PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO

APLICAÇÃO REGULAR DA IMERSÃO EM ÁGUA FRIA APÓS SESSÕES DE TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE NÃO ALTERA O DESEMPENHO, ADAPTAÇÕES INTRAMUSCULAR E A RECUPERAÇÃO

ELVIS DE SOUZA MALTA

Março - 2022

Bauru/SP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO

TESE DE DOUTORADO

APLICAÇÃO REGULAR DA IMERSÃO EM ÁGUA FRIA APÓS SESSÕES DE TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE NÃO ALTERA O DESEMPENHO, ADAPTAÇÕES INTRAMUSCULARES E A RECUPERAÇÃO

ELVIS DE SOUZA MALTA

PROF. DR. ALESSANDRO MOURA ZAGATTO (ORIENTADOR)

Tese apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista – Unesp, Câmpus de Bauru, como parte dos requisitos para obtenção do Título de doutor em Ciências do Movimento.

Março - 2022

Bauru/SP

M261a

Malta, Elvis de Souza
Aplicação regular da imersão em água fria após sessões de treinamento intervalado de alta intensidade não altera o desempenho, adaptações intramuscular e a recuperação / Elvis de Souza Malta. -- Bauru, 2022
105 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientadora: Alessandro Moura Zagatto

1. Crioterapia. 2. Recuperação muscular. 3. Desempenho. 4. Treinamento de endurance. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Bauru

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE ELVIS DE SOUZA MALTA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 01 dias do mês de abril do ano de 2022, às 08:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de ELVIS DE SOUZA MALTA, intitulada **"APLICAÇÃO REGULAR DA IMERSÃO EM ÁGUA FRIA APÓS SESSÕES DE TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE NÃO ALTERA O DESEMPENHO, ADAPTAÇÕES INTRAMUSCULAR E A RECUPERAÇÃO"**. A Comissão Examinadora foi constituida pelos seguintes membros: Prof. Dr. CARLOS MARCELO PASTRE (Participação Virtual) do(a) Departamento de Fisioterapia / UNESP - Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP, Prof. Dr. FÁBIO SANTOS DE LIRA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Educação Física / Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente, Prof. Dr. WLADIMIR RAFAEL BECK (Participação Virtual) do(a) UFSCAr - Universidade Federal de São Carlos, Profa. Dra. ANABELLE SILVA CORNACHIONE (Participação Virtual) do(a) Departamento de Ciências Fisiológicas / Universidade Federal de São Carlos, Prof. Dr. ENRICO FUINI PUGGINA (Participação Virtual) do(a) Escola de Educação Física e Esporte / Câmpus de Ribeirão Preto da USP, Prof. Dr. ALESSANDRO MOURA ZAGATTO (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências de Bauru. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, odiscente recebeu o conceito final APROVADO . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. CARLOS MARCELO PASTRE

O presente projeto tem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Processo n° 2017/21724-8

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do autor e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me guiar até aqui e me dar força nas horas difíceis.

Aos meus pais Maria Tereza e Elvecio e meus irmãos Ana Paula e Lennon pelo carinho e esforço apesar da distância. À minha namorada Bruna, por me apoiar durante todos esses anos. Amo vocês!

Ao meu orientador Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto pela oportunidade de estar aqui e pelos ensinamentos ao longo da iniciação científica, mestrado e doutorado.

Aos membros e ex-membros do LAFIDE, Gabriel Brisola, Rodrigo de Poli, Fabio Milioni, Luan Roncada, Matheus Favoreto, Gabriel Claus, Joel Gonzales, Willian Miyage, Bárbara Antunes, Gabriel Slomp, Yago Dutra, Paulo Redkva, João Fialho, Julia Faustini, Paloma Mendonça e Vithor Fialho, pela parceria no dia-a-dia e pela ajuda durante as coletas desse e de outros projetos.

Ao Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck e seus alunos Vinicius, Nick e Taciane pelo suporte e ensinamentos durante minha passagem pela UFSCar - São Carlos/SP.

À Profa. Dra. Anabelle Silva Cornachione e sua aluna Emilly também pelo suporte e ensinamentos na UFSCar - São Carlos/SP.

Ao Prof. Dr. Marcelo Papotti e seu aluno Daniel Cerri por permitirem o uso de seus equipamentos e pelos conselhos e ensinamentos na USP - Ribeirão Preto/SP.

A todos os meus voluntários e amigos que participaram da pesquisa. A médica Daniela Moraes de Franco Seda pela disponibilidade e parceria ao longo da pesquisa.

Aos funcionários da Unesp – Bauru pelo auxílio no dia-a-dia e pelos favores nas horas de dificuldade.

RESUMO

O objetivo da presente tese foi investigar o efeito do uso regular de imersão em água fria (IAF) associada ao treinamento físico sobre adaptações intramusculares, recuperação e no desempenho. A tese foi dividida em duas partes [estudo de revisão (parte I) e experimental (parte II)]. A parte I teve como objetivo revisar sistematicamente o efeito do uso regular da IAF associada ao treinamento resistido (desempenho de força) e treinamentos contínuo e intervalado (desempenho em exercícios de endurance) sobre desempenho físico. A parte II, conduzida em um desenho experimental, objetivou avaliar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) sobre adaptações intramusculares [*pool* células satélites, expressão de coativador 1 α do receptor ativado por proliferador de peroxissoma γ (PGC-1α) e proporção de fibras musculares], recuperação [marcadores sistêmicos de dano, dor, variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e desempenho neuromuscular], respostas cardiorrespiratórias e desempenho. Na revisão sistemática foi realizada uma busca em bases de dados e incluídos estudos controlados, com humanos, com IAF (≤ 15°C) associada ao treinamento e avaliações de linha de base e Pós treinamento. Na etapa experimental, 16 voluntários realizaram avaliações de linha de base e Pós 5 semanas de HIIT (teste incremental e corrida até exaustão) associadas à IAF (n = 9) ou não (controle, n = 7). Biópsias musculares foram realizadas antes e após o programa de HIIT para quantificação do *pool* de células satélites, expressão de PGC-1α e tipagem de fibras. Ao longo treinamento foram monitoradas a carga interna da sessão e a recuperação (desempenho em saltos, dor, marcadores sistêmicos de dano muscular e VFC). Foi verificada na revisão uma diminuição no ganho de força ao associar IAF ao treinamento resistido nas variáveis de força máxima e resistência de força [média padronizada da diferença (SMD) geral = − 0,60] e no desempenho dos esforços balísticos (SMD geral = − 0,61). Por outro lado, o treinamento contínuo e intervalado associado à IAF não alterou a potência média no *time-trial*, potência aeróbia máxima no teste incremental (SMD geral = −0,07) ou duração do *time-trial* (SMD geral = 0,00). No estudo experimental, a IAF não alterou a quantidade de células satélites, a expressão de PGC-1α e a proporção de tipo de fibra muscular ($p \geq 0,312$). Além disso, a IAF não alterou a carga interna e recuperação ao longo das sessões ($p > 0,05$). Ainda, não houve mudança em parâmetros cardiorrespiratórios e no desempenho ($p \geq 0,221$). Portanto, o uso regular da IAF não afetou os ganhos de desempenho quando associada ao HIIT, além de não alterar as adaptações cardiorrespiratórias, intramusculares e parâmetros de recuperação ao longo das sessões, embora parece mitigar o ganho de força do treinamento resistido.

Palavras-chave: Crioterapia; Recuperação muscular; Desempenho; treinamento de *endurance*.

ABSTRACT

REGULAR COLD-WATER IMMERSION AFTER HIGH-INTENSITY INTERVAL TRAINING SESSIONS DOES NOT ALTER PERFORMANCE, INTRAMUSCULAR ADAPTATIONS AND RECOVERY

The aim of the present thesis was to investigate the effect of the regular use of cold-water immersion (CWI) after physical training on intramuscular adaptations, recovery and performance. The thesis was divided into two parts [review study (part I) and experimental study (part II)]. Part I aimed to review the effect of CWI regular use associated to resistance training, continuous and interval training on performance. Part II aimed to evaluate the effect of 5-weeks of CWI after high-intensity interval training (HIIT) sessions on intramuscular adaptations (satellite cell pool, Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator [PGC-1α] expression and type I and IIa fibers proportion), recovery (markers of muscle damage, pain, heart rate variability and neuromuscular performance), internal session load, maximal oxygen uptake and performance. In the review, a computerized search was performed in databases and were included controlled studies with humans, that has associated CWI (≤ 15°C) to training programs and Pre and Post training assessments. In the experimental study, 16 volunteers performed Pre and Post 5-week HIIT assessments (incremental test and maximal continuous test) associated with CWI or not (control). Muscle biopsies were performed before and after the HIIT program for quantification of satellite cells pool, PGC-1α expression and muscle fiber typing. During training, the internal load of the sessions and recovery (vertical jumps, pain, systemic muscle damage markers and autonomic response) were monitored. In the review study, CWI after resistance training decreased gains in maximum strength, maximum isometric strength and strength resistance (overall standardized mean of difference [SMD] = − 0.60), as well as for the performance of ballistic efforts (overall SMD = −0.61). On the other hand, CWI performed during continuous and interval training not affected time-trial performance (mean power), maximal aerobic power (overall SMD = −0.07), or time-trial duration (overall SMD = −0.07). 0.00). In the experimental study, CWI did not change the satellite cells pool, the PGC-1α expression and the proportion of muscle fiber type ($p \geq 0.312$). Still, there were no changes in cardiorespiratory and running performance gains ($p \geq 0.221$). Therefore, the regular use of IAF does not affect performance gains in continuous and interval training, in addition to not altering cardiorespiratory and intramuscular adaptations and recovery parameters throughout the sessions, however, it seems to mitigate the strength gain of resistance training.

Key-words: Cryotherapy; Muscle recovery; Performance; endurance training.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do processo de identificação, triagem, análise e seleção nos artigos incluídos no estudo de revisão.....25

Figura 2. Resultados individuais e resumidos para risco de viés dos estudos incluídos.....26

Figura 3. *Forest plot* ilustrando a comparação entre IAF e a condição controle para parâmetros de força..... 32

Figura 4. *Forest plot* ilustrando a comparação entre IAF e a condição controle para parâmetros de *endurance*.....33

Figura 5. Desenho experimental.....41

Figura 6. SVCM e sistema de aquisição de sinal.....44

Figura 7. Escala analógica de dor..... 46

Figura 8. Sistema utilizado para realização da IAF e manutenção da temperatura da água..... 46

Figura 9. Etapas da biópsia muscular e da preparação das amostras coletadas..... 47

Figura 10. Etapas do ensaio de imunofluorescência.....49

Figura 11. Carga da interna das sessões de HIIT mensurada por meio das respostas de PSI e FC dos grupos controle e IAF.....52

Figura 12. Consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2max}$) e menor velocidade associada ao $\dot{V}O_{2max}$ ($v\dot{V}O_{2max}$) determinados no teste incremental máximo..... 54

Figura 13. Desempenho no teste de corrida até a exaustão expresso em tempo (s) e delta percentual (Δ%).....57

Figura 14. Contagem de células satélites (PAX-7) relativizada pelo número de fibras e imagens ilustrativas do processo de identificação.....60

Figura 15. Densidade óptica da PGC-1α relativizada pelo número de fibras e imagens ilustrativas do processo de identificação..... 61

Figure 16 Tipagem das fibras musculares dos grupos IAF e controle na linha de base e nos momentos Pós (I e II) expresso em valores percentuais e *fold change*.....62

