor e/ou desconforto anterior a avaliação basal. Baseados nesses critérios foram excluídos dois voluntários (leucocitose e PCR elevadas) e dois voluntários não concluíram o estudo. O fluxograma do estudo está apresentado na Figura 1. O consumo de sucos de frutas, bebidas alcoólicas e a realização de atividades físicas foram restringidos 72h antes da coleta de dados.

Avaliação da força muscular

O teste de 10 repetições máximas (10RM) foi adotado para a realização do protocolo de treinamento com sobrecarga controlada¹. Os exercícios selecionados foram a cadeira extensora (CE), o agachamento (AG) e o *leg press* (LP) realizados em Equipamentos marca *Physicus*[®](modelo *Plus*, Brasil). Durante as coletas foi adotado o tempo de recuperação de cinco minutos entre exercícios. Os valores das cargas máximas no teste de 10RM foram obtidos ao longo de três a cinco tentativas, quando o avaliado apresentava quadro de falha concêntrica para o movimento dinâmico. A cada nova tentativa realizava-se adição de incrementos progressivos de 5 kg, sendo dado um intervalo de três a quatro minutos entre cada série. Desse modo, validou-se como carga máxima a que foi obtida na última execução^{7,28}.

Sessão de exercícios

Previamente à sessão de exercícios, os voluntários foram submetidos ao aquecimento específico em cada exercício adotado (uma série de 15 repetições com 40% da carga máxima obtida no teste de 10RM). As sessões de exercício foram compostas por quatro séries para 10RM, com intervalo de um

minuto entre séries e dois minutos entre os exercícios. A sequência de exercícios (cadeira extensora, agachamento e *leg press*) foi randomizada através de sorteio por envelope pardo fechado. Antes do teste de 10RM e das coletas de dados, foram fornecidas instruções padronizadas referentes ao procedimento experimental e técnica de execução dos exercícios. Estímulos verbais ao voluntário foram realizados durante as avaliações e os exercícios^{7,28}.

Intervenção

A sessão intervenção consistiu na imersão na água fria (IAF) dos membros inferiores dos indivíduos em água a 15°C, por um período de 10 minutos imediatamente após o protocolo de exercícios²¹. O voluntário ficou sentado e o nível da água atingira a cicatriz umbilical. A sequência dos exercícios foi randomizada, sendo o sorteio realizado através de dois envelopes lacrados de papel pardo. Na sessão Controle foram mantidas as condutas anteriores sem a IAF.

Coleta de dados

No dia da coleta de dados os voluntários encontravam-se em jejum de 12 horas. As coletas sanguíneas ocorreram antes dos exercícios (basal), imediatamente após a sessão de ER (0 mim), 30 minutos e 120 minutos após a realização dos exercícios. Decorridas 24 horas após a sessão de exercícios foi avaliada a percepção subjetiva da dor pela escala visual analógica⁷.

Medidas Bioquímicas

O colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de alta densidade (HDLc), glicose, ácido úrico, ureia e fibrinogênio foram avaliados por kits comerciais *LAB*

TEST (Lagoa Santa, MG, Brasil). As lipoproteínas de baixa densidade (LDLc) foram calculadas pela fórmula de Friedewald. Para as proteínas plasmáticas totais utilizou-se o método colorimétrico do Bioreto (Doles, GO, Brasil). O lactato foi avaliado através de fitas (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). O magnésio e o cálcio foram avaliados por kits comerciais *LAB TEST* (Lagoa Santa, MG, Brasil). Sódio e potássio séricos foram dosados pelo método do eletrodo seletivo automatizado (*ROCHE* 9180 Electrolyte Analyzer, AVL Medical Instruments, Switzerland, Austria). A transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e a transaminase glutâmico pirúvica (TGP) séricas foram dosadas pelo método IFCC (aparelho HITACHI 917®, Roche Diagnostics, Florida, USA). A creatina quinase (CK) foi realizada usando-se reativo CK-NAC Liquiform (Mindray, modelo BS200, China). A Proteína C-reativa Ultrassensível foi avaliada por Nefelometria (Nephelometer Beckman Coulter, modelo Image com reagentes do laboratório CCRP IMAGE, Fullerton, CA, USA). Os testes de eritograma e leucograma foram processados automaticamente (kits ABX, Horiba Diagnóstica, Curitiba, Brasil) e microscopia. Para quantificação das variáveis hematológicas as amostras eram contadas duas vezes e os valores expressos pela média das medidas (diferenças maiores que 10% foram repetidas).

Estresse oxidativo

O estresse oxidativo foi avaliado por uma medida de dano lipídico (LPO) e uma medida da capacidade antioxidante contra os radicais (ACAP) peroxil ($RO_2\bullet$)⁷. A peroxidação lipídica foi medida na oxidação do Fe^{2+} por hidroperóxidos lipídicos em meio ácido na presença do corante complexador de Fe^{3+} Xylenol Orange (SIGMA, SP, Brasil). As amostras de plasma foram

empregadas nas análises. A determinação foi realizada em leitora de microplacas, utilizando-se o comprimento de onda de 550nm. O hidroperóxido de cumeno (SIGMA, SP, Brasil) foi empregado como padrão. Os resultados são expressos como η mol de hidroperóxido de cumeno/g de tecido.

Para a avaliação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) foram utilizados 10 μ l de plasma diluído a uma concentração de 3,3mg/ml de proteína foram pipetados em 8 poços de microplacas de fundo branco. Após, 127,5 μ l do tampão de reação (30 mM HEPES (pH 7.2), 200 mM KCl e 1 mM MgCl₂) foram adicionados os poços com amostras. Quatro poços por amostra receberam 7,5 μ l de 2,20-azobis-2-methylpropionamide dihydrochloride (ABAP; 4 mM; Sigma-Aldrich, SP, Brasil) e quatro poços receberam 7,5 μ l de água ultrapura. A fluorescência basal das placas foi medida utilizando fluorímetro (Victor 2, Perkin-Elmer, Turku, Finland), a 35°C, onde os radicais peroxil são produzidos a partir da termólise do ABAP. Após a leitura da fluorescência basal, 10 μ l de 20,70-dichlorofluorescein-diacetate (H₂DCF-DA) foram adicionados aos poços, perfazendo uma concentração final de 40 μ M. H₂DCF-DA é clivado por esterases presentes nas amostras e o composto não-fluorescente H₂DCF é oxidado pelos radicais peroxil, o qual é detectado utilizando-se os comprimentos de onda de 488 e 525 η m, para excitação e emissão respectivamente. A geração de fluorescência foi monitorada a cada 5 minutos durante 1 hora. Os dados são expressos na forma $(1/(\text{area relative com / sem ABAP}))^7$.

Calculo amostral

Baseado em estudo anterior²³, estimou-se que 13 voluntários seriam necessários em cada sessão de estudo (Controle e IAF). Após a aplicação da

IAF, estimamos a diferença de 1,4 pontos (escala visual analógica) entre as sessões e desvio padrão de 1,6 pontos. Estes valores foram mantidos para um poder de 80% e para $\alpha=0,05$. A amostra foi composta por 13 voluntários randomizados em exercícios de duas sessões (Controle e IAF).

Análises estatísticas

Os dados estão expressos como média (\bar{X}) \pm desvio padrão (DP). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a distribuição dos dados. Para comparação das variáveis com duas medidas foi utilizado teste t pareado de student e as variáveis com mais de duas medidas utilizada a ANOVA de duas vias para medidas repetidas (Sessões, Tempo e Interação) seguidas de *post hoc* Bonferroni. O nível de significância de 5% ($P < 0.05$) foi considerado. Os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego, CA).

RESULTADOS

A amostra de treze voluntários saudáveis sedentários com idade média de 26.6 (± 5) anos, apresentando força muscular para o *Leg Press* 121 (± 27) kg, para o agachamento 76 (± 19) e para extensão 53 (± 13). O IMC (sessão Controle 25,8 \pm 3 kg/m² vs. sessão IAF 25,6 \pm 3 kg/m², $p=0,173$), pressão arterial sistólica (sessão Controle 116 \pm 6 mmHg vs. sessão IAF 120 \pm 5 mmHg, $p=0,178$) e a pressão arterial diastólica (sessão Controle 75 \pm 4 mmHg vs. sessão IAF 78 \pm 5 mmHg, $p=0,672$) foram semelhantes entre as sessões. A intensidade do exercício avaliada pelo lactato após as sessões aumentaram aproximadamente sete vezes em relação aos valores basais (Figura 2A). O perfil lipídico, a glicose, ácido úrico, ureia, TGO e TGP encontravam-se dentro de valores recomendáveis para a faixa etária e não se modificaram entre as sessões (Tabela 1).

Os resultados do eritrograma e eletrólitos encontram-se dentro de valores de normalidade e os dados estão apresentados na Tabela 2. Imediatamente após os ER observou-se um aumento dos hematócitos, das hemácias e das hemoglobinas, sendo que estes valores retornaram aos níveis basais aos 30 e 120min. Os ER aumentaram as plaquetas em 0min diminuindo estes valores em meia hora e 2h, mas não retornando aos valores basais. O Sódio, o Cálcio e o Magnésio não se modificaram ao longo do estudo em ambas as sessões. Os ER aumentaram o Potássio, onde na sessão Controle isso ocorreu a partir de meia hora após o término dos exercícios, mas na sessão com IAF somente foi observado após 2h.