Figura 17. Concentração sanguínea de CK e LDH (*fold change*).....63

Figura 18. Dor muscular de início tardio (DOMS) ao longo do programa de treinamento expresso em percentual de diferença em relação ao momento S1 (Δ%).....63

Figura 19. Desempenho no salto vertical contra movimento (SVCM) expresso em percentual de diferença em relação ao momento S1 (Δ%).....65

Figura 20. Médias semanais de rMSSD, LF, HF, razão LF:HF, SD1 e SD2 expresso em Δ para os grupos controle e IAF.....66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características e resultados dos estudos incluídos.....28
Tabela 2. Progressão configurações das sessões de HIIT.....43
Tabela 3. Características antropométricas dos voluntários.....50
Tabela 4. Parâmetros cardiorrespiratórios, metabólicos e PSE de exaustão no teste incremental máximo.....55
Tabela 5. Parâmetros cardiorrespiratórios, metabólico e PSE no teste de corrida até exaustão.....58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CENTRAL	*Cochrane Central Register of Controlled Trials*
CK	Creatina quinase
Δ%	Delta percentual
DOMS	Dor muscular de início tardio
FC	Frequência cardíaca
HF	Alta frequência
HIIT	Treinamento intervalado de alta intensidade
IAF	Imersão em água fria
IL	Interleucina
IC95%	Intervalos de confiança de 95%
[La-]	Concentração de lactato
LDH	Lactato desidrogenase
LF	Baixa frequência
LF:HF	Razão entre LF e HF
MAP	Potência aeróbia máxima
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
PAX-7	Proteína de caixa emparelhada 7
PGC-1α	Coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
PSE	Escala de percepção subjetiva de esforço
p	Valor de p
QR	Quociente respiratório
RM	Repetição máxima
rMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes

SD1	Desvio padrão perpendicular à linha de identidade
SD2	Desvio padrão paralelo à linha de identidade
SIT	Treinamento de sprints repetidos
SMD	Média padronizada da diferença
SVCM	Salto vertical contramovimento
TDF	Taxa de desenvolvimento de força
TNF-α	Fatores de necrose tumoral alfa
$\dot{V}CO_2$	Volume expirado de dióxido de carbono
$\dot{V}E$	Ventilação pulmonar
$\dot{V}O_2$	Consumo de oxigênio
$\dot{V}O_{2max}$	Consumo máximo de oxigênio
$v\dot{V}O_{2max}$	Menor velocidade associada ao consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO....3
1.1. Imersão em água fria – IAF....4
1.1.1. Efeitos agudos da IAF....6
1.1.1.1. Efeito agudo da IAF sobre respostas hemodinâmicas e na VFC..6
1.1.1.2. Efeitos agudos da IAF na inflamação e células satélites....8
1.1.1.3. Efeitos agudos da IAF na DOMS....11
1.1.1.4. Efeitos agudos da IAF no desempenho....12
1.1.2. Efeitos do uso regular da IAF....13
1.1.2.1. Programas de treinamento de resistido....14
1.1.2.2. Programas de treinamento contínuo e intervalado....15
2. FORMULAÇÃO DO PROBLEMA E LACUNA CIENTÍFICA....18
3. OBJETIVO....20
3.1. Objetivo geral....20
3.2. Objetivo específico....20
4. HIPÓTESE....21
5. CAPITULO I. ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA....22
5.1. Métodos....22
5.1.1. Extração de dados....23
5.1.2. Avaliações de Qualidade e Risco de Viés....23
5.2. Análise estatística....24
5.3. Resultados....24
5.4. Discussão....34
5.5. Conclusão da parte I....38
6. CAPITULO II. ESTUDO EXPERIMENTAL....39
6.1. Métodos....39
6.1.1. Voluntários....39
6.1.2. Critérios de inclusão e exclusão....39
6.1.3. Desenho experimental....40
6.1.4. Avaliações da linha de base e Pós treinamento....41
6.1.4.1. Teste incremental máximo....41
6.1.4.2. Teste de corrida até exaustão....42
6.1.5. Treinamento intervalado de alta intensidade – HIIT....42

6.1.6. Monitoramento da recuperação.....43
6.1.6.1. Desempenho neuromuscular: SVCM.....43
6.1.6.2. Respostas autonômicas: VFC.....44
6.1.6.3. Dano muscular: concentração sanguínea de CK e LDH.....45
5.1.6.4. DOMS: escala visual analógica.....45
6.1.7. Imersão em água fria – IAF.....46
6.1.8. Biópsia muscular.....47
6.1.9. Análise das amostras de tecido muscular.....48
6.2. Análise estatística.....49
6.3. Resultados.....50
6.3.1. Teste incremental máximo e teste de corrida até a exaustão.....53
6.3.2. Adaptações intramusculares.....59
6.3.3. Monitoramento da recuperação.....62
6.4. Discussão.....67
6.5. Conclusão da parte II.....71
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....72
8. REFERÊNCIA.....73
9. ANEXOS.....83
9.1. Anexo I – Termos de consentimento.....83
9.2. Anexo II – TCLE.....86
9.3. Anexo III – Comprovante de publicação da Parte I.....91

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Esforços físicos realizados de forma aguda são caracterizados por induzirem estresse ao organismo, principalmente à musculatura ativa, sendo a magnitude deste estresse dependente das características do esforço, tal como intensidade e volume (KUIPERS, 1998). Embora o praticante do esforço físico experimente algumas respostas psicofisiológicas hostis e comuns no processo de estímulo-recuperação, a longo prazo este causará adaptações benéficas ao desempenho físico (COFFEY; HAWLEY, 2007). No entanto, para que um programa de treinamento culmine de fato em adaptações benéficas deve haver um equilíbrio entre estímulo e recuperação uma vez que o estresse físico excessivo pode levar à prejuízos nas adaptações (KUIPERS, 1998).

De uma perspectiva prática, podemos conceituar a recuperação como a capacidade de atender ou superar o desempenho em uma determinada atividade e, portanto, tem como seu principal indicador o desempenho físico (BISHOP; JONES; WOODS, 2008). A recuperação pode ser subdividida em "imediata" e "curta" (*immediate* e *short-term recovery*) que acorrem dentro do próprio esforço ou entre séries e diferentes exercícios (ambas previstas na prescrição de uma sessão isolada de exercício), respectivamente. Além disso, existe a chamada "recuperação do treinamento" (*training recovery*) que ocorre entre sessões de treinamento ou competições repetidas e é prevista principalmente no planejamento ou periodização de um programa de treinamento (BISHOP; JONES; WOODS, 2008).

Como mencionado anteriormente, a recuperação do treinamento é vital para que estímulos repetidos exerçam efeitos benéficos, no entanto, é comum em programas de treinamento a ocorrência de intervalos curtos entre sessões ao longo do próprio programa e durante períodos competitivos (BISHOP; JONES; WOODS, 2008). Nessas circunstâncias, pode haver um tempo inadequado para que haja uma recuperação do seu estado fisiológico e psicológico ideal antes do próximo compromisso. Além disso, cabe destacar que mesmo com períodos de recuperações adequados, pode ser comum o surgimento de distúrbios deletérios associados a sobrecargas repetidas, como a dor e a sensação de fadiga muscular, que podem comprometer a "qualidade" do treinamento (JONES et al., 2008).

Portanto, melhorar o processo de recuperação em tais situações pode ser vantajoso, por esse motivo, métodos de recuperação muscular são utilizados no âmbito esportivo como recursos estratégicos para acelerar a recuperação muscular após sessões de treinamento e/ou durante competições (BARNETT, 2006; REILLY; EKBLOM, 2005). Os métodos de recuperação variam de descanso e sono à estratégias nutricionais, como suplementação, as modalidades mecânicas, como a massagem, recuperação ativa e alongamento (BARNETT,

2006). Nesse contexto, recentemente a imersão em água fria (IAF) tem sido amplamente utilizada por iniciantes, atletas amadores e atletas elite visando potencializar a recuperação e garantir uma qualidade do treinamento satisfatória (VERSEY; HALSON; DAWSON, 2013).

1.1. Imersão em água fria - IAF

Imersão do corpo em meios líquidos à baixa à temperatura não é algo recente, por séculos esse método foi utilizado por civilizações gregas e romanas visando benefícios para saúde. Hipócrates (460 - 377 a.C.), pai da medicina, narra em seus registros que usava a terapia com água fria para diminuir o "cansaço", enquanto que Thomas Jefferson (1743 – 1826 d.C.), de forma similar, reportou que durante décadas submergiu seus pés em água fria todas as manhãs para "Manter sua boa saúde". Nesse contexto, os médicos John Floyer e James Currie são os pioneiros na utilização concreta da IAF para o tratamento de doenças específicas no século XVIII, embora o potencial da IAF na recuperação após sessões de exercício físico datam de meados do século XX com os estudo de David H. Clarke (CLARKE, 1963; TIPTON et al., 2017).

A IAF, como procedimento terapêutico, se enquadrada, juntamente com outros procedimentos, como um tipo crioterapia ou "terapia por frio". A crioterapia pode ser definida como qualquer forma de aplicação de substâncias que levem ao resfriamento dos tecidos para fins terapêuticos (STEINAGEL, 1996). Além da IAF, dentro desse grupo podemos destacar a aplicação de compressas geladas (gelo, gel e outras substância) e a terapia com ar frio em crio-câmaras (GALIUTO; REVIEW, 2016). Diferente dos demais métodos, a AIF consiste na imersão do corpo ou membros em água à baixa temperatura, e dessa forma, a IAF adiciona novos componentes à terapia tal como a pressão gerada pela água no membro submerso, também conhecida com pressão hidrostática; além da possibilidade de uma maior manipulação da temperatura do procedimento (WILCOCK; CRONIN; HING, 2006). Essas diferenças fazem com que os mecanismos associados aos efeitos da IAF sejam ligeiramente diferentes em comparação aos outros métodos.

Durante a IAF são observadas algumas alterações fisiológicas primárias (diretamente relacionadas ao procedimento) que podem desencadear alguns efeitos indiretos (IHSAN et al., 2016). No entanto, todos esses mecanismos se iniciam após o resfriamento da musculatura, que é um dos principais princípios ativos da IAF. Ao submergir o corpo em água fria a temperatura da pele pode diminuir em ~15° C e o *Core* em ~0,1° C (IAF: 8° C durante 2×5 minutos), sendo que imediatamente após a IAF é observada diminuição significativa de ≈4° C da temperatura da musculatura à uma profundidade de 1 cm (GREGSON et al., 2011; IHSAN et al., 2013).

Além disso, a temperatura parece afetar a parte mais interna da musculatura mesmo após o término da IAF. Gregson et al. (2011) verificaram que a temperatura da musculatura à 3 cm de profundidade não sofria diminuições significativas imediatamente após o termino da IAF (IAF: 8° C durante 2×5 minutos), no entanto, 30 minutos após o procedimento foi verificada diminuição de ~2° C nessa mesma profundidade. Portanto, a IAF é capaz de diminuir superficialmente a temperatura do membro submerso e, possivelmente, regiões mais profundas recebam parte desse resfriamento em menor magnitude.

O resfriamento por meio da interação com a água ou ambientes frios pode desencadear uma série de regulações autonômicas mediada pelo sistema nervoso central visando manter a temperatura ideal em zonas vitais (tórax, abdômen e cabeça) e garantir uma maior eficiência na conservação da temperatura (TIPTON et al., 2017). Esse processo é conhecido como termorregulação e a rápida resposta ocorre devido a velocidade ao qual a aferência de neurônios entregam as informações ao hipotálamo (OSILLA; MARSIDI; SHARMA, 2018). De forma isolada, a baixa temperatura da pele em decorrência à exposição a um ambiente de baixa temperatura, como a IAF, é detectada por termorreceptores periféricos que são terminações nervosas livres e não mielinizadas (fibras aferentes do tipo C), que enviam disparos ao o sistema nervoso central (BASBAUM et al., 2009). Algumas respostas eferentes são desencadeadas visando a produção e conservação de calor, sendo a vasoconstrição periférica e a termogênese (produção de calor pelo corpo por ou sem tremor) as mais comuns durante a IAF (OSILLA; MARSIDI; SHARMA, 2018).

A vasoconstrição vem sendo amplamente argumentada como justificativa para alguns efeitos da IAF, a mesma tem como principal objetivo diminuir o fluxo sanguíneo para a periferia, principalmente próximo à superfície do tecido, diminuindo assim a troca de calor com ambiente externo que, consequentemente, aumenta o fluxo de sangue em regiões vitais e mais sensíveis às variações de temperatura para o seu adequado funcionamento (TIPTON et al., 2017). Além da vasoconstrição desencadeada pelo processo de termorregulação e que ocorre necessariamente em todos os métodos classificados como crioterapia, a IAF pode gerar a compressão mecânica da região submersa, o que produz respostas adicionais semelhantes a vasoconstrição, contudo em menor magnitude (TIPTON et al., 2017). Essa compressão ocorre devido à pressão hidrostática, que é aquela em que um fluido exerce contra a superfície do objeto submerso. Dadas as características físicas da pressão hidrostática e partindo do princípio que o fluído utilizado e a gravidade são estáveis, a principal forma de manipular a pressão hidrostática é por meio da alteração da profundidade do da imersão, o que implica diretamente no posicionamento do corpo dentro da água (IAF sentado ou em pé). Embora não possamos

desconsiderar, os efeitos da pressão hidrostática são secundários e marginais em comparação com a vasoconstrição induzida pela IAF.

Além desses mecanismos, tem sido sugerido que minutos após a IAF pode ocorrer em alguns indivíduos um comportamento contrário de vasodilatação chamado de vasodilatação induzida por frio ou vasodilatação reflexa (DAANEN, 2009; MEKJAVIC; DOBNIKAR; KOUNALAKIS, 2013). Embora seja uma hipótese muito conhecida, os fundamentos por trás desse fenômeno fisiológico causado pela termorregulação são baseados em imersão de pequenas porções do corpo (um dedo, por exemplo) e não é consenso que isso ocorra em grande escala durante a IAF. Além disso, tem sido sugerido que esse fenômeno aconteça principalmente em temperatura muito baixas 5-8° C, o que está fora da zona usualmente utilizada nos procedimentos de IAF (10-15° C) (MEKJAVIC; DOBNIKAR; KOUNALAKIS, 2013).

Cabe ressaltar ainda que os efeitos da IAF podem variar de acordo com algumas características físicas da pessoa e procedimentais do método, tal como tecido adiposo subcutâneo percentual de gordura, área da superfície corporal, temperatura da água, profundidade da imersão e tempo de exposição (CHAUVINEAU et al., 2021; MACHADO et al., 2016; PEIFFER et al., 2009; STEPHENS et al., 2018).

1.1.1. Efeitos agudos da IAF

A vasoconstrição e a compressão induzida pela IAF podem afetar várias respostas fisiológicas importantes quando aplicadas após sessões de exercício, tais como alterações hemodinâmicas (FUCHS et al., 2020; GREGSON et al., 2011; IHSAN et al., 2013; MAWHINNEY et al., 2013, 2017), respostas autonômicas cardíacas (BASTOS et al., 2012), na resposta inflamatória (BROPHY-WILLIAMS; LANDERS; WALLMAN, 2011; EARP et al., 2019), respostas psicofisiológicas, tal como a dor e percepção de fadiga (MACHADO et al., 2016), e o processo de reparo muscular (ROBERTS et al., 2015b).

1.1.1.1. Efeito agudo da IAF sobre respostas hemodinâmicas e na VFC

Alguns estudos reportam diminuição da perfusão de sangue para o músculo após a utilização da IAF, evidenciada pela diminuição no fluxo sanguíneo e na condutância arterial (GREGSON et al., 2011; MAWHINNEY et al., 2013, 2017). A diminuição da perfusão de sangue para o músculo pode gerar diminuições no aporte de nutrientes (FUCHS et al., 2020) e saturação de oxigênio (IHSAN et al., 2013) e, consequentemente, diminuir a atividade metabólica da região resfriada (IHSAN et al., 2013).

Corroborando com as respostas periféricas (microcirculação), em nível central é observada diminuição da frequência cardíaca (FC), volume sistólico e débito cardíaco durante e após uma sessão aguda de exercício resistido seguida de IAF nos membros inferiores (10 minutos; 10° C) (ROBERTS et al., 2015a). Além disso, devido ao aumento na resistência vascular periférica, é observado também o aumento na pressão arterial sistólica e diastólica após sessões de exercício intervalado de alta intensidade seguidas de IAF (5 minutos; 14,5° C) em comparação com a recuperação passiva (YANG et al., 2019). Essas respostas podem ser interpretadas como parte das respostas da termorregulação visando diminuir o fluxo na microcirculação muscular e favorecer a circulação no *Core*. Além disso, no estudo de Roberts et al. (2015a), citado anteriormente, a diminuição da FC, volume sistólico e débito cardíaco em decorrência da IAF foi acompanhada de aumento na retomada parassimpática após a sessão aguda de exercício resistido.

O sistema nervoso autônomo é um importante regulador da atividade dos órgãos internos durante e após uma sessão aguda de exercício. No início do exercício, a atividade parassimpática diminui, seguida de aumento da atividade simpática. Durante o período pós-exercício, há uma rápida reativação parassimpática seguida de uma retirada simpática mais gradual (AUBERT; SEPS; BECKERS, 2012). O equilíbrio entre a atividade simpática e parassimpática é uma característica da regulação cardiovascular-autonômica, que é um índice importante da recuperação global do corpo (BUCHHEIT, 2014). Em síntese, uma rápida reativação da resposta parassimpática promovida pela IAF após uma sessão aguda de exercício pode significar um estado de recuperação mais positivo, propiciando, por exemplo, menores quedas no desempenho em situações de alta periodicidade de estresse físico.

A análise das respostas do sistema nervoso autônomo após o exercício vem sendo realizada por meio do monitoramento das oscilações no intervalo entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos R-R), também chamada de variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Por meio do monitoramento dos intervalos R-R é possível calcular índices no domínio do tempo e da frequência que quantificam de forma indireta a atuação parassimpática e simpática, tal como a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos R-R (rMSSD), baixa frequência (LF), alta frequência (HF), razão entre HF e LF (HF:LF), desvio padrão perpendicular à linha de identidade do *plot de Poincaré* (SD1) e o desvio padrão paralelo à linha de identidade do *plot de Poincaré* (SD2). De modo geral, dentre estes índices, o aumento dos valores de rMSSD, SD1, SD2 e HF podem indicar maiores atuações parassimpáticas, por outro lado, o aumento dos valores de LF podem indicar menor atuação parassimpática, sendo a razão HF:LF um indicador do balanço simpático-vagal (SHAFFER e GINSBERG, 2017).

Vários estudos reportam o efeito da IAF sobre as respostas autonômicas, por exemplo, Almeida et al. (2016) verificaram aumento da resposta parassimpática monitorada por meio do registo da VFC (aumento da rMSSD) após um esforço agudo seguido da IAF. De forma semelhante, Buchheit et al. (2009) também verificaram rápida reativação parassimpática em um grupo submetido à sessão aguda de exercício seguido de IAF.

Apesar de não ser um consenso na literatura, sugere-se que a vasoconstrição induzida pela pressão hidrostática (interação da profundidade da água com o membro submerso) e baixa temperatura da água (respostas aferentes desencadeadas por termorreceptores) podem favorecer a redistribuição do fluxo sanguíneo da periferia para as regiões centrais e aumentar o débito cardíaco via aumento do volume sistólico (GABRIELSEN; JOHANSEN; NORSK, 1993; IHSAN et al., 2016; JOHANSEN et al., 1997; PARK; CHOI; PARK, 1999). Juntas essas alterações ativam os barorreflexos cardiopulmonares e arteriais, inibindo a atividade simpática e acelerando a reativação parassimpática (IHSAN et al., 2016). Uma questão a ser considerada é se a IAF altera os indicadores oriundos da VFC de forma isolada ou se as alterações desses indicadores se refletem em melhorias de componentes importantes para a recuperação. *A priori*, estudos prévios parecem indicar que de fato essas alterações de parâmetros da VFC induzidas pela IAF são associadas com melhoras em outros indicadores, tal como a diminuição da dor muscular, percepção da recuperação (L'HERMETTE et al., 2020) e qualidade do sono (HADDAD et al., 2012). Portanto, a IAF parece ser uma forma simples e eficaz de potencializar a recuperação global monitorada por meio de resposta autonômica, no entanto, ainda não estão claras as implicações desse efeito a longo prazo.

1.1.1.2. Efeitos agudos da IAF na inflamação e células satélites

Após sessões de exercício que induzam determinados graus de estresse na musculatura ativa é iniciada uma série de processos visando retornar aquela musculatura às suas condições originais. Células imunes como os neutrófilos e macrófagos são muito importantes nesse processo, pois são responsáveis por fagocitar estruturas danificadas e mediar algumas respostas de reparo na musculatura (PEAKE et al., 2017). Todas essas respostas inflamatórias são acompanhadas do aumento da concentração de citocinas pró e anti-inflamatórias no tecido e no sangue, como de interleucinas, uma vez que essas estruturas são responsáveis por coordenar todas essas reações (PETERSEN; PEDERSEN, 2005). Sugere-se que esforços físicos acompanhados de sessões de IAF podem promover diminuição do processo inflamatório (BANFI et al., 2009; EARP et al., 2019), fazendo com que a resolução inflamatória aconteça com maior velocidade.

No estudo de Earp et al. (2019) verificaram diminuição significativa na concentração sanguínea de interleucina 6 (IL-6) e de fatores de necrose tumoral alfa (TNF-α) mensuradas após uma sessão de exercício resistido seguido de IAF (15 minutos; 15° C). Similarmente, Banfi et al. (2009), após a realização de sessões de treinamento específicas de *Rugby* (sessões submáximas e máximas) seguidas de crioterapia em todo o corpo em câmara fria (30 segundo; -60° C), verificaram diminuição da concentração sanguínea de marcadores pró-inflamatórios acompanhado de aumento de marcadores anti-inflamatórios. Por outro lado, em um estudo do nosso grupo, verificamos que a IAF de membros inferiores (10 minutos; 10° C) realizada após um esforço de alta intensidade em cicloergômetro não altera a concentração sanguínea de interleucina 10 (IL-10) e TNF-α em comparação com outros métodos (MALTA et al., 2019). De forma similar, na revisão sistemática com meta-análise de Hohenauer et al. (2015), foi verificado que a IAF não alterou significativamente a concentração sanguínea de IL-6.