A Tabela 3 apresenta os dados do Leucograma. Os leucócitos totais e os neutrófilos segmentados aumentaram imediatamente após a sessão de ER,

retornando aos valores basais meia hora após o término desta e 2h após exercícios estes novamente aumentaram para ambas as sessões. Os bastonetes aumentaram 2h após o término da sessão de exercícios em ambas as sessões, mas apenas na sessão Controle estes valores foram superiores aos valores imediatamente após o término dos ER. Os eosinófilos não se modificaram ao longo do período. Em ambas as sessões, os monócitos aumentaram imediatamente após os ER retornando aos valores basais nos demais momentos avaliados. Os linfócitos aumentaram imediatamente após os ER (0min) e na sessão IAF estes já diminuíram 30min aos valores basais, mas na sessão Controle isso somente ocorreu após 2h.

Os dados referentes aos parâmetros de estresse oxidativo e marcadores inflamatórios estão na Tabela 4. A LPO aumentou 2h após o término dos exercícios apenas na sessão Controle (Figura 2B). A ACAP não se alterou ao longo do estudo. A PCR aumentou 2h em relação aos valores basais apenas na sessão controle. Em relação aos valores basais, a CK aumentou 30min e 2h após o término dos exercícios controle, mas este aumento somente foi verificado 2h após o término da sessão IAF. O fibrinogênio não se modificou ao longo do estudo. A DMIT avaliada 24h após as sessões de exercício apresentou uma redução de 57% na sessão IAF (Figura 2C).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a IAF (água a 15°C por 10 min) diminuiu a leucocitose, reduziu a lipoperoxidação, atenuou os aumentos dos marcadores inflamatórios (PCR e CK) e principalmente diminuiu a DMIT 24h após sessão de ER em voluntários saudáveis destreinados. A leucocitose após os ER ocorre devido à resposta inflamatória⁷ e a hemoconcentração²⁸. A hemoconcentração atua especialmente nos primeiros 30min após sessão de ER e é também responsável pelo aumento dos eritrócitos, dos eletrólitos e das plaquetas como já demonstrado em estudos prévios^{7,28}. A IAF retardou a elevação dos neutrófilos jovens e das plaquetas sugerindo a interferência desta intervenção no recrutamento destas células^{2,22}.

A sinalização celular se dá pelo estado redox e durante os exercícios intensos podem resultar em dano aos constituintes celulares^{4,5,6,25}. No presente estudo demonstramos que a IAF reduziu o dano lipídico 2h após os ER. Ao nosso conhecimento este é primeiro trabalho a demonstrar que a IAF nos parâmetros recomendados (entre 11 a 15°C e 11 a 15min) por recente meta-análise²¹ reduz os danos causados pelo estado transitório de estresse oxidativo em voluntários destreinados submetidos a sessão de ER. Sutkowy et al.⁴ demonstraram que após sessão de exercícios realizados em cicloergômetro a IAF (3°C por 5min) reduz a lipoperoxidação e os consequentes danos causados pelo desequilíbrio redox. Corroborando com esses resultados jogadores de voleibol expostos ao ar frio (-130°C por 2min) antes de exercícios submáximos realizado em cicloergômetro apresentaram uma melhora da capacidade antioxidante enzimática e redução de marcadores inflamatórios (crioterapia no corpo todo)⁵. Atletas semiprofissionais de artes marciais mistas (MMA) submetidos à IAF

(10°C por 15min) apresentaram redução do dano oxidativo¹³. Em jovens fisicamente ativos, a IAF (10°C por 10min) após ER reduziu a infiltração de neutrófilos e monócitos e a produção de marcadores inflamatórios demonstrados através de biópsias musculares²².

No presente estudo, a IAF retardou os aumentos sanguíneos da PCR e da CK após sessão de ER. A PCR e a CK são respectivamente biomarcadores de inflamação sistêmica e de dano muscular²⁹, sendo que os aumentos sanguíneos da CK se devem a interrupção do sarcolema³⁰. Esses resultados da CK estão de acordo com estudos prévios^{14,20,23}. Entretanto, Bleakley et al.²⁹ não encontraram diferenças entre a IAF e a recuperação passiva nos níveis plasmáticos desses biomarcadores. Acreditamos que a divergência desses resultados se deva aos diferentes protocolos de exercício e, especialmente as diferentes dosagens da IAF²⁷. Essas dosagens são melhores descritas e demonstram melhores evidências clínicas em pesquisas recentes^{13,20,21,23}, as quais foram empregadas no presente estudo.

Os efeitos da IAF na redução da DMIT demonstrada na presente pesquisa após ER, já foi descrita em revisão sistemática para diferentes tipos de exercícios²⁹, para adultos saudáveis²⁰ e praticantes de artes marciais¹³. Salienta-se que existe uma alta variabilidade interindividual na resposta da DMIT (13-22%), a qual deve ser considerada para ter relevância clínica²⁹. Os resultados do presente estudo apresentam uma redução da DMIT em 57%, o que demonstra a efetividade da intervenção.

A IAF atua na redução da percepção da dor e isso se deve em parte pela diminuição da velocidade de condução nervosa, redução da fadiga muscular e

central²⁶, este mecanismo é reforçado pelos resultados desta pesquisa, onde voluntários destreinados foram submetidos à sessão de ER seguidas dessa intervenção. Além disso, as alterações do fluxo sanguíneo muscular favorecem a remoção dos metabólitos²⁶ e, associado à diminuição da temperatura e do metabolismo, reduzem a geração de espécies reativas de oxigênio^{6,26,27} e o consequente dano oxidativo^{5,13}, demonstrados no presente estudo pela diminuição da lipoperoxidação. A associação destes mecanismos diminui a sinalização inflamatória, reduzem o edema e atenua a lesão secundária às fibras musculares²⁷, o que foi demonstrado pelas reduções sanguíneas da CK, da PCR e da leucocitose encontradas no estudo. Por outro lado, a IAF após programas de exercícios pode diminuir os processos adaptativos e o desempenho advindos do treinamento físico^{25,27}.

CONCLUSÕES

O presente estudo demonstra que a dosimetria (limites superior de temperatura 15°C e limite inferior de tempo 10 min) da IAF recomendada favorece o equilíbrio redox, atenua a leucocitose e a resposta inflamatória e em especial reduz a DMIT favorecendo a adaptação de iniciantes ao treinamento a ER. Desta forma, pode reduzir o abandono aos programas desses exercícios, em especial em indivíduos iniciantes nesta atividade física.

Agradecimentos

O presente estudo teve o suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver potenciais conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American College Sports Medicine. Progression Models in resistance training for healthy adults. *Med. Sci. Sport. Exerc.* 2009;41:668–708.
2. Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, Peake JM. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev.* 2012;18:42–97.
3. Bessa AL, Oliveira VN, Agostini Guilherme G, Oliveira RJS, Oliveira ACS, White GE, Wells GD, Teixeira DNS, Espindola FS. Exercise intensity and recovery: biomarkers of injury, inflammation, and oxidative stress. *J Strength Cond. Res.* 2016;30:311–319.
4. Sutkowy P., Woźniak A., Boraczyński T, Mila-Kierzenkowska C, Boraczyński M. Postexercise impact of ice-cold water bath on the oxidant-antioxidant balance in healthy men. *Biomed Res Int.* 2015:1–8.
5. Mila-Kierzenkowska C, Jurecka A, Woźniak A, Szpinda M, Augustyńska B, Woźniak B. The effect of submaximal exercise preceded by single whole-body cryotherapy on the markers of oxidative stress and inflammation in blood of volleyball players. *Oxidative Medicine Cell Longev.* 2013;2013:1–10.
6. Bleakley CM, Davison GW. What is the biochemical and physiological rationale for using cold-water immersion in sports recovery? A systematic review. *Br J Sports Med.* 2010;44:179–187.