Cabe ressaltar ainda que a maioria dos estudos que investigaram os efeitos da IAF sobre marcadores inflamatórios analisam a concentração sistêmica dos mesmos (EARP et al., 2019; HOHENAUER et al., 2015; MALTA et al., 2019), e esses podem não refletir a inflamação intramuscular (talvez a mais suscetível aos efeitos da IAF). Ramos et al. (2016) verificaram reduções benéficas nos processos inflamatórios intramusculares, tal como a diminuição expressão intramuscular de TNF-α, fator nuclear κB, fator de crescimento transformador β, metaloproteinases da matriz 9 e percentual de macrófagos após dano muscular induzido seguido de crioterapia em ratos (compressa de gelo; 3 aplicações de 30 minutos a cada 2 horas). Lee et al. (2005) em um estudo *in vitro* observaram que tecidos musculares lesionados e em seguida resfriados apresentavam um menor número de rolamentos e adesões de leucócitos nas paredes endoteliais, que são etapas que compõem o processo de infiltração dessas células no músculo. Apesar de não estar totalmente elucidado, esse efeito do resfriamento do tecido na infiltração de leucócitos pode estar associado à diminuição da expressão ou inibição das moléculas de adesão em neutrófilos, tal como a molécula de adesão intercelular-1 e a E-selectina (HADDIX et al., 1996; ISHIKAWA et al., 1999). Portanto, esses resultados fortalecem o argumento de que a inflamação sistêmica não é o melhor cenário para testar a efetividade da IAF e que esse método pode afetar positivamente o processo inflamatório no músculo, no entanto, é importante considerar que existem muitos resultados controversos na literatura.

Além do aumento da concentração de citocinas em nível sistêmico, sessões de exercício que induzam um certo grau de dano na musculatura podem levar a um aumento na concentração sanguínea de marcadores de danos muscular, como, por exemplo, a CK e a LDH. A CK e a LDH são enzimas presentes no músculo, onde têm como principais funções catalisar a

conversão reversível da creatina para criar fosfocreatina e a redução do piruvato em lactato, respectivamente. No entanto, após esforços intensos podem ocorrer a desorganização e descontinuidade do sarcômero e com lesões na membrana da fibra ocorrer o extravasamento da CK e a LDH para o meio extracelular e corrente sanguínea, podendo a concentração sistêmica dessas enzimas indicar o nível de lesão causada ao músculo (BRANCACCIO; LIPPI; MAFFULLI, 2010). Por esse motivo, além de marcadores inflamatórios, vários estudos têm utilizado dessa ferramenta para testar a eficácia da IAF. Por exemplo, Fonseca et al. (2016) verificaram uma diminuição significativa da concentração sanguínea de LDH 24 horas após uma sessão de treinamento de Jiu-Jitsu seguido de IAF em comparação com o grupo controle. De forma similar, Siqueira et al. (2018) também verificaram diminuição da concentração sanguínea de CK após uma sessão aguda de exercício pliométrico (protocolo de indução a lesão) seguida de IAF (20 minutos; 10° C). No entanto, cabe salientar que esses efeitos nem sempre são verificados na literatura (ESTON; PETERS, 1999; MALTA et al., 2019).

Além das respostas inflamatórias o processo de reparo da musculatura danificada durante o exercício é de suma importância para que o músculo retorne ao seu estado original e ocorram as adaptações e/ou alterações estruturais induzidas pelo exercício (TEN BROEK; GREFTE; VON DEN HOFF, 2010). Agudamente essa resposta miogênica se inicia através da ativação de células satélites, que são pequenas células quiescentes localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal do músculo. As células satélites podem ser ativadas por moléculas produzidas pela contração e/ou dano muscular, tal como o fator de crescimento de hepatócito, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, fator de crescimento de fibroblasto básico e IL-6. Uma vez ativadas as células satélites passam por processos de proliferação e diferenciação mediados por fatores de regulação miogênica, tal como a PAX-7, fator miogênico 5, proteína 1 para determinação de mioblastos e miogenina, que culminará no reparo da região danificada. Dentre os fatores de regulação miogênica, a expressão de PAX-7 é apontada como um dos principais fatores para identificação de uma célula satélite ativa (TEN BROEK; GREFTE; VON DEN HOFF, 2010).

Agudamente tem sido investigado se a IAF poderia de alguma forma diminuir a ativação de células satélites após sessões de exercícios, o que poderia ter repercussões negativas à logo prazo. Nesse contexto Roberts et al. (2015b) realizaram uma sessão aguda de treinamento resistido seguido de uma sessão de IAF e verificaram uma diminuição significativa no número de células satélites ativas 24 e 48 h após o exercício determinada por meio da análise da expressão de PAX-7 e molécula de adesão celular neural. No entanto, a expressão de miogenina produzida principalmente no processo de diferenciação das células satélites parece não ser

afetada pela IAF (PEAKE et al., 2020). Portanto, apesar de existirem poucos indícios até o momento, e desses achados focarem principalmente em exercícios resistidos, a IAF aparece diminuir agudamente o processo de ativação e, possivelmente, de proliferação de células satélites e esse efeito pode estar associado à diminuição da expressão de mediadores inflamatórios e hormônios responsáveis pela sua ativação.

1.1.1.3. Efeitos agudos da IAF na DOMS

A dor muscular é produzida por meio da ativação de nociceptores localizados principalmente no tecido conjuntivo da região miotendínea, pois é a região com maior densidade desses receptores no músculo. A dor é desencadeada por estímulos potencialmente danosos e resulta em sensações subjetivamente interpretadas como desagradáveis (dolorosas), sendo que a DOMS é aquela que surge dias após o estimulo (24 à 48 h) (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2012). Essa via pode ser iniciada por traumas, sobrecargas excessivas e também ativadas por mediadores endógenos da inflamação, tal como bradicinina, serotonina e prostaglandina E2 (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2012; MENSE, 2008). A DOMS está estritamente relacionada com limitações funcionais geradas por perdas na capacidade contrátil e efeitos protetivos, que por sua vez podem prejudicar o desempenho físico (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2012).

Embora os efeitos da IAF sobre marcadores biomoleculares de inflamação não estejam totalmente esclarecidos, a sua eficácia na diminuição da DOMS já é bem estabelecida na literatura (MACHADO et al., 2016), paradoxalmente, algumas investigações associam esses efeitos da IAF sobre a DOMS ao um maior controle da inflamação (MACHADO et al., 2016). Nos estudos de Elias et al. (2012, 2013) foram realizadas sessões de IAF após partidas de futebol e sessões de treinamento de futebol australiano e foram verificadas diminuições significativas da DOMS em comparação com os grupos controle. Corroborando esses achados, Bailey et al. (2007) submeteram seus participantes à 90 minutos de corrida intermitente seguidas de IAF (10 minutos à 10° C) e também verificaram uma diminuição significativa na DOMS 1, 24, e 48 horas após a realização do esforço físico. Ainda, Machado et al. (2016) após a compilação de vários resultados em sua revisão sistemática com meta-análise concluíram que a IAF tem de fato efeitos benéficos sobre a DOMS, principalmente, quando configurada à 11-15° C durante 11-15 minutos. Os efeitos benéficos da IAF sobre a DOMS são bastante robustos, o que não está totalmente elucidado são os mecanismos pro trás desses efeitos e, principalmente, se a longo prazo essa diminuição poderia trazer benefícios no ganho de desempenho ou na qualidade das sessões de treinamento.

1.1.1.4. Efeitos agudos da IAF no desempenho

Após intensas sessões de treinamento ou competições é comum diminuição do desempenho, seja pela inflamação local, aumento da dor e percepção de fadiga muscular ou menor disponibilidade de substrato (PEAKE et al., 2017). Mesmo em programas de treinamento com um bom planejamento das cargas ou exercícios com pouco foco em contrações do tipo excêntrica (caracterizada por induzir um maior grau de dano à musculatura) é comum o surgimento desses sintomas. Nesse contexto, a IAF tem sido aplicada antes, entre e após esforços alvos, tal como competições e sessões de treinamento, visando pré condicionar, manutenir e acelerar a recuperação do desempenho físico (CHOO et al., 2018; VAILE et al., 2011; WHITE; RHIND; WELLS, 2014).

Existem indícios de que o pré resfriamento ou condicionamento do corpo por meio da IAF e outros métodos de crioterapia antes de um esforço físico pode gerar efeitos benéficos no desempenho (CHOO et al., 2018; QUOD; MARTIN; LAURSEN, 2006). Assim como a ingestão de água fria (CHOO et al., 2018), esse potencial efeito ergogênico da IAF é explorado principalmente em ambientes com alta temperatura, umidade e longa duração visando retardar o surgimento da fadiga por questões associadas ao estresse térmico (ROSS et al., 2013). Booth, Marino e Ward (1997) investigaram o efeito da IAF antes de um esforço de 30 minutos (temperatura no momento da teste: 32° C). Esses autores verificaram um aumento significativo na distância percorrida no teste no grupo submetido pré resfriados com IAF (aumento ~300 metros). Além disso, devido menor estresse térmico ao longo do exercício, foi observada uma diminuição de 9 e 10% da FC no 5° e 10° minutos do esforço, respectivamente. Corroborando esses achados, Duffield et al. (2010) verificaram uma melhora significativa no desempenho em uma prova de 40 minutos em ciclo ergômetro com "intensidade livre" (*self-paced exercise intensity*) realizada à 33° C de temperatura. Portanto, apesar de ser sugerida principalmente para ambientes quentes, a IAF pode ser uma boa ferramenta de pré condicionador antes de provas longas onde a temperatura parece exercer grande influência no desempenho. Cabe destacar que esses resultados não devem ser extrapolados para provas curtas de alta intensidade, uma vez que a IAF pode diminuir momentaneamente aspectos importantes para um desempenho satisfatório nesse tipo de exercício, tal como a diminuição da velocidade de condução nervosa e da contração muscular (MACEDO et al., 2014) e na propriedade elástica do tecido (VINCENT; TIPTON, 1988).

Por outro lado, existem poucos estudos que se propuseram a investigar a utilização da IAF ao entre provas ou sessões de treinamento consecutivas sobre o desempenho físico (VAILE

et al., 2008a, 2011). A premissa desse modo de utilização é aplicar a IAF durante intervalos, tempos técnicos ou pausas de um esforço alvo com objetivo de manutenir o desempenho ao retorno ao exercício. Portanto, assim como no pré condicionamento, a aplicabilidade da IAF ao longo do exercício ocorre principalmente em ambientes quentes, onde o estresse térmico poderia prejudicar a manutenção da tarefa realizada, seja ela intensidade, *pace*, cadência, entre outros. Nesse contexto, Vaile et al. (2011) submeteram seus voluntários a uma sessão de 35 minutos em intensidade *all-out* em cicloergômetro, uma sessão de IAF e em seguida repetiram o esforço realizado previamente. Esses autores verificaram que a IAF impediu a queda no desempenho no segundo esforço, o que não aconteceu com o grupo controle. Em um desenho experimental semelhante Vaile et al. (2008b) também verificaram que a IAF promove a manutenção do desempenho quando realizada entre duas sessões de exercício. Cabe destacar que as aplicações práticas para esse modo de uso são inúmeras, tal como modalidades em que o atleta realiza várias provas em curtos intervalos (por exemplo, lutas) ou até mesmo em modalidades que possuam intervalos relativamente longos entre tempos como o futebol.

Por último e talvez mais importante, a utilização da IAF após sessões de exercício é uma das formas mais populares de aplicação desse método e têm sido foco das principais investigações sobre o tema (VERSEY; HALSON; DAWSON, 2013; WILCOCK; CRONIN; HING, 2006). O objetivo principal por trás da aplicação da IAF após sessões de exercício é potencializar a recuperação do desempenho à curto e médio prazo. Embora muitas vezes conflitantes, vários estudos têm apontado a eficácia da IAF em acelerar o processo de recuperação do desempenho e isso vêm sendo concluído por meio da análise do desempenho em contrações isométricas e dinâmicas máximas, saltos verticais, desempenho em *sprints* e desempenho em testes de corrida e ciclismo em diferentes configurações (VERSEY; HALSON; DAWSON, 2013).