7. Teixeira ADO, Paulitsch FS, Umpierre MM, Moraes MB, Rosa CE, Signori LU. Inflammatory response after session of resistance exercises in untrained volunteers. *Acta Sci Heal Sci.* 2014;37(1):31–39.
8. Ibrahim MY, Ashour OM. Changes in nitric oxide and free radical levels in rat gastrocnemius muscle during contraction and fatigue. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2011;38:791–795.
9. Cheung K, Hume PA, Maxwell L. Treatment strategies and performance factors. *Sport Med.* 2003;33:145–164.
10. Glasgow PD, Ferris R, Bleakley CM. Cold water immersion in the management of delayed-onset muscle soreness: Is dose important? A randomised controlled trial. *Phys Ther Sport.* 2014;15:228–233.
11. Howatson G, Hoad M, Goodall S, Tallent J, Bell PG, French, Duncan N. Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *J Int Soc Sports Nutr.* 2012;9(20):1-7.
12. Minett GM, Duffield R. Is recovery driven by central or peripheral factors? A role for the brain in recovery following intermittent-sprint exercise. *Front Physiol.* 2014;5:1–9.
13. Lindsay A, Carr S, Cross S, Petersen C, Lewis JG, Gieseg SP. The physiological response to cold water immersion following a mixed martial arts training session. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2017;42(5):529-536..
14. Higgins TR, Greene DA, Baker MK. Effects of cold water immersion and

- contrast water therapy for recovery from team sport: a systematic review and meta-analysis. *J Strength Cond Res.* 2017;31: 1443–1450.
15. Stanley J, Buchheit M, Peake JM, Kondo N. The effect of post-exercise hydrotherapy on subsequent exercise performance and heart rate variability. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112:951–961.
 16. Roberts LA, Muthalib M, Stanley J, Lichtwark G, Nosaka K, Coombes JS, Peake JM. Effects of cold water immersion and active recovery on hemodynamics and recovery of muscle strength following resistance exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2015;309(4):R389-98.
 17. Mawhinney C, Jones H, Low DA, Green DJ, Howatson G, Gregson W.. Influence of cold-water immersion on limb and cutaneous blood flow after exercise. *Eur J Sport Sci.* 2017;17(5):519-529.
 18. Stanley J, Peake JM, Coombes JS, Buchheit M. Central and peripheral adjustments during high-intensity exercise following cold water immersion. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114:147–163.
 19. Frohlich M, Faude O, Klein M, Pieter A, Emrich E, Meyer T. Strength training adaptations after cold-water immersion. *J Strength Cond Res.* 2014;28(9):2628-33.
 20. Machado AF, Almeida AC, Micheletti JK, Vanderlei FM, Tribst MF, Netto Junior J, Pastre CM. Dosages of cold-water immersion post exercise on functional and clinical responses: A randomized controlled trial. *Scand J Med Sci Sport.* 2016;1–8.

21. Machado AF, Ferreira PH, Micheletti JK, de Almeida AC, Lemes ÍR, Vanderlei FM, Netto Junior J, Pastre CM. Can water temperature and immersion time influence the effect of cold water immersion on muscle soreness? A systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2016;46(4):503-14.
22. Peake JM, Roberts LA, Figueiredo VC, Egner I, Krog S, Aas SN, Suzuki K, Markworth JF, Coombes JS, Cameron-Smith D, Raastad T. The effects of cold water immersion and active recovery on inflammation and cell stress responses in human skeletal muscle after resistance exercise. *J Physiol.* 2017;595(3):695-711.
23. Vieira A, Siqueira AF, Ferreira-Junior JB, do Carmo J, Durigan JL, Blazeovich A, Bottaro M. The effect of water temperature during cold-water immersion on recovery from exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med.* 2016;37(12):937-943.
24. Leeder J, Gissane C, van Someren K, Gregson W, Howatson G. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. *Br. J. Sports Med.* 2012;46:233–240.
25. Roberts L, Raastad T, Markworth JF, Figueiredo VC, Egner IM, Shield A, Cameron-Smith D, Coombes JS, Peake JM. Post-exercise cold water immersion attenuates acute anabolic signalling and long-term adaptations in muscle to strength training. *J Physiol.* 2015;593(18):4285-301.
26. Ihsan M, Watson G, Abbiss CR. What are the physiological mechanisms for post-exercise cold water immersion in the recovery from prolonged

- endurance and intermittent exercise? *Sports Med.* 2016;46(8):1095-109.
27. Allan R, Mawhinney C. Is the ice bath finally melting? CWI is no greater than active recovery upon local and systemic inflammatory cellular stress in humans. *J. Physiol.* 2016;595:1857–1858.
 28. Teixeira AO, Franco OS, Borges MM, Martins CN, Guerreiro LF, da Rosa CE, Paulitsch FS, Perez W, da Silva AMV, Signori LU. The importance of adjustments for changes in plasma volume in the interpretation of hematological and inflammatory responses after resistance exercise. *J. Exerc. Physiol.* 2014;17:72–83.
 29. Bleakley C, McDonough S, Gardner E, Baxter GD, Hopkins JT, Davison GW. Cold-water immersion (cryotherapy) for preventing and treating muscle soreness after exercise. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;15;(2):CD008262.
 30. Flann KL, LaStayo PC, McClain DA, Hazel M, Lindstedt SL. Muscle damage and muscle remodeling: no pain, no gain? *J Exp Biol.* 2011;214, 674–9.

Tabelas

Tabela 1. Características clínicas e metabólicas dos voluntários nas diferentes sessões de exercícios resistidos

Variáveis	Sessão Controle (X ± DP)	Sessão IAF (X ± DP)	Valor de p
Colesterol Total (mg/dL)	150,4 ± 30	149,1 ± 33	0,942
Triglicerídeos (mg/dL)	103,6 ± 49	89,3 ± 38	0,320
HDLc (mg/dL)	33,5 ± 6	34,3 ± 7	0,587
LDLc (mg/dL)	94,2 ± 27	93,9 ± 25	0,966
Glicose (mg/dL)	88,8 ± 8	87,3 ± 12	0,624
TGO (U/L)	27,9 ± 5	26,5 ± 6	0,162
TGP (U/L)	30,2 ± 7	29,1 ± 10	0,640
Ácido Úrico (mg/dL)	5,1 ± 0,7	5,1 ± 0,5	0,781
Uréia (mg/dL)	30,4 ± 7	29,8 ± 8	0,543

IAF: Imersão na Água Fria; HDLc: Lipoproteínas de alta densidade, LDLc:

Lipoproteínas de baixa densidade, TGO: transaminase glutâmica oxalacética;

TGP: transaminase glutâmica pirúvica.

Tabela 2. Modificações nos eritrogramas e eletrólitos resultantes das diferentes sessões de exercícios resistidos.

Variáveis	Sessão	Coletas sanguíneas				Valor de <i>p</i>		
		Basal (X ± DP)	0min (X ± DP)	30min (X ± DP)	120min (X ± DP)	Sessões	Tempo	Interação
Hematócrito (mL%⁻¹)	CONT	47,0 ± 2,5	49,1 ± 2,9*	46,8 ± 3,0 [#]	46,4 ± 3,0 [#]	0,727	< 0,001	0,368
	IAF	47,1 ± 2,0	49,0 ± 3,0*	47,3 ± 2,6 [#]	47,3 ± 2,3 [#]			
Eritrócitos (x10⁵.mm⁻³)	CONT	5,1 ± 0,3	5,4 ± 0,4*	5,1 ± 0,3 [#]	5,1 ± 0,4 [#]	0,715	< 0,001	0,273
	IAF	5,2 ± 0,2	5,3 ± 0,3*	5,2 ± 0,3 [#]	5,2 ± 0,3 [#]			
Hemoglobina (g.dL⁻¹)	CONT	15,4 ± 0,9	16,1 ± 1,1*	15,4 ± 1,1 [#]	15,3 ± 1,0 [#]	0,553	< 0,001	0,241
	IAF	15,5 ± 0,6	16,1 ± 0,9*	15,7 ± 0,9 [#]	15,6 ± 0,9 [#]			
Plaquetas (x10³.mm⁻³)	CONT	228 ± 40	270 ± 56*	239 ± 43 ^{*#}	244 ± 42 ^{*#}	0,993	< 0,001	0,825
	IAF	224 ± 35	272 ± 40*	243 ± 37 [#]	242 ± 37 ^{*#}			
Sódio (mEq.L⁻¹)	CONT	139,8 ± 0,9	140,7 ± 2,5	139,8 ± 2,2	139,5 ± 1,9	0,807	0,051	0,849
	IAF	140,2 ± 2,0	140,6 ± 1,4	139,6 ± 1,8	139,8 ± 1,8			
Potássio (mEq.L⁻¹)	CONT	4,5 ± 0,5	4,4 ± 0,4	4,8 ± 0,4 ^{*#}	4,7 ± 0,4 [#]	0,273	< 0,001	0,116
	IAF	4,4 ± 0,4	4,3 ± 0,3	4,4 ± 0,5	4,6 ± 0,4 ^{#§}			
Cálcio (mEq.L⁻¹)	CONT	9,6 ± 0,3	9,7 ± 0,6	9,6 ± 0,5	9,7 ± 0,6	0,841	0,709	0,749
	IAF	9,7 ± 0,4	9,7 ± 0,4	9,6 ± 0,4	9,5 ± 0,5			
Magnésio (mEq.L⁻¹)	CONT	2,0 ± 0,5	2,0 ± 0,4	1,9 ± 0,4	2,0 ± 0,4	0,637	0,194	0,741
	IAF	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,3			

CONT: Controle; IAF: Imersão na Água Fria; **p*<0,05 vs basal; [#]*p*<0,05 vs 0min; [§]*p*<0,05 vs 30min.