A aceleração da recuperação do desempenho utilizando a IAF após a sessão alvo de exercício está associada, possivelmente, ao maior controle da inflamação e, consequentemente, à diminuição da DOMS, da percepção de fadiga muscular e aumento da percepção de recuperação global (EARP et al., 2019; MACHADO et al., 2016; PAROUTY et al., 2010; STANLEY et al., 2012).

1.1.2. Efeitos do uso regular da IAF

Com base nos efeitos sobre a recuperação do desempenho, recentemente tem sido investigado se o uso regular da IAF poderia culminar em maiores adaptações e ganhos de desempenho, uma vez que associando a IAF ao treinamento haveria um ganho substancial na

qualidade das sessões (BROATCH; PETERSEN; BISHOP, 2017; ROBERTS et al., 2015b; YAMANE et al., 2006; YAMANE; OHNISHI; MATSUMOTO, 2015). No entanto, o que tem se verificado na literatura são resultados deletérios ou nulos do uso regular da IAF sobre os ganhos de desempenho. Além disso, esse efeito do uso regular da IAF parece ser tarefa dependente, ou seja, diferentes resultados são encontrados em treinamentos resistido e treinamento que visam a melhora da aptidão aeróbia (treinamentos contínuos e intervalados), por exemplo.

1.1.2.1. Programa de treinamento resistido

Em um dos primeiros estudos sobre o tema Yamane et al. (2006) investigaram em dois estudos dentro de um mesmo artigo (estudos III e IV) se quatro semanas de treinamento resistido (3×semana) de membros superiores (exercícios em *handgrip*, 3 séries de 8 repetições, para ambos estudos) associadas à sessões de IAF (20 min à 10 ± 1° C, para ambos estudos) poderia alterar os ganhos no desempenho desses voluntários. Contraditoriamente, esses autores verificaram uma diminuição significativa no ganho de desempenho em resistência de força (número de repetições em flexão do punho) apenas no grupo submetido regularmente à IAF. Anos depois, alguns desses mesmos autores (YAMANE; OHNISHI; MATSUMOTO, 2015) associaram quatro semanas de IAF (20 min à 10 ± 1 °C) a um programa de treinamento resistido (flexão de punho, 5 séries de 8 repetições à 70-80% de uma repetição máxima [1RM]) e verificaram novamente um prejuízo no ganho de força isométrica máxima no grupo submetido a IAF.

Por outro lado, Fröhlich et al. (2014) investigaram a associação do cinco semanas de treinamento resistido (1-3×semana) composto por exercícios unilaterais de extensão da perna (3 séries de 8-12 repetições à 75-80% 1RM) seguido de sessões de IAF após todas as sessões de treinamento em uma das pernas (3 × 4 min à ~12,0 °C). No que tange ao desempenho, neste caso não foram verificados aumentos nem diminuições significativas de 1RM em extensão de joelho. No entanto, cabe destacar que houve tendência de diminuição no ganho de desempenho no grupo submetido regularmente à IAF ($p = 0,08$; percentual de mudança entre grupo para 1RM: 1,6 %).

Dentre os estudos que investigaram este tema, apenas dois testaram o efeito do uso regular da IAF sobre o treinamento resistido e se propuseram a analisar alterações intramusculares por meio de biópsias musculares (FYFE et al., 2019; ROBERTS et al., 2015b). Roberts et al. (2015b) associaram 12 semanas de treinamento resistido (extensões e flexões das pernas e exercícios pliométricos; 3-6 séries de 8-12 repetições) à sessões de IAF (10 min à 10,1

± 0,3 °C) e verificaram prejuízos significativos no ganho de desempenho em testes de 1RM (extensão de joelho e *Leg press*), força isométrica máxima de extensão de joelho e na taxa de desenvolvimento de força em extensão de joelho, apenas no grupo submetido regularmente a IAF. Além no prejuízo no ganho de desempenho, a IAF retardou e/ou inibiu agudamente a atividade de células satélites (mencionado em tópicos anteriores) e suprimiu a fosforilação de proteínas associadas com a hipertrofia, resultando em uma diminuição do ganho de massa magra.

De forma similar, Fyfe et al. (2019) associaram sete semanas de treinamento resistido (extensores e flexores dos membros inferiores e superiores, abdominais, agachamento e supino; 3-5 séries de 12-20 repetições à 12-20RM) à sessões de IAF (15 min à 10 °C) e também não verificaram alterações significativas no ganho de desempenho em 1RM de membros inferiores e superiores e em esforços balísticos (flexão balística e SVCM). Apesar de nenhum prejuízo no desempenho, por meio da análise do tecido muscular coletado foi verificado que a IAF inibiu a hipertrofia da fibra muscular induzida pelo treinamento de resistido, potencialmente através da redução do anabolismo da proteína do músculo esquelético e aumento do catabolismo.

1.1.2.2. Programa de treinamento contínuo e intervalado

Apesar de existirem vários indícios dos efeitos deletérios da IAF sobre o ganho de desempenho quando associado ao treinamento resistido, os achados ainda são escassos no que se refere aos modelos de treinamentos com foco em adaptações oxidativas (treinamento contínuos em intensidade moderada e intervalados de alta intensidade). O estudo de Yamane et al. (2006), que também investigou o efeito a IAF no treinamento resistido, talvez tenha sido o primeiro estudo a investigar o efeito do uso regular da IAF associada ao treinamento contínuo. No estudo I de sua investigação, Yamane et al. (2006) associaram a IAF (2 × 20 min à 5 ± 1 °C) à quatro semanas de treinamento contínuo em cicloergômetro (25 minutos à 70% da intensidade de consumo máximo de oxigênio - $\dot{V}O_{2max}$)) e verificaram diminuições significativas nos ganhos de desempenho em teste incremental máximo (potência aeróbia máxima - MAP) e no $\dot{V}O_{2max}$ (. De forma muito similar, no estudo II, esses autores (YAMANE et al., 2006) associaram o mesmo treino no estudo anterior à IAF (20 min à 5 ± 1 °C) durante seis semanas e também verificaram que a IAF diminuiu significativamente os ganhos no teste incremental máximo em cicloergômetro (MAP e $\dot{V}O_{2max}$). Contrapondo esses resultados, Halson et al. (2014) compararam a IAF (15 min à 15 ± 3 °C) realizada regularmente após cinco semanas de treinamento (treinamento de *sprints* repetidos e esforços específicos da modalidade)

com a recuperação passiva e verificaram que o grupo submetido a IAF não obteve ganhos adicionais no desempenho em provas em tempo fixo de 10 min.

Apenas dois estudos investigaram os efeitos da associação da IAF ao HIIT sobre o ganho de desempenho e analisaram adaptações intramusculares por meio biópsia muscular (AGUIAR et al., 2016; BROATCH; PETERSEN; BISHOP, 2017). Nesse sentido, Aguiar et al. (2016) associaram a IAF (15 min à 10 ± 1 °C) à quatro semanas de HIIT em cicloergômetro (1 min esforço × 75 s de intervalo) e também não verificaram nenhuma alteração no ganho de desempenho em provas de 15 km, na MAP e $\dot{V}O_{2max}$ em teste incremental máximo. Nas amostras de tecido muscular, o uso regular de IAF não promoveu alterações significativas no conteúdo de proteína de choque térmico 72 kDa (Hsp72), proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e proteína quinase ativada por mitógeno p38 fosforilada (p-p38 MAPK). Por outro lado, esses autores verificaram aumentos significativos na expressão de fator de choque térmico-1, fator de transcrição mitocondrial A, proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina e piruvato desidrogenase quinase, que indicam melhorias na capacidade oxidativa muscular e estresse celular á nível de mRNA.

Por outro lado, Broatch, Petersen e Bishop (2017) também associaram a IAF (15 min à 10 °C) à seis semanas de treinamento de *sprints* repetidos em cicloergômetro (4-6 séries de sprints [30 s]) e também não verificaram nenhuma alteração no ganho de desempenho em provas de 2-20 km, na MAP e $\dot{V}O_{2max}$ em teste incremental máximo. Nas amostras de tecido muscular, a AIF após uma única sessão de treinamento não alterou a expressão de mRNA de AMPK, proteína p53 e p-p38 MAPK e de coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PGC-1α). Deforma crônica, a IAF não promoveu nenhuma alteração no conteúdo intramuscular de proteínas associados a biogêneses mitocondrial (PGC-1α, por exemplo) em comparação ao grupo controle, resultados em consonância com a respostas agudas e com a não alteração no ganho de desempenho.

Existem ainda na literatura alguns estudos que investigaram os efeitos do uso regular da IAF associada aos treinamentos contínuos e intervalados sobre adaptações intramusculares relacionadas ao metabolismo aeróbio, porém sem análises das possíveis interferências no ganho de desempenho físico. No estudo de Ihsan et al. (2015), por exemplo, submeteu seu voluntários a 4 semanas de HIIT em esteira (3-12 séries de 0,5-8 min à 80-100% $\dot{V}O_{2max}$) seguido de sessões de IAF. Após a análise das amostras musculares foi verificado um aumento significativo no conteúdo intramuscular de AMPK, Acetil-CoA carboxilase fosforilada e de proteínas do complexos I-V da cadeia respiratória. Além disso, foi verificada tendência de aumento do

conteúdo intramuscular de PGC-1α e p38 (*cohen's d*: 0,99 e 1,02 [*efeito grande*]; p > 0,079). Todos esses resultados indicam um aumento na biogênese mitocondrial no grupo submetido à IAF em comparação com o grupo controle. Apesar desses resultados, como mencionado anteriormente, nessa investigação os autores não avaliaram o reflexo dessas melhorias no ganho de desempenho, uma vez que a IAF ou condição controle eram realizadas ao mesmo tempo em pernas diferentes de uma mesma pessoa.

Christiansen et al. (2018) investigaram o efeito do uso regular da IAF (15 min à 10 °C) associada à seis semanas de treinamento de *sprints* repetidos (4-6 séries de sprints [30 s]) sobre o conteúdo de proteínas associados ao influxo de potássio do interstício muscular para o músculo. Esses autores verificaram que IAF não altera as adaptações induzidas pelo treinamento nas proteínas responsáveis pelo transporte de potássio independentemente do tipo de fibra analisado (fibras do tipo I e II). No entanto, cabe ressaltar que esses autores não avaliaram os efeitos do uso regular da IAF sobre ganhos de desempenho físico.

De forma geral, apesar de existirem algumas controversas da literatura, os resultados apontados até aqui parecem indicar que a associação da IAF aos treinamentos contínuos e intervalados exerce efeitos triviais à negativos sobre os ganhos de desempenho em *endurance*. Além disso, pode-se perceber que poucos estudos se propuseram a investigar os efeitos do uso regular da IAF em adaptações intramusculares em corrida, o que poderia explicar os resultados reportados na literatura.

2. FORMULAÇÃO DO PROBLEMA E LACUNA CIENTÍFICA

Embora não seja um consenso, alguns autores reportam diminuição nos ganhos de força quando utilizada a IAF regulamente após sessões de treinamento resistido que podem estar associadas à inibição aguda da ativação de células satélites e supressão da fosforilação de proteínas associadas com a hipertrofia (ROBERTS et al., 2015b; YAMANE et al., 2006). De forma similar, os efeitos do uso regular da IAF após sessões de treinamento contínuos e intervalados também são controversos. Por exemplo, após associarem a IAF ao HIIT Aguiar et al. (2016) e Broatch et al. (2017) não verificaram alterações no ganho de desempenho em provas contra relógio em cicloergômetro. Em contrapartida, Yamane et al. (2006) verificaram um prejuízo no ganho de desempenho no teste incremental em cicloergômetro após o uso regular da IAF associado ao treinamento contínuo.

A nível intramuscular, os achados referentes à interferência da IAF em adaptações importantes para o desempenho em esforços de *endurance*, tal como a biogênese mitocondrial, além de controversos, são escassos. Dentre os poucos estudos que investigaram o tema, Aguiar et al. (2016) e Broatch et al. (2017) não verificaram alterações induzidas pela IAF nas adaptações de enzimas intramusculares e no conteúdo de PGC-1α, uma das principais proteínas utilizadas para inferir aumento na biogênese mitocondrial. Por outro lado, em um estudo semelhante, Ihsan et al. (2015) verificaram um aumento da síntese de PGC-1α e outras proteínas associadas a síntese mitocondrial somente em um grupo submetido a IAF associada ao HIIT em comparação com o um grupo controle. Interferências na expressão da PGC-1α por meio da IAF poderiam afetar as adaptações de cunho oxidativas nas fibras musculares e, consequentemente, a aproximação das características da fibras do tipo II em direção às fibras do tipo I (BAAR et al., 2002; RUSSELL et al., 2003), fenômeno comum após programas de treinamento de *endurance* (WILSON et al., 2012). Além disso, apesar de já existirem indícios de que a IAF pode diminuir agudamente a ativação de células satélites, ainda não foi elucidado se essa diminuição, a longo prazo, culminaria em quedas no *pool* de células satélites em treinamento não hipertrófico.

Portanto, com base no atual senário da literatura e com objetivo de nortear futuras investigações, fazem-se necessários estudos de revisão que copilem sistematicamente todos esses resultados de efeito da associação da IAF ao treinamento resistido, contínuos e intervalados sobre o desempenho. Além disso, nota-se uma lacuna de evidências experimentais a respeito dos efeitos da utilização regular da IAF em conjunção ao treinamento de resistência visando esclarecer seu efeito a longo prazo sobre os indicadores adaptativos, tal como o *pool* células satélites, marcadores de biogênese mitocondrial e alterações na proporção de fibras

musculares. Além disso, sabe-se atualmente que os processos fisiológicos e psicofisiológicos experimentados ao longo do programa de treinamento são tão importantes quanto as adaptações induzidas ao final do programa, pois possibilitam, por exemplo, diminuições no risco de lesão e aumento da aderência ao treinamento. No entanto, apesar da relevância do tema, ainda não são claros os efeitos da IAF nesses parâmetros de "qualidade do treinamento", tal como a carga interna e a recuperação global do voluntário ao longo das sessões de treinamento.

Com objetivo de responder da melhor forma possível as questões aqui levantadas, a presente tese de doutorado é composta por dois estudos (Parte I e II), sendo um estudo de revisão e um estudo experimental, que são apresentadas em dois capítulos, respectivamente.

3. OBJETIVO

3.1.Objetivo geral

O objetivo da presente tese foi investigar o efeito do uso regular de IAF associada ao treinamento físico sobre adaptações intramusculares, recuperação e no ganho de desempenho.

3.2. Objetivo específico

Parte I – estudo de revisão:

- Revisar sistematicamente o efeito do uso regular da IAF associada ao treinamento resistido, visando o desenvolvimento da força muscular, e treinamentos contínuo e intervalado, visando melhoras no desempenho em exercícios de *endurance*.

Parte II – estudo experimental:

- Determinar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de HIIT sobre adaptações intramusculares por meio da análise do *pool* de células satélites, conteúdo de PGC1-α e alterações na proporção de fibras do tipo I e IIa.
- Determinar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de HIIT sobre recuperação ao longo do programa de treinamento por meio da análise das respostas de marcadores sistêmicos de dano muscular (LDH e CK), DOMS, respostas autonômicas (parâmetros da VFC) e desempenho neuromuscular (desempenho em salto vertical).
- Determinar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de HIIT sobre a carga interna da sessão (PSE e FC) ao longo do programa de treinamento.
- Determinar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de HIIT nas adaptações cardiorrespiratórias e no desempenho por meio da análise do $\dot{V}O_{2max}$ e do desempenho em corrida até exaustão, respectivamente.

4. HIPÓTESES

Com base nos achados referentes a inibição do processo de ativação de células satélites, proteínas anabólicas (FYFE et al., 2019; ROBERTS et al., 2015b), diminuição da perfusão de sangue para o músculo (GREGSON et al., 2011; MAWHINNEY et al., 2013, 2017), da atividade metabólica (IHSAN et al., 2013), da saturação de oxigênio (IHSAN et al., 2013) e da infiltração de células imunes no tecido (LEE et al., 2005), foi hipotetizado que a IAF diminuiria os ganhos de desempenho, as adaptações cardiorrespiratórias e, em nível intramuscular, o *pool* de células satélites, a expressão de PGC-1α e as alterações de proporções de fibras do tipo I e IIa no tecido muscular. Além disso, foi esperado que a IAF pudesse aumentar a carga interna das sessões e, principalmente nas primeiras semanas de treinamento, que aumentasse os indicadores parassimpáticos, desempenho neuromuscular em salto vertical e diminuísse a DOMS. Foi hipotetizado ainda que o grupo submetido a IAF apresentasse maiores valores de concentração sanguínea de CK e LDH nas semanas finais do programa de treinamento.

5. CAPITULO I. ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

O presente estudo foi concluído e publicado na revista *Sports Medicine* (fator de impacto: 11.136).

Malta ES, Dutra YM, Broatch JR, Bishop DJ, Zagatto AM. The Effects of Regular Cold-Water Immersion Use on Training-Induced Changes in Strength and Endurance Performance: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Sport Med*. 2021;51(1):161–74.

5.1. Métodos

A presente revisão sistemática foi conduzida de acordo com as recomendações da *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (HARRIES; LUBANS; CALLISTER, 2015) e registrada em um banco de dados internacional de revisões sistemáticas em saúde e assistência social (PROSPERO CRD42018098898). Uma pesquisa computadorizada da literatura foi realizada, sendo concluídas em 25 de novembro de 2019. As bases de dados utilizadas nas pesquisas foram MEDLINE, *Cochrane Central Register of Controlled Trials* (CENTRAL) e SPORTDiscus.

Para otimizar a busca, uma estratégia de combinar os seguintes grupos de palavras-chave foi usado: (1) *performance* OR *exercise performance* OR *exercise* OR *trial*; AND (2) *cold-water immersion* OR *cold water immersion* OR *cold water* OR *ice-water immersion* OR *ice water immersion* OR *cooling* OR *ice bath* OR *ice-bath*; AND (3) *chronic* OR *long-term* OR *long term* OR *regular*; NOT (4) *animal* OR *animals*. Uma restrição de idioma foi adotada (apenas artigos publicados na língua inglesa), enquanto as buscas foram realizadas apenas nos títulos, resumos e tópicos de palavras-chave. Nenhuma restrição de ano foi colocada na busca. Além disso, as referências dos estudos selecionados foram examinadas para identificação de possíveis estudos elegíveis.

Os estudos selecionados foram estudos clínicos controlados que investigaram os efeitos do uso regular de IAF associado a programas de treinamento físico nos ganhos de desempenho (ou seja, força ou desempenho em exercícios de *endurance*) em humanos. Portanto, livros, teses, dissertações, resenhas e artigos de congressos que passaram pelos filtros iniciais foram posteriormente excluídos. Os critérios para inclusão dos estudos foram: (1) ser uma investigação controlada, (2) ser realizada com humanos saudáveis, (3) com IAF realizada a $\leq$ 15 °C (após as sessões de treinamento), (4) estar associada a um treinamento regular programa ($\geq$ 3 semanas), e (5) ter realizado avaliações iniciais e pós-treinamento de força ou desempenho de exercício aeróbico.

O processo de seleção dos estudos foi realizado em duas etapas por dois pesquisadores (ESM e YMD). Na primeira etapa, o título e resumo dos estudos selecionados foram verificados para comparação do tema central do artigo em relação à revisão. Na segunda etapa, o texto completo dos artigos foi analisado e considerados para inclusão com base nos critérios pré-definidos. Em casos de discordância entre os avaliadores, o estudo foi discutido em profundidade até que se chegasse a um consenso. O software Mendeley Desktop 1.17.13 (Elsevier, NY, EUA) foi utilizado para gerenciamento dos artigos e exclusão de duplicatas.

5.1.1. Extração de dados

Os dados do estudo foram extraídos de forma semelhante por dois pesquisadores (ESM e YMD), e discordâncias entre os pesquisadores foram solucionadas conforme citado anteriormente. A variável primária de interesse foi a mudança do desempenho físico, ou seja, a mudança no desempenho da linha de base para o pós-treinamento, para as condições de intervenção (IAF) e controle. As variáveis de desempenho da força extraídas de programas de treinamento resistido foram: 1RM, força isométrica máxima, resistência de força (número de repetições) e esforços balísticos (força durante o salto vertical e taxa de desenvolvimento de força). Por outro lado, as relacionadas ao desempenho em exercícios de *endurance* foram: duração do *time-trial*, potência média no *time-trial* e MAP em teste incremental máximo. Além disso, detalhes como o desenho experimental do estudo, métodos de intervenção e descrição do treinamento também foram extraídos. Dados relevantes não relatados no manuscrito foram solicitados diretamente ao autor correspondente por e-mail e/ou via mensagem privada do *ResearchGate*.

5.1.2. Avaliações de Qualidade e Risco de Viés

A qualidade metodológica de todos os estudos incluídos foi avaliada por meio da escala PEDro considerando 11 critérios. A qualidade metodológica dos estudos foi classificada de acordo com seus respectivos escores como *alta qualidade* (escores ≥ 7), *moderada qualidade* (escores 5 a 6) ou *baixa qualidade* (escores ≤ 4). A avaliação da qualidade não foi utilizada como critério de inclusão dos artigos. Além disso, o risco de viés foi calculado para todos os estudos de acordo com as diretrizes da *Cochrane Collaboration* (programa RevMan, versão 5.3, Copenhague, DK). O risco de viés foi julgado como alto, baixo ou incerto, considerando cinco domínios metodológicos (seleção, desempenho, detecção, atrito e relato). A análise do risco de viés e a avaliação da qualidade metodológica foram realizadas por dois pesquisadores (ESM e YMD). Assim como citado anteriormente, caso houvesse diferença de opinião entre os

pesquisadores as avalições do risco viés e qualidade metodológica eram discutidas até que um consenso fosse alcançado.

5.2. Análise estatística

O programa Review Manager 5.3 foi utilizado nas análises estatísticas e para gerar as figuras de *Forest plot*. Para todas as variáveis, foram calculados a diferença média padronizada (SMD) e intervalos de confiança de 95% (IC95%).

5.3. Resultados

No total, 697 artigos foram identificados nas buscas nos bancos de dados (195 artigos no MEDLINE, 470 no CENTRAL e 32 no SPORTDiscus). Em seguida, as duplicatas foram excluídas, resultando em um total de 604 artigos. Após análise dos títulos e resumos, 11 estudos foram selecionados para análise do texto completo. Finalmente, 8 estudos foram incluídos no processo de revisão final e extração de dados. Nenhum estudo foi adicionado após o processo de revisão de referência. A Figura 1 resume o processo seleção dos estudos.