Tabela 3. Modificações nos leucogramas após sessões de exercícios resistidos

Variáveis	Sessão	Coletas sanguíneas				Valor de <i>p</i>		
		Basal (X ± DP)	0min (X ± DP)	30min (X ± DP)	120min (X ± DP)	Sessões	Tempo	Interação
Leucócitos Totais (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	6854 ± 1005	8300 ± 1398*	6569 ± 881	8092 ± 1773**§	0.587	< 0.001	0.930
	IAF	7056 ± 1449	8433 ± 1577*	6833 ± 1306	8538 ± 1823**§			
Neutrófilos segmentados (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	3710 ± 820	4690 ± 1062*	3916 ± 757#	5116 ± 1808**§	0.394	< 0.001	0.721
	IAF	4081 ± 1162	4911 ± 1309*	4224 ± 1248#	5745 ± 1580**§			
Neutrófilos jovens (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	73 ± 15	84 ± 15	66 ± 9	128 ± 112**§	0.696	< 0.001	0.878
	IAF	76 ± 21	97 ± 29	73 ± 15	121 ± 63*\$			
Eosinófilos (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	118 ± 75	102 ± 42	86 ± 36	121 ± 84	0.074	0.052	0.766
	IAF	178 ± 90	164 ± 114	149 ± 94	162 ± 107			
Monócitos (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	297 ± 95	429 ± 103*	284 ± 70#	302 ± 104#	0.862	< 0.001	0.864
	IAF	312 ± 71	415 ± 93*	282 ± 72#	319 ± 75#			
Linfócitos (x10 ³ .mm ⁻³)	CONT	2589 ± 502	2989 ± 753*	2216 ± 525**	2471 ± 494#	0.662	< 0.001	0.581
	IAF	2440 ± 490	3040 ± 837*	2190 ± 357#	2265 ± 444#			

CONT: Control; IAF: Imersão na Água Fria. **p*<0,05 vs basal; #*p*<0,05 vs 0min; §*p*<0,05 vs 30min.

Tabela 4. Modificações nos marcadores inflamatórios e parâmetros de estresse oxidativo após sessões de exercícios resistidos

Variáveis	Sessão	Coletas sanguíneas				Valor de <i>p</i>		
		Basal (X ± DP)	0min (X ± DP)	30min (X ± DP)	120min (X ± DP)	Sessões	Tempo	Interação
PCR (mg/dL)	CONT	0,90 ± 0,7	1,13 ± 1,0	1,15 ± 1,1	1,32 ± 1,3*	0,898	0,008	0,430
	IAF	1,01 ± 0,9	1,27 ± 1,43	1,25 ± 1,7	1,19 ± 1,2			
Creatina Kinase (U/L)	CONT	174 ± 66	187 ± 62	199 ± 77*	222 ± 93*#	0,396	<0,001	0,871
	IAF	155 ± 56	164 ± 67	169 ± 76	195 ± 100*#§			
Fibrinogênio (mg/dL)	CONT	280 ± 89	271 ± 103	283 ± 84	287 ± 101	0,631	0,513	0,591
	IAF	271 ± 61	295 ± 35	306 ± 41	295 ± 30			
LPO (ηmol CHP/μL)	CONT	8,8 ± 4	11,8 ± 6	11,2 ± 6	15,6 ± 11*	0,854	0,025	0,069
	IAF	10,2 ± 5	13,2 ± 9	11,2 ± 6	11,0 ± 6			
ACAP (1/(area relative com / sem ABAP))	CONT	0,043 ± 0,04	0,039 ± 0,03	0,040 ± 0,034	0,038 ± 0,03	0,834	0,451	0,414
	IAF	0,042 ± 0,03	0,039 ± 0,02	0,047 ± 0,03	0,045 ± 0,03			

LPO: lipoperoxidação; ACAP: capacidade antioxidante contra o radical peroxil; CONT: Controle; IAF: Imersão na Água Fria. **p*<0,05

vs basal; #*p*<0,05 vs 0min; §*p*<0,05 vs 30min.

Legendas das Figuras

Figure 1. Fluxograma do estudo. IAF: Imersão na Água Fria

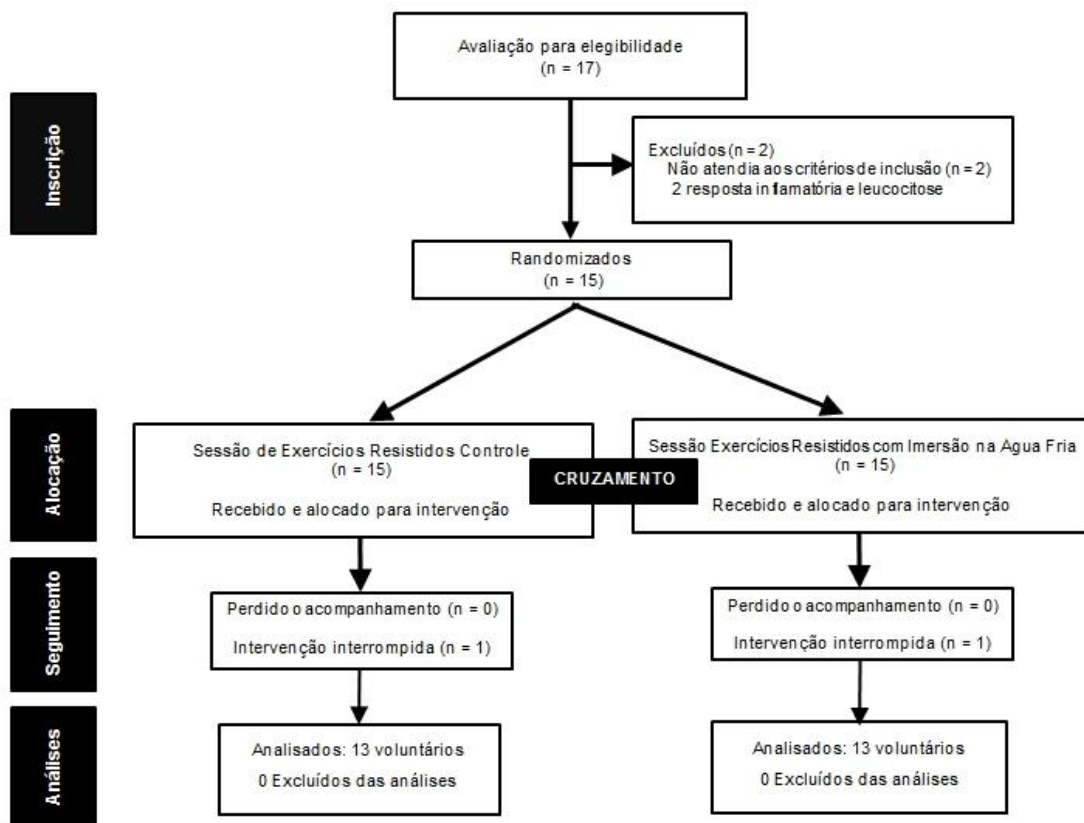
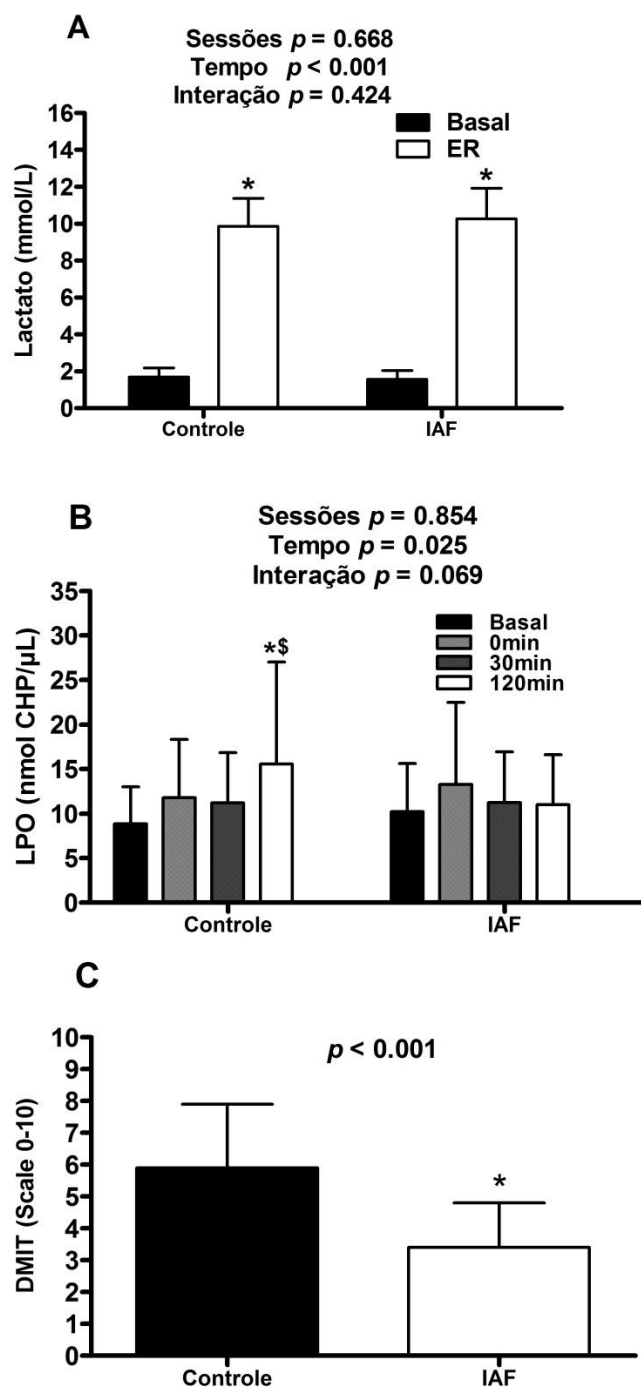


Figura 2. 2A. Alterações no lactato após sessões de exercícios resistidos. **2B.** Alterações na lipoperoxidação após sessões de exercícios resistidos. **2C.** Dor Muscular de Início Tardio (DMIT) avaliada 24 horas após sessões de exercícios resistidos. IAF: Imersão na Água Fria. * $p < 0,05$ vs basal ou Sessão Controle; $\$p < 0,05$ vs 30min.



5 CONCLUSÃO

A presente pesquisa demonstrou os efeitos positivos da hipotermia, realizadas através do banho de imersão em água fria, na resposta inflamatória após sessão de exercícios resistidos em voluntários saudáveis destreinados. Esses efeitos são demonstrados pela menor lipoperoxidação,

diminuição dos marcadores de dano muscular e inflamatórios e, especialmente pela redução da dor muscular de início tardio (DMIT) 24 horas após a realização dos exercícios.

O presente projeto de pesquisa ainda necessita apresentar os resultados dos efeitos isolados dos antioxidantes exógenos, pois a ação isolada dos tocoferóis (vitamina E) e do ácido ascórbico (vitamina C) para amenizar a resposta inflamatória advinda da prática de exercícios resistidos ainda não está bem esclarecida. A ação antioxidante promovida pela vitamina E necessita de outros antioxidantes, em especial a vitamina C, pois atuam como cofatores. Salienta-se ainda que para se otimizar os efeitos antioxidantes dessas vitaminas, as mesmas devem estar biodisponível durante a sua demanda, ou seja, durante a execução dos exercícios, e para isso, a mesma deve ser consumida antes da realização dos mesmos, o que foi desenvolvido no presente projeto.

Destaca-se ainda que o principal aspecto do presente projeto de pesquisa, é ainda estudar a associação entre as vitaminas (C e E) e a hipotermia na resposta inflamatória após os exercícios resistidos em voluntários destreinados. Esses agentes ergogênicos atuam em diferentes mecanismos antioxidantes (endógenos e exógenos) e podem interagir sinergicamente para atenuar a resposta inflamatória e a consequente dor muscular de início tardio após exercícios. Esses efeitos podem diminuir o abandono aos exercícios físicos pelos iniciantes, bem como, sinalizar que a sua utilização por atletas, em condições de competição, podem diminuir a inflamação e melhorar a performance destes.

REFERÊNCIAS

- AL HADDAD H, LAURSEN PB, CHOLLET D, et al. Effect of cold or thermoneutral water immersion on post-exercise heart rate recovery and heart rate variability indices. . **Auton Neurosci** ; 156 : 111-116. 2010.
- AMERICAN COLLEGE SPORTS MEDICINE. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. **Med Sci Sport Exerc.** v.41, p.668-708, 2009.
- AOR, W.Y.; NARTO, Y.; TAKANANN et al. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. **Free Radic Biol Med.**, v.37, p. 480-487, 2004.
- BACHSCHMID, M.; SCHILDKNECHT, S.; ULLRICH, V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. **Biochem Biophys Res Commun**, v.338, p.536-542, 2005.
- BAILEY, D.M.; ERITH, S.J.; GRIFIN, P.J.; DOWSON, A.; BREWER, D.S.; GANT, N.; WILLIAMS, C. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. **Sports Sci.**, v.25, n. 11, p.1163-1170, 2007.
- BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BEAKLEY, C.; MCDONOUGH, S.; MACAULEY, D. The use of ice in the treatment of acute soft-tissue injury. **AmJ SportsMed.** v. 32, p. 251-261, 2004.
- BEAKLEY, C.M.; DAVISON, G.W. What is the biochemical and physiological rationale for using cold-water immersion in sports recovery? A systematic review. **Br J Sports Med** v.44, p. 179-187, 2010.
- BLEAKLEY C, MCDONOUGH S, GARDNER E, et al. Cold-water immersion (cryotherapy) for preventing and treating muscle soreness after exercise. **Cochrane Database Syst Rev** ; 2:CD008262.2012.
- BLOCK, G.; JENSEN, C.D. et al. Effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress in Nonsmokers. **Free Radic Biol Med.**,v. 45, p. 4, p.377-384, 2008.
- BROPHY-WILLIAMS, N.; LANDERS, G.; WALLMAN, K. Effect of immediate and delayed cold water immersion after a high intensity exercise session on subsequent run performance. **J Sports Sci Med.**, v.10, p. 665–670, 2011.
- BURKE, D.G. et al. The Effect of hot or cold water immersion on isometric strength training. **J Strength Cond Res**, v.14, p. 21-5, 2000.
- CARRILO, A.E.; MURPHY, R.J.; CHEUNG, S.S. Vitamin C supplementation and salivary immune function following exercise-heat stress. **Int J Sports Physiol Perform.**, v.3, n. 4, p.516-30, 2008.

CHEUNG, K.; HUME, P.; MAXWELL, L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. **Sports Med.**, v.33, n.2, p.145-64, 2003.

CLARK, R.A.F. Biology of dermal wound repair dermatological clinics. **Invest. Dermatol.**, v.11, p. 647-661.1993.

CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. R. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 44-100, 2001.

CORBETT, J.; BARWOOD, M.J.; LUNT, H.C.; MILNER, A.; TIPTON, M.J. Water immersion as a recovery aid from intermittent shuttle running exercise. **Eur J Sport Sci.**, v.12, p. 509–514, 2011.

CORNELIUS, W.L.; EBRAHIM, K.; WATSON, J.; HILL, D.W. The effects of cold application and modified PNF stretching techniques on hip joint flexibility in college males. **Res Q.**,v.63, p.311–4, 1992.

CRUZAT, V.F.; ROGERO, M.M.; BORGES, M.C.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev. Brás. Méd. Esporte**, v. 13, n.5, p. 336-342, 2007.

CUEVAS, M.J. et al. Changes in oxidative stress markers and NF-kappaB activation induced by sprint exercise. **Free Radic Res.**, v.39, n.4, p. 431-9, 2005.

ESTON, R.; PETERS, D. Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage. **J Sports Sci.**, v. 17, n. 3, p. 231-8, 1999.

FISCHER, C. P. et al. Supplementation with vitamins C and E inhibits the release of interleukin-6 from contracting human skeletal muscle. **J Physiol.**, v.558, n.2, p.633-645, 2004.

FLEMING, I. Cytochrome P450 epoxygenases as EDHF synthase(s). **Pharmacol Res.**, v.49, p. 525-533, 2004.

FREIN, D. et al. Redox regulation: a new challenge for pharmacology. **Biochem Pharmacol.**, v.70, n.6, p.811-823, 2005.

GEORGE BO, OSHARECHIREN OI. Oxidative stress and antioxidant status in sportsmen two hours after strenuous exercise and in sedentary control subjects. **Afr J Biotechnol.** 8(3):480-3. 2009.

GOLDFARB, AH. et al. Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% VO_{2max}. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.**, v.15, p.279-90, 2005.

GULMEZ, O. et al. C-reactive protein levels increase after exercise testing in patients with increased platelet reactivity. **Coron Artery Dis.** p.437-42, 2007.

GLEESON M. Immune function in sport and exercise. **J Appl Physiol.**;103:693-9.2007.

HALLAL PC, ANDERSEN LB, BULL FC, GUTHOLD R, HASKELL W, EKELUND U. Global physical activity levels: Surveillance progress, pitfalls, and prospects. **Lancet**. 2012; **380**(9838): 247–57.

HASKELL, W.L. et al. Physical Activity and Public Health Updated Recommendation for Adults From the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **ACSM/AHA Recommendations**, 2007.

HELLSTEN, Y.; APPLE, F.S.; SJÖDIN, B. Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. **J Appl Physiol.**, v.81, p.1484-7, 1996.

IHSAN M, WATSON G, LIPSKI M, et al. Influence of postexercise cooling on muscle oxygenation and blood volume changes. **Med Sci Sports Exerc**; 45:876–882.2013.

KEATING, T.M.; KENDLER, B.S.; MERRIMAN, W. Evaluation of a possible proximity effect of aspartame and vitamin C on muscular strength. **Percept Mot Skills**. v.98, n.1, p.100-2, 2004.

KEMMLER, W.K.; LAUBER, D.; ENGELKE, K.; WEINECK, J. Effects of single vs. Multiple set resistance training on maximum strength and body composition in trained postmenopausal women. **J Streng Cond Res.**, v.18, n. 4, p. 689-694, 2004.

KING, M.; DUFFELD, R. The effects of recovery interventions on consecutive days of intermittent sprint exercise. **J Strength Cond Res.**, v.23, p.1795-1802, 2009.

KINUGASA, T.; KILDING, A.E. A comparison of post-match recovery strategies in youth soccer players. **J Strength Cond Res.**, v.23, p.1402-1407, 2009.

KUMAR, V. et.; ROBBINS, E. C. **Patologia**. Bases patológicas das doenças. 10. ed. São Paulo: Elsevier, 2010.

LEEDER, J. et al. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: A meta-analysis. **Br J Sports Med.**, v.46, p. 233-240, 2012.

MAWHINNEY, C.; JONES, H.; JOO, C.H.; LOW, D.A.; GREEN, D.J.; GREGSON, W. Influence of cold-water immersion on limb and cutaneous blood flow after exercise. **Med Sci Sports**, v.45, n. 12, p.2277–85, 2013.

MCARTHY, D.A.; DALE, M.M. The leucocytosis of exercise. A review and model. **Sports med.**, v.6, p.333-363, 1988.