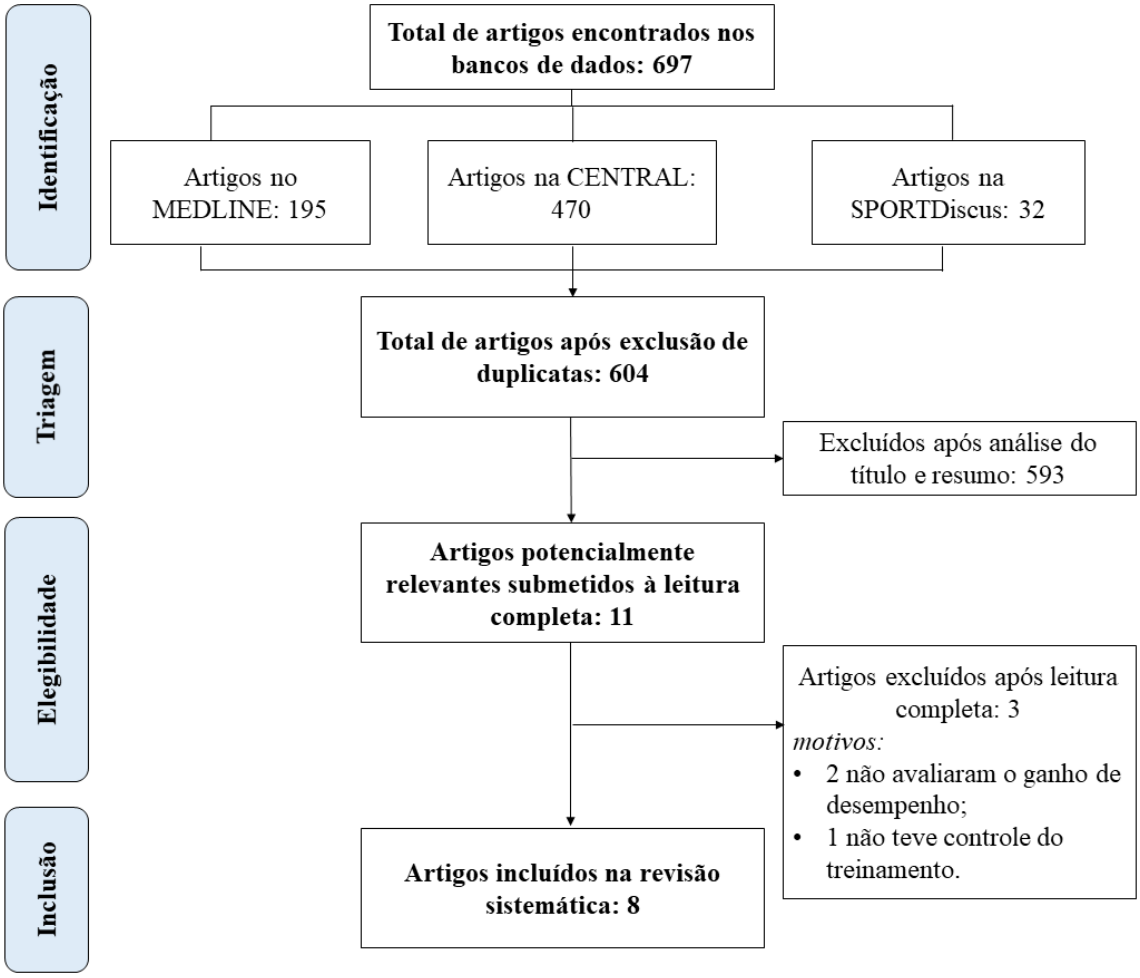


Figura 1. Fluxograma do processo de identificação, triagem, análise e seleção nos artigos incluídos no estudo de revisão.

Em geral, os estudos selecionados apresentaram *alto* risco de viés, principalmente no processo de randomização e cegamento. A maioria das investigações não apresentou informações explícitas sobre o método utilizado na randomização (por exemplo, lançamento de moedas, embaralhar cartões ou envelopes, lançar dados e sortear) e a ocultação de alocação. Além disso, nenhuma investigação foi cega (por exemplo, duplo-cego ou triplo-cego) e apenas duas apresentaram informações explícitas sobre a perda da amostra (ou seja, dados de desfecho incompletos). Por outro lado, todas as investigações apresentaram um relato de desfecho adequado (ou seja, sem relato seletivo) e cinco investigações não apresentaram outras limitações. Na Figura 2 são apresentados os resultados individuais e gerais do julgamento de risco de viés.

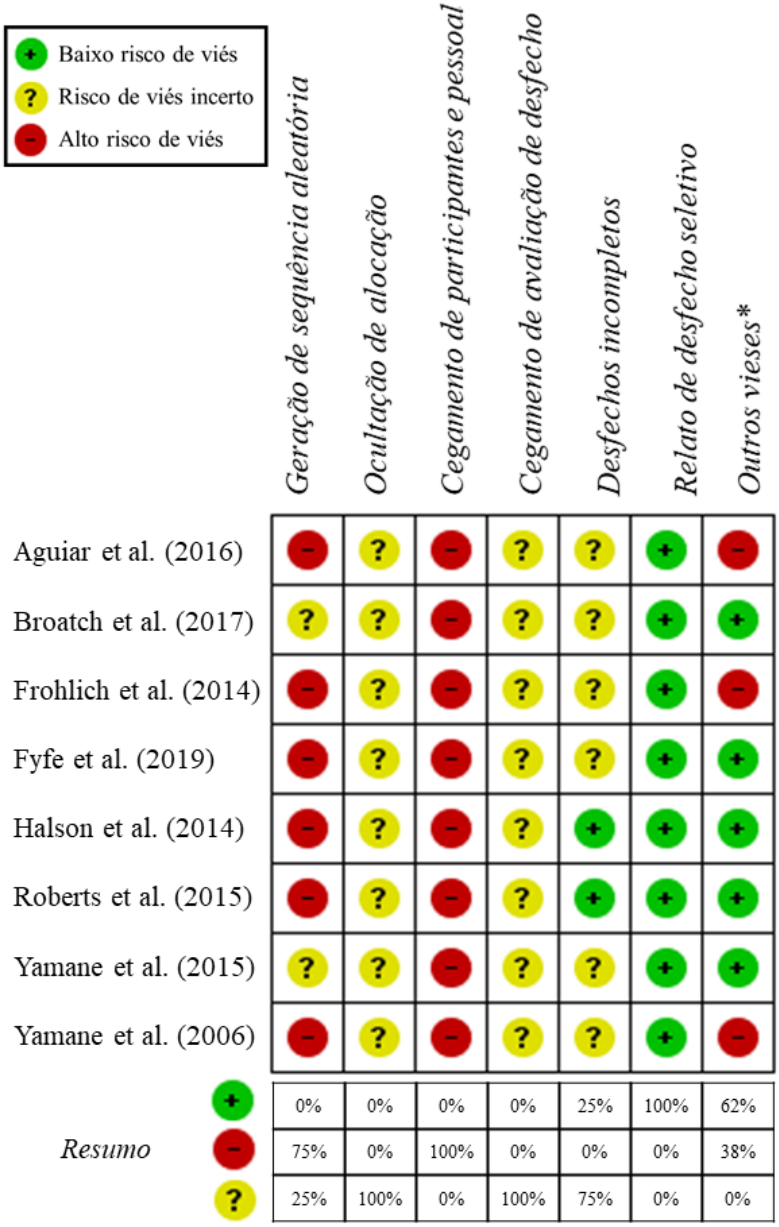


Figura 2. Resultados individuais e resumidos para risco de viés dos estudos incluídos. * "Outro viés" no presente estudo refere-se ao risco de viés associado ao desenho do estudo (risco de *cross-talk*)

Dentre os oito artigos selecionados para o presente estudo, um foi realizado no Brasil, quatro na Austrália, dois no Japão e um na Alemanha, todos publicados entre os anos de 2006 e 2019. Os voluntários do estudo foram homens saudáveis classificados como treinados, fisicamente ativos, recreacionalmente ativos ou sedentários (número total de voluntários nos grupos IAF e controle = 470).

A Tabela 1 apresenta os estudos selecionados, parâmetros metodológicos, resultados e seu escore de qualidade determinado por meio da escala de PEDro. Em relação aos grupos controle foram realizados nos estudos selecionados a recuperação passiva (repouso em

temperatura ambiente), recuperação ativa (10 min de exercício de baixa intensidade em cicloergômetro) ou IAF em temperatura neutra (15 min a 23°C). A temperatura e duração do CWI foram 9,7 ± 2,9 °C e 16,5 ± 3,6 min, respectivamente. Além disso, dois estudos dividiram a aplicação da IAF em 2 séries de 20 min e 3 séries de 4 min.

Os programas de treinamento utilizados nos estudos selecionados foram treinamento pliométrico e/ou hipertrofia (treinamento resistido), treinamento contínuo em intensidade moderada, HIIT ou treinamento intervalado de *sprint* (treinamento de resistência ou *endurance*), enquanto o número de sessões foi de 16 ± 5 sessões para treinamento resistido e 22 ± 11 sessões para os treinamentos contínuos e intervalados. A qualidade metodológica dos estudos incluídos foi em média 5,3 u. a (qualidade *moderada*), sendo o cegamento o critério menos contemplado nesses estudos, pois o IAF é prontamente percebido pelos voluntários e o cegamento convencional não é aplicável neste caso.

Tabela 1. Características e resultados dos estudos incluídos.

Autor, ano	Desenho experimental dos estudos	Configuração da IAF e controle	N° de sessões de treinamento/duração (frequência)	Descrição do treinamento	Índices de desempenho	Mudança no desempenho (Média da diferença em relação a linha de base)	Fonte dos dados	Escore da escala de PEDro
				Treinamento resistido				
Frohlich et al., 2014	Grupos cruzados	IAF: 3 × 4 min (intervalos: 30 s) à 12,0±1.5° C; ortostática, 1 perna imersa CON: recuperação passiva	~15 sessões / 5 semanas (1-3×/semana)	Exercício unilateral (perna): 3 séries de 8–12 repetições com 3 min de recuperação à 75-80% de 1RM;	1RM extensão de joelho	IAF: +7,2 ± 7,3 kg CON: +9,3 ± 7,8 kg	Fornecido pelo autor	5
Roberts et al., 2015	Grupos paralelos	IAF: 10 min à 10,1±0,3° C; sentado, 2 pernas imersas CON: recuperação ativa	24 sessões / 12 semanas (2×/semana)	Flexores e extensores da perna: 3-6 séries de 8–12 repetições; Exercício pliométrico: 3 séries de 12 repetições;	1RM extensão de joelho 1RM *Leg press* Força isométrica de extensão do joelho Extensão de joelho (TDF)	IAF: +17,8 ± 9,2 kg CON: +33,8 ± 8,5 kg* IAF: +133,0 ± 43,5 kg CON: +201,0 ± 65,2 kg* IAF: +2,5 ± 3,9 kg CON: +6,6 ± 3,3 kg* IAF: +115,1 ± 79,6 Nm/s CON: +301,4 ± 134,5 Nm/s*	Fornecido pelo autor	6
Yamane et al., 2015	Grupos paralelos	IAF: 20 min à 10±1° C; Braço na horizontal, 1 antebraço CON: recuperação passiva (1 antebraço do mesmo voluntário)	12 sessões / 4 semana (3×/semana)	Flexão de punho: 5 séries de 8 repetições à 70-80% de 1RM;	Força isométrica em flexão do punho Número de repetições em flexão do punho	IAF: +0,69 ± 3,5 kg CON: +6,04 ± 3,6 kg* IAF: +14,1 ± 9,4 uni. CON: +19,4 ± 6,3 uni.	Fornecido pelo autor	5
Yamane et al., 2006	Grupos cruzados (parte III)	IAF: 20 min à 10±1° C; Braço na horizontal, 1 antebraço CON: recuperação passiva (1 antebraço do mesmo voluntário)	12 sessões / 4 semana (3×/semana)	Exercícios de pegada (*Handgrip)*: 3 séries de 8 RM com 2-min de recuperação;	Força isométrica em flexão do punho Força isométrica em flexão do punho	IAF: +4,1 ± 4,45 kg CON: +5,86 ± 5,25 kg IAF: +16,2 ± 34,0 uni. CON: +53,1 ± 46,1 uni.*	Fornecido pelo autor	5
	Grupos paralelos (parte IV)	IAF: 20 min à 10±1° C; Braço na horizontal, antebraço CON: recuperação passiva	12 sessões / 4 semanas (3×/semanas)	Exercícios de pegada (*Handgrip)*: 3 séries de 8 RM com 2-min recuperação;	Força isométrica em flexão do punho Número de repetições em flexão do punho	IAF: +0,21 ± 3,7 kg CON: +0,75 ± 5,0 kg IAF: +43,8 ± 26,1 uni. CON: +72,8 ± 56,8 uni.		