MCDERMOTT, B. P.; CASA, D. J.; GANIO, M. S.; LOPEZ, R. M.; YEARGIN, S. W.; ARMSTRONG, L. E.; MARESH, C.M. Acute Whole-Body Cooling for Exercise-Induced Hyperthermia: A Systematic Review. **Journal of Athletic Training**, v.44, n. 1, p. 84–93, 2009.

MCGINLEY, G.; SHAFAT, A.; DONNELLY, A.E. Does antioxidant vitamin supplementation protect against muscle damage? **Sport Med.**, v.39, n.12, p.1011-32, 2009.

MILA-KIERZENKOWSKA, C. et al. Whole-body cryostimulation in kayaker women: a study of the effect of cryogenic temperatures on oxidative stress after the exercise. **J Sports Med Phys Fitness**. v.49, n. 7, p. 201-7, 2009.

NAKHOSTIN-ROOHI, B.; BABAEI, P.; RAHMANI-NIA, F.; BOHLOOLI, S. Effect of vitamin C supplementation on lipid peroxidation muscle damage and inflammation after 30-min exercise at 75% Vo₂max. **J Sports Med Phys Fitness**. V.48, n. 2, p.217-24, 2008.

NEMET, D.; MECKEL, Y.; BAR-SELA, S.; ZALDIVAR, F.; COOPER, D.M.; ELIAKIM, A. Effect of cold-pack application on systemic anabolic and inflammatory response to sprints-interval training: a prospective comparative trial. **Eur J Appl Physiol**, v.107, p. 411-417, 2009.

PADDON-JONES, D.J.; QUIGLEY, B.M. Effect of cryotherapy on muscle soreness and strength following eccentric. **Int J Sport Med**, v.18, n. 8, p.588-93, 1997.

PAULSEN, G.; CRAMERI, R.; BENESTAD, H.B.; FJELD, J.D.; MORKRID, L.; HALLÉN, J.; RAASAD, T. Time Course of Leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v.42, n.1, p.75-85, 2010.

PEAKE, J.M.; ROBERTS, L.A.; FIGUEIREDO, V.C. et al. The effects of cold water immersion and active recovery on inflammation and cell stress responses in human skeletal muscle after resistance exercise. **J Physiol**, v.595, n. 3, p. 695-711, 2017.

PRENTICE, W.E. **Therapeutic Modalities in Sports Medicine**. St. Louis: Times Mirror/Mosby College, 1986.

PRESTES, J. et al. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. **Fit Perf Journal** ; 6(1):32-7. 2007.

RHEA, M.R.; ALVAR, B.A.; BURKETT; L.N.; BALL, S.D. A meta-analysis to determine the dose response for strength development. **Med. Sci. Sports Exerc**. V.35, n. 3, p. 456-464, 2003.

RIETJENS, S. J. M.; BEELEN, R.; KOOPMAN, L. J. C.; VAN LOON, A.; BAST, G. R. M.; HAENEN, M. A Single Session of Resistance Exercise Induces Oxidative Damage in Untrained Men. **Med. Sci. Sports Exerc**, v.40, n.3, p.591, 2008.

ROBERTS, L.A.; MUTHALIB; M.; STANLEY, J. et al. Effects of cold water immersion and active recovery on hemodynamics and recovery of muscle strength following resistance exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.309, n.4, p.389–98, 2015.

SAHNOUN, Z.; JAMOSSI, K.; ZEGHAL, K.M. Free radicals and antioxidants: physiology, human pathology and therapeutic aspects (part II). **Therapie**.v.53, n.4, p. 315-39, 1998.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esport**. 10, n. 4, 2004.

SCHWINGEL, A.; FILHO, D.W.; TORRES, MA, PETROSKI, EL. Exercise session promotes antioxidant changes in Brazilian soccer players. **Biology of Sport**. v. 23, n. 3, p. 255-265, 2006.

SIGNORI, L.U.; PLENTZ, R.D.M.; IRIGOYEN, M.C.; SCHAAN, B.D. O Papel da Lipemia Pós-Prandial na Gênese da Aterosclerose: Particularidades do Diabetes Mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.51, n. 2, p.222-231, 2007.

SMITH LL. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? **J Strength Cond Res**;18:185-193.2004.

SINGH, U.; JIALAL, I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Review Pathophysiology**. v. 42, n.3, p.129-42, 2006.

SUZUKI, K.; NAKAJI, S.; YAMADA, M.; TOTSUKA, M.; SATO, K.; SUGAWARA, K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. **Cytokine kinetics.Exerc Immunol Rev.**, v.8, p. 6-48, 2002.

THOMPSON. D.; BAILEY, D.M.; HILL, J.; HURST, T.; POWELL, J.R.; WILLIAMS, C. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol.**, v.92, p. 133-138, 2004.

THOMPSON, D.; WILLIAMS, C.; MCGREGOR, S.J.; NICHOLAS, C.W.; MCARDLE, F.; JACKSON, M.J. et al. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.**, v.11, p. 466-81, 2001.

TIDBALL, J. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **Am. J. Physiol. Regul. Integr Comp. Physiol.**,v. 288, p. 345-353, 2005.

TIDBALL JG, WEHLING-HENRICKS M. Macrophages promote muscle membrane repair and muscle fibre growth and regeneration during modified muscle loading in mice in vivo. **J. Physiol** 578:327-36. 2007.

TSENG CY, LEE JP, TSAI YS, et al. Topical cooling (icing) delays recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. **J Strength Cond Res**; 27:1354–1361.2013.

TUOMI T, SANTORO N, CAPRIO S, CAI M, WENG J, GROOP L. The many faces of diabetes: A disease with increasing heterogeneity. **Lancet**. 2014; **383**(9922): 1084–94.

VERSEY, N.G.; HALSON, S.L.; DAWSON, B.T. Effect of contrast water therapy duration on recovery of running performance. **Int J Sports Physiol Perform.**, v.7, p.130-140, 2012.

VIEIRA RAMOS, G.; PINHEIRO, C.M.; MESSA, S.P. et al. Cryotherapy reduces inflammatory response without altering muscle regeneration process and extracellular matrix remodeling of rat muscle. **Sci Rep.**,v. 6, p.185-25, 2016.

WANG, J.S.; YEN, H.L.; YANG, C.M. Warm-up exercise suppresses platelet-eosinophil/neutrophil aggregation and platelet-promoted release of eosinophil/neutrophil oxidant products enhanced by severe exercise in men. **Thromb Haemost.** v.95, n. 3, p. 490-498, 2006.

WATERMAN, B. et al. The efficacy of combined cryotherapy and compression compared with cryotherapy alone following anterior cruciate ligament reconstruction. **The Journal of knee surgery**. v.25, n.2, p. 155-160, 2012.

WEGMANN, M.; FAUDE, O.; POPPENDIECK, W.; HECKSTEDEN, A.; FROHLICH, M.; MEYER, T. Pre-cooling and sports performance: A meta-analytical review. **Sports Med.**, v. 42, p. 545-564, 2012.

WILCOCK IM, CRONIN JB, HING WA. Physiological response to water immersion: a method for sport recovery? **Sports Med** ; 36 : 747-765. 2006.

ZALDIVAR F, WANG-RODRIGUEZ J, NEMET D, SCHWINDT C, GALASSETTI P, MILLS PJ, et al. Constitutive pro- and anti- -inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. **J Appl Physiol** 100:1124-33, 2006

ANEXO A - Normas da Revista Brasileira de Medicina do Esporte

Link: <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>

Escopo e Política

A Revista Brasileira de Medicina do Esporte - RBME, órgão oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte (SBMEE), é publicada bimestralmente em seis edições ao ano (jan/fev, mar/abr, maio/jun, jul/ago, set/out e nov/dez). A RBME é indexada nas seguintes bases bibliográficas: SciELO, Web of Science, Excerpta Medica-EMBASE, Physical Education Index, LILACS, SIRC-Sportdiscus, e Scopus.

A publicação segue integralmente o padrão internacional do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), ou Convenção de Vancouver, e seus requisitos de uniformização [<http://www.icmje.org/>].

Taxa de Publicação

Para possibilitar a sustentabilidade e continuidade da RBME, informamos aos autores que a partir de janeiro de 2014 foi instituída uma taxa de publicação de artigos. Os autores são responsáveis pelo pagamento da taxa dos trabalhos aceitos para publicação, que será cobrada do autor correspondente quando o trabalho for aprovado. Após a aceitação do manuscrito comunicada pelo editor-chefe, os autores deverão efetuar um depósito bancário em nome da Associação Brasileira de Medicina do Esporte, CNPJ 30.504.005-0001-12, Banco Bradesco, agência 0449, Conta 0001353-6. O comprovante de depósito deve ser enviado para o e-mail atharbme@uol.com.br mencionando o número de protocolo do trabalho (RBME-0000), o título do artigo e o nome do autor correspondente.

Valores: Para os associados da Sociedade Brasileira de Medicina e do Exercício e do Esporte (SBMEE) o valor corresponde a R\$ 900,00 (US\$ 337) e para não sócios, R\$ 1.150,00 (US\$ 420). Por ocasião da submissão do manuscrito, após completar o cadastro, o autor deve ler e concordar com os termos de originalidade, relevância e qualidade, bem como sobre a cobrança da taxa. Ao indicar ciência destas normas, o manuscrito será registrado no sistema para avaliação.

Formatação de artigos

Recomendações para artigos submetidos à Revista Brasileira de Medicina do Esporte.

Tipo de Artigo	Resumo	Número de palavras**	Referências	Figuras	Tabelas
Original	Estruturado máximo 300 palavras	2.500	30	10	6
Revisão*/ Revisão Sistemática/ Meta-análise	Não estruturado máximo 300 palavras	4.000	60	3	2
Atualização	Não estruturado máximo 300 palavras	4.000	60	3	2

*A convite dos Editores; ** Excluindo resumo, referências, tabelas e figuras.

Forma e preparação de manuscritos

Dupla submissão

Os artigos submetidos à RBME serão considerados para publicação somente com a condição de que não tenham sido publicados ou não estejam em processo de avaliação para publicação em outro periódico, seja na sua versão integral ou em parte. A RBME não

considerará para publicação artigos cujos dados tenham sido disponibilizados na Internet para acesso público. Se houver, no artigo submetido, algum material em figuras ou tabelas já publicados em outro local, a submissão do artigo deverá ser acompanhada de cópia do material original e da permissão por escrito para reprodução do material.

Conflito de interesses

Os autores deverão explicitar qualquer potencial conflito de interesses relacionado ao artigo submetido, conforme determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 102/ 2000) e do Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.595/2000). Esta exigência visa informar aos editores, revisores e leitores sobre relações profissionais e/ou financeiras (como patrocínios e participação societária) com agentes financeiros relacionados a produtos farmacêuticos ou equipamentos envolvidos no trabalho, os quais podem, teoricamente, influenciar as interpretações e conclusões do mesmo. A declaração de conflito de interesses será publicada ao final de todos os artigos.

Bioética de experimentos com seres humanos

A realização de experimentos envolvendo seres humanos deve seguir a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96) disponível em <http://www.conselho.saude.gov.br>, incluindo a assinatura de um Termo de Consentimento Informado e a proteção da privacidade dos voluntários.

Bioética de experimentos com animais

A realização de experimentos envolvendo animais deve seguir resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

Ensaio clínico

A RBME apoia a políticas de registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), reconhecendo a importância destas iniciativas para o registro e divulgação internacional de informação sobre estudos clínicos em acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos Registros de Ensaio Clínico validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE [<http://www.icmje.org/about-icmje/faqs/clinical-trials-registration/>], cujos endereços eletrônicos estão disponíveis na página do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado no texto do artigo.

Revisão por pares (*Peer-review*)

Todos os artigos submetidos serão avaliados, por pareceristas (na modalidade duplo-cego) com experiência e competência profissional na respectiva área do trabalho e emitirão pareceres que serão utilizados pelos editores para decidir sobre a aceitação do mesmo. Os critérios de avaliação dos artigos incluem: originalidade, contribuição relevante para a área, metodologia adequada, clareza e atualidade. Considerando o crescente número de submissões à RBME, artigos serão também avaliados quanto à sua relevância e contribuição para o conhecimento específico na área. Assim, artigos com metodologia adequada e resultados condizentes poderão não ser aceitos para publicação se julgados como sendo de baixa relevância pelos editores. Tal decisão de recusa não estará sujeita a recurso ou contestação por parte dos autores. Os artigos aceitos para publicação poderão sofrer revisões editoriais para facilitar sua clareza e entendimento sem, contudo, alterar o conteúdo.

Correção de provas gráficas

Logo que prontas, as provas gráficas em formato eletrônico serão enviadas por e-mail para o autor correspondente. Os autores deverão devolver, também por e-mail, a prova gráfica com as devidas correções em, no máximo, 48h após o seu recebimento. A medida visa agilizar o processo de revisão e publicação do artigo.

Direitos autorais

Todas as declarações publicadas nos artigos são de inteira responsabilidade dos autores. Entretanto, todo material publicado torna-se propriedade da editora, que passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na RBME poderá ser comercializado sem a permissão por escrito da editora. Todos os autores de artigos submetidos à RBME deverão assinar um Termo de Transferência de Direitos Autorais, que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho.

Preparação de manuscritos

Os artigos submetidos devem ser digitados em espaço duplo, fonte Arial 12 em página tamanho A4, sem numerar linhas ou parágrafos, e numerando as páginas no canto superior direito. Figuras e tabelas devem ser apresentados ao final do artigo em páginas separadas. No corpo do texto deve-se informar os locais para inserção das tabelas ou figuras. Números menores que 10 são escritos por extenso, enquanto que números maiores ou igual a 10 são expressos em algarismos arábicos. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as instruções aos autores em relação a estilo e formato serão devolvidos sem revisão pelo Conselho Editorial.

As medidas deverão ser expressas no Sistema Internacional (*Système International, SI*), disponível em <http://physics.nist.gov/cuu/Units> e unidades padrão, quando aplicável. Recomenda-se aos autores não usar abreviações no título e limitar a sua utilização no resumo e ao longo do texto. Os nomes genéricos devem ser usados para todas as drogas. Os fármacos podem ser referidos pelo nome comercial, porém, deve constar o nome, cidade e país ou endereço eletrônico do fabricante entre parênteses na seção Materiais e Métodos.

Abreviaturas

O uso de abreviaturas deve ser minimizado. As abreviaturas deverão ser definidas por ocasião de sua primeira utilização no resumo e também no texto. Abreviaturas não padrão não devem ser utilizadas, a menos que essas apareçam pelo menos três vezes no texto.

Unidades de medida (3 ml ou 3 mL, e não 3 mililitros) ou símbolos científicos padrão (elementos químicos, por exemplo, Na, e não sódio) não são consideradas abreviaturas, e portanto, não devem ser definidos. Abreviar nomes longos ou substâncias químicas e termos utilizados para combinações terapêuticas. Abreviaturas em figuras e tabelas podem ser utilizadas por razões de espaço, porém devem ser definidas na legenda, mesmo que tenham sido definidas no texto do artigo.

Identificação dos autores

O número ORCID (*Open Research and Contributor ID*, <http://orcid.org/>) de cada um dos autores deve ser informado na declaração de contribuição dos autores, conforme modelo abaixo.

Declaração de contribuição de autores

A declaração da contribuição dos autores deverá ser incluída ao final do artigo com utilização de dois critérios mínimos de autoria, entre eles:

- Contribuição substancial na concepção ou desenho do trabalho, ou aquisição, análise ou interpretação dos dados para o trabalho;
- Redação do trabalho ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- Aprovação final da versão do manuscrito a ser publicado;
- Estar de acordo em ser responsabilizado por todos os aspectos do trabalho, no sentido de garantir que qualquer questão relacionada à integridade ou exatidão de qualquer de suas partes sejam devidamente investigadas e resolvidas;

Todos os artigos deverão incluir a descrição da contribuição dos autores, conforme modelo:

“Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento deste artigo. MJ (0000-0000-0000-0000)*: redação do artigo, revisão e realização das cirurgias; CPV (0000-0002-3904-2836)*: cirurgias, análise dos dados e redação dos artigos; JVC (0000-0003-3910-

714x(0000-0000-0000-0000)*: análise estatística, cirurgias e revisão do artigo; OMA (0000-0000-0000-0000)*: análise das lâminas e revisão do artigo; MASP (0000-0000-0000-0000)*: redação e revisão do artigo e também em todo o conceito intelectual do artigo; ACA (0000-0001-6891-5935)*: cirurgia, redação do artigo, análise estatística e conceito intelectual do artigo e confecção de todo o projeto de pesquisa. *Número ORCID (*Open Researcher and Contributor ID*).”

Formato dos arquivos

Usar editor de texto Microsoft Word para Windows ou equivalente. Arquivos em formato PDF não devem ser enviados. As tabelas e quadros deverão estar em seus arquivos originais (Excel, Acess, Powerpoint, etc.) As figuras deverão estar nos formatos *jpg* ou *tif* em alta resolução (300 dpi). As figuras deverão estar incluídas no arquivo Word, mas também devem ser enviadas separadamente (anexadas durante a submissão do artigo como documento suplementar em seus arquivos originais).

Página de rosto

A página de rosto deve conter (1) a categoria do artigo; (2) o título do artigo em português, inglês e espanhol com até 80 caracteres cada, que deve ser objetivo e informativo; (3) os nomes completos dos autores; instituição; formação acadêmica de origem (a mais relevante); cidade, estado e país; (4) nome do autor correspondente, com endereço completo, telefone e e-mail. A titulação dos autores não deve ser incluída. O nome completo de cada autor (sem abreviações); e sua afiliação institucional (nota: as unidades hierárquicas devem ser apresentadas em ordem decrescente, por exemplo, universidade, faculdade ou instituto e departamento) devem ser informados. Os nomes das instituições e programas deverão ser apresentados preferencialmente por extenso e na língua original da instituição ou na versão em inglês quando a escrita não é latina (p.ex. árabe, mandarim ou grego);

Resumo

O resumo em português, inglês e espanhol deve ser incluído no manuscrito. Em cada um dos idiomas não deve conter mais do que 300 palavras. A versão estruturada é obrigatória nos artigos originais, e inclui objetivos, métodos, resultados e conclusão. Artigos de revisão não requerem resumo estruturado.

Palavras-chave

O artigo deve incluir no mínimo três e no máximo seis descritores em português, inglês e espanhol, baseados nos Descritores de Ciências da Saúde (DeCS) <http://decs.bvs.br/> ou no *Medical Subject Headings* (MeSH) da *National Library of Medicine*, disponível em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html> ou baseados no *Medical Subject Heading* (MeSH), do *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>).

Introdução

A introdução deve conter (1) justificativa objetiva para o estudo, com referências pertinentes ao assunto, sem realizar uma revisão extensa; (2) objetivo do artigo.

Materiais e Métodos

Esta seção deve descrever os experimentos (quantitativa e qualitativamente) e os procedimentos em detalhes suficientes que permitam que outros pesquisadores reproduzam

os resultados ou deem continuidade ao estudo e deverá conter: (1) a descrição clara da amostra utilizada; (2) termo de consentimento para estudos experimentais envolvendo seres humanos; (3) identificação dos métodos, aparelhos (nome do fabricante e endereço, cidade e país devem ser mencionados entre parênteses) e procedimentos utilizados; (4) descrição breve e referências de métodos publicados, mas não amplamente conhecidos; (5) descrição detalhada de métodos novos ou modificados; (6) quando pertinente, incluir a análise estatística e os programas utilizados.

Importante: Ao relatar experimentos com seres humanos ou animais, indicar se os procedimentos seguiram as normas do Comitê Ético sobre Experiências Humanas da instituição

na qual a pesquisa foi realizada, e se os procedimentos estão de acordo com a declaração de Helsinki de 1995 e a *Animal Experimentation Ethics*, respectivamente. Os autores devem incluir uma declaração indicando que o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição (instituição de afiliação de pelo menos um dos autores), com o respectivo número de identificação. Também deve incluir que o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado por todos os participantes.

Resultados

Apresentar os resultados em sequência lógica no texto, usando tabelas e figuras. Evitar repetição excessiva de dados no texto, em tabelas ou figuras, porém, enfatizar somente as descobertas mais importantes.

Discussão

Enfatizar os aspectos originais e importantes do estudo e as conclusões que decorrem deste evitando, porém, repetir dados já apresentados em outras partes do manuscrito. Em estudos experimentais, ressaltar a relevância e limitações dos resultados, confrontando com os dados da literatura e incluindo implicações para estudos futuros.

Conclusões

A conclusão deve ser clara e concisa, baseada nos resultados obtidos, estabelecendo ligação com implicações clínicas evitando, porém, excessiva generalização). A mesma ênfase deve ser dada a estudos com resultados negativos ou positivos. Recomendações podem ser incluídas, quando relevantes.

Agradecimentos

Quando pertinente, incluir agradecimento ou reconhecimento a pessoas que tenham contribuído para o desenvolvimento do trabalho, porém não se qualificam como coautores. Fontes de financiamento como auxílio a pesquisa e bolsas de estudo devem ser reconhecidos nesta seção. Os autores deverão obter permissão por escrito para mencionar nomes e instituições de todos os que receberam agradecimentos nominais.

Referências

As referências devem ser numeradas na sequência em que aparecem no texto, em formato sobrescrito. As referências citadas somente em legendas de tabelas ou figuras devem ser numeradas de acordo com sequência estabelecida pela primeira menção da tabela ou da figura no texto. O estilo das referências bibliográficas deve seguir as regras do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors disponível em Ann Intern Med. 1997;126(1):36-47*<http://www.icmje.org>). Alguns exemplos são mostrados a seguir.. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus (List of Journals Indexed* disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>). Se o periódico não constar dessa lista, deve-se utilizar a abreviatura sugerida pelo próprio periódico. Deve-se evitar utilizar “comunicações pessoais” ou “observações não publicadas” como referências. Resumos de trabalhos apresentados em eventos devem ser utilizados somente se for a única fonte de informação.

Exemplos:

1) Artigo padrão em periódico

Deve-se listar todos os autores até seis. Neste caso, incluir os seis primeiros autores, seguidos por *et al.* You CH, Lee KY, Chey RY, Mrnguy R. Electrocardiographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology*. 1980;79(2):311-4. Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, *et al.* Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet*. 1989;1(8634):352-5.

2) Autor institucional

The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet*. 1977;2(8041):742-4.

3) Livro com autor(es) responsável (is) por todo o conteúdo

Armour WJ, Colson JH. Sports injuries and their treatment. 2nd ed. London: Academic Press; 1976.

4) Livro com editor(es) como autor(es)

Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlag; 1988.

5) Capítulo de livro

Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders; 1974. p.457-72.

6) Material eletrônico

Autor (es). Título do artigo. Título do periódico abreviado [suporte]. Data de publicação [data de acesso com a expressão “acesso em”]; volume (número): páginas inicial-final ou [número de páginas aproximado]. Endereço eletrônico com a expressão “Disponível em:” Exemplo: Pavezi N, Flores D, Perez CB. Proposição de um conjunto de metadados para descrição de arquivos fotográficos considerando a Nobrade e a Sepiades. Transinf. [Internet]. 2009 [acesso em 2010 nov 8]; 21(3):197-205. Disponível em: <http://periodicos.puc-campinas.edu.br/seer/index.php/transinfo/article/view/501>

Tabelas

As tabelas devem ser elaboradas em espaço 1,5 devendo ser planejadas para ter como largura uma (8,7cm) ou duas colunas (18 cm). Cada tabela deve possuir um título sucinto. Notas explicativas serão incluídas em notas de rodapé. A tabela deve conter médias e medidas de dispersão (Desvio Padrão, Erro Padrão da Média, etc.), não devendo conter casas decimais irrelevantes. As abreviaturas devem estar de acordo com aquelas utilizadas no texto e nas figuras. Os códigos de identificação de itens da tabela devem estar listados na ordem de surgimento no sentido horizontal e devem ser identificados pelos símbolos padrão. Os quadros e tabelas deverão ser enviados através dos arquivos originais editáveis (Word, Excel) e não como imagens.

Figuras

Na versão impressa da RBME serão aceitas figuras em preto-e-branco. Imagens coloridas poderão ser publicadas quando forem essenciais para o conteúdo científico do artigo. Nestes casos, o custo será repassado aos autores. Figuras coloridas poderão ser incluídas na versão eletrônica do artigo sem custo adicional aos autores. Os desenhos e figuras devem ser consistentes e tão simples quanto possível, porém informativos. Tons de cinza não devem ser utilizados. Todas as linhas devem ser sólidas. Para gráficos de barra, por exemplo, utilizar barras brancas, pretas, com linhas diagonais nas duas direções, linhas em xadrez, linhas horizontais e verticais. A RBME desaconselha fortemente o uso de fotografias de equipamentos e animais de experimentação. As figuras devem ser impressas com bom contraste e ter a largura de uma coluna (8,7cm). Utilizar no mínimo fonte tamanho 10 para letras, números e símbolos, com espaçamento e alinhamento adequados. Quando a figura representar uma radiografia ou fotografia, sugerimos incluir a escala de tamanho, quando pertinente.

Por favor, note que é de responsabilidade dos autores obter permissão do detentor dos direitos autorais para reproduzir figuras (ou tabelas) que tenham sido previamente publicados em outras fontes. De acordo com os princípios do acesso aberto, os autores devem ter permissão do detentor dos direitos, caso desejem incluir imagens que tenham sido publicados em outros periódicos de acesso não aberto. A permissão deve ser indicada na legenda da figura, e a fonte original deve ser incluída na lista de referências.

Tipos de artigos**Artigo original**

A RBME aceita todo tipo de pesquisa original nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte, incluindo pesquisas com seres humanos e pesquisa experimental. O artigo deve conter os seguintes itens: Resumo estruturado, Palavras-chave, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões.

Artigos de revisão

Artigos de revisão são usualmente encomendados pelo editor a autores com experiência comprovada na área. Estes expressam a experiência do autor e não devem refletir apenas uma revisão da literatura. Artigos de revisão deverão abordar temas específicos com o objetivo de atualizar os leitores com temas, tópicos ou questões específicas nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido e o comprovado destaque dos autores na área específica abordada. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem passar por revisão por pares.

Revisão sistemática/atualização/meta-análise

A RBME encoraja os autores a submeter artigos de revisão sistemática da literatura nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca bibliográfica, os critérios para inclusão dos artigos e o tratamento estatístico utilizado. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem passar por revisão por pares.

Envio de manuscritos

Todos os artigos deverão ser submetidos diretamente no site <http://submission.scielo.br/index.php/rbme>. Na submissão eletrônica do artigo, os autores deverão anexar como documentos suplementares: (1) Termo de Divulgação de Potencial Conflito de Interesses; (2) Termo de Transferência de Direitos Autorais. Não serão aceitas submissões por e-mail, correios ou quaisquer outras vias que não a submissão eletrônica no site mencionado.

A partir de janeiro de 2008 a RBME adota o Sistema SciELO de Publicação e Submissão online disponível em <http://submission.scielo.br/index.php/aob/index>. Os autores deverão seguir as instruções de cadastro e incluir os artigos no próprio sistema.

Caso necessite de esclarecimentos adicionais, favor entrar em contato com a Atha Comunicação e Editora. Rua Machado Bittencourt, 190, 4º andar - Vila Mariana, 04044-000 São Paulo, SP, Brasil. atharbme@uol.com.br Telefone +55 11 5087 9502 com Ana Carolina de Assis/Arthur T. Assis.