Fyfe et al., 2019	Grupos paralelos	IAF: 15 min à 10° C; sentado, imersão completa (até o esterno) CON: 23° C durante 15 min	21 sessões / 7 semanas (3×/semanas)	Flexores e extensores de membros inferiores e superiores: 3 séries de 12 repetições à 12-RM Abdominal: 3 séries de 20 repetições à 20-RM Agachamento e supino Barra: 5 séries de 12 repetições à 12-RM	1RM em *Leg press* 1RM em Supino Esforço balístico (*Ballistic push-up*) SVCM *Squad jump*	IAF: +39,2 ± 25,1 kg CON: +37,9 ± 18,8 kg IAF: +11,7 ± 12,2 kg CON: +8,6 ± 8,4 kg IAF: +0,9 ± 59,9 N CON: +3,4 ± 54,2 N IAF: -61,8 ± 103,3 N CON: +98,0 ± 101,9 N IAF: -21,1 ± 223,5 N CON: +131,7 ± 240,4 N	Fornecido pelo autor	6
Treinamentos contínuo e intervalado								
Halson et al., 2014	Grupos paralelos	IAF: 15 min à 15±3° C; imersão completa (até o ombro) CON: recuperação passiva	39 sessões / ~5,5 semanas (7×/semanas)	SIT + esforços específicos do ciclismo (2 repetições de 4-min em alta intensidade seguidos de *sprints* repetidos de 6-20-s, esforços de *pursuit* e *time-trial*);	Potência média em *time-trial* de 10-min	IAF: +5,4 ± 3,7 % CON: +5,9 ± 2,8 %	Extraído do texto	5
Aguiar et al., 2016	Grupos paralelos	IAF: 15 min à 10±1° C; ortostática, 2 pernas imersas CON: recuperação passiva	12 sessões / 4 semanas (3-4×/semanas)	HIIT longo: esforços de 1-min com 75-s de recuperação em cicloergômetro;	MAP em teste incremental Desempenho em t*ime-trial* de 15-km Potência média em *time-trial* de 15-km	IAF: +23,4 ±13,4 W CON: +6,6 ± 33,6 W IAF: -4,7 ± 1,8 min CON: -4,2 ± 2,0 min IAF: +17,2 ± 7,7 W CON: +16,6 ± 5,8 W	Fornecido pelo autor	5

Broatch et al., 2017	Grupos paralelos	IAF: 15 min à 10° C; sentado, 2 pernas imersas CON: recuperação passiva	18 sessões / 6 semanas (2-3×/semanas)	SIT: 4-6 repetições de *sprints* de 30-s "*all-out"* e 4 min de recuperação;	MAP em teste incremental	IAF: +15,4 ± 12,7 W CON: +15,2 ± 13,1 W	Fornecido pelo autor	6
					Desempenho em t*ime-trial* de 2-km	IAF: -0,11 ± 0,16 min CON: -0,09 ± 0,11 min		
					Desempenho em t*ime-trial* de 20-km	IAF: -0,42 ± 1,21 min CON: -0,53 ± 1,5 min		
					Potência média em *time-trial* de 2-km	IAF: +15,6 ± 23,4 W CON: +22,2 ± 35,0 W		
					Potência média em *time-trial* de 20-km	IAF: +4,1 ± 11,1 W CON: +7,6 ± 19,2 W		
Yamane et al., 2006	Grupos cruzados (parte I)	IAF: 2 × 20 min (intervalo: 30 min) à 5±1° C; Decúbito ventral, 1 perna imersa (coxa e perna) CON: recuperação passiva (1 perna do mesmo voluntário)	16 sessões / 4 semanas (4×/semanas)	Treinamento contínuo de 25 min à 70% da intensidade de consumo máximo de oxigênio;	MAP in a Graded exercise test	IAF: +10,0 ± 8,4 W CON: +16,0 ± 10,0 W	Fornecido pelo autor	
	Grupos cruzados (parte II)	IAF: 20 min à 5±1° C; Decúbito ventral, 1 perna imersa (coxa e perna) CON: recuperação passive (1 perna do mesmo voluntário)	24 sessões / 6 semanas (4×/semanas)	Treinamento contínuo de 25 min à 70% da intensidade de consumo máximo de oxigênio;	MAP em teste incremental	IAF: +19,2 ± 9,7 W CON: +21,7 ± 11,3 W		

IAF, imersão em água fria; CON, grupo controle; 1RM, repetição máxima; HIIT, Treinamento intervalado de alta intesidade; SIT, treinamento de *sprints* repetidos; MAP, Potência aeróbia máxima; TDF, Taxa de desenvolvimento de força; SVCM, Salto vertical contramovimento. *p < 0.05 entre grupos.

Para a análise do efeito da IAF nos índices de desempenho do treinamento resistido, foram utilizados cinco estudos, dos quais cinco forneceram dados relacionados a 1RM, três forneceram dados de força isométrica máxima, dois apresentaram resultados de resistência de força e dois forneceram dados de desempenho em esforços balísticos. As diminuições nos ganhos de desempenho foram verificadas para 1RM (SMD = − 0,50; IC95% = − 0,90, − 0,10; p = 0,01), força isométrica máxima (SMD = -0,65; IC95% = − 1,14, − 0,17; p = 0,009), e resistência de força (SMD = − 0,73; IC95% = − 1,29, − 0,16; p = 0,01), quando o treinamento de resistência foi realizado seguido da IAF (SMD geral = − 0,60; IC95% = − 0,87, − 0,33; p < 0,0001). Além disso, foi verificada diminuição nos ganhos de desempenho para a realização de esforços balísticos (SMD geral = − 0,61; IC95%: − 1,11, − 0,11; p = 0,02) (Figura 3).

Para a análise do efeito da IAF nos índices de desempenho dos treinamentos contínuo e intervalado, foram utilizados quatro estudos, dos quais dois forneceram dados relacionados ao desempenho em *time-trial* expresso em potência média e três expressos em tempo, três relacionados à MAP em teste incremental máximo. Não foram verificadas alterações no ganho de desempenho no *time-trial* (potência média) (SMD = − 0,12; IC95% = − 0,60, 0,36; p = 0,63), MAP (SMD = − 0,01; IC95% = − 0,54, 0,53; p = 0,98), quando os treinamentos contínuo e intervalado foram associados à IAF (SMD geral = − 0,07; IC95% = − 0,54, 0,53; p = 0,71). Além disso, não foram verificadas alterações nos ganhos para o desempenho em *time-trial* expresso em tempo (SMD geral = 0,00; IC95% = − 0,58, 0,58; p = 1,00) (Figura 4).

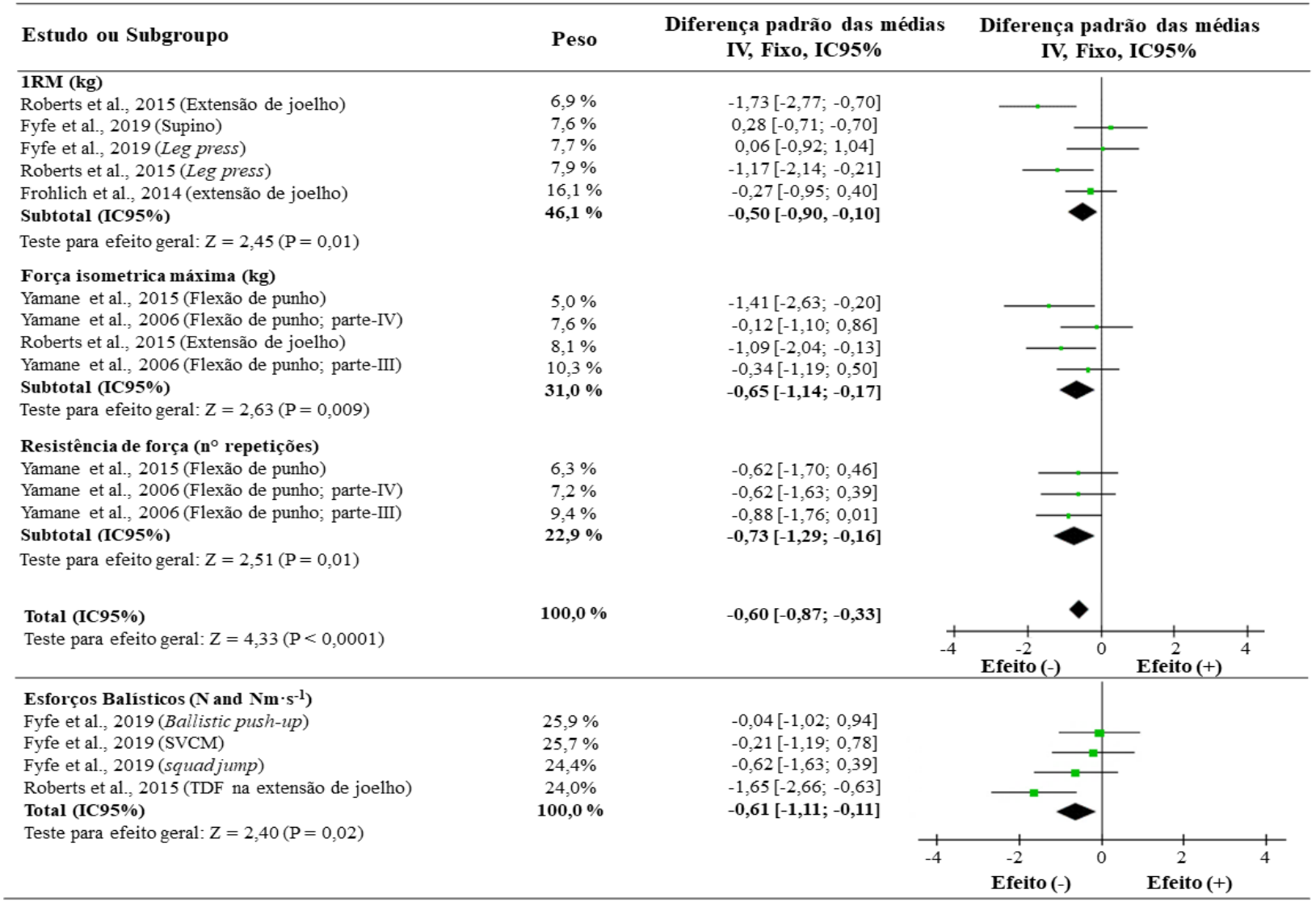


Figura 3. *Forest plot* ilustrando a comparação entre IAF e a condição controle para parâmetros de força.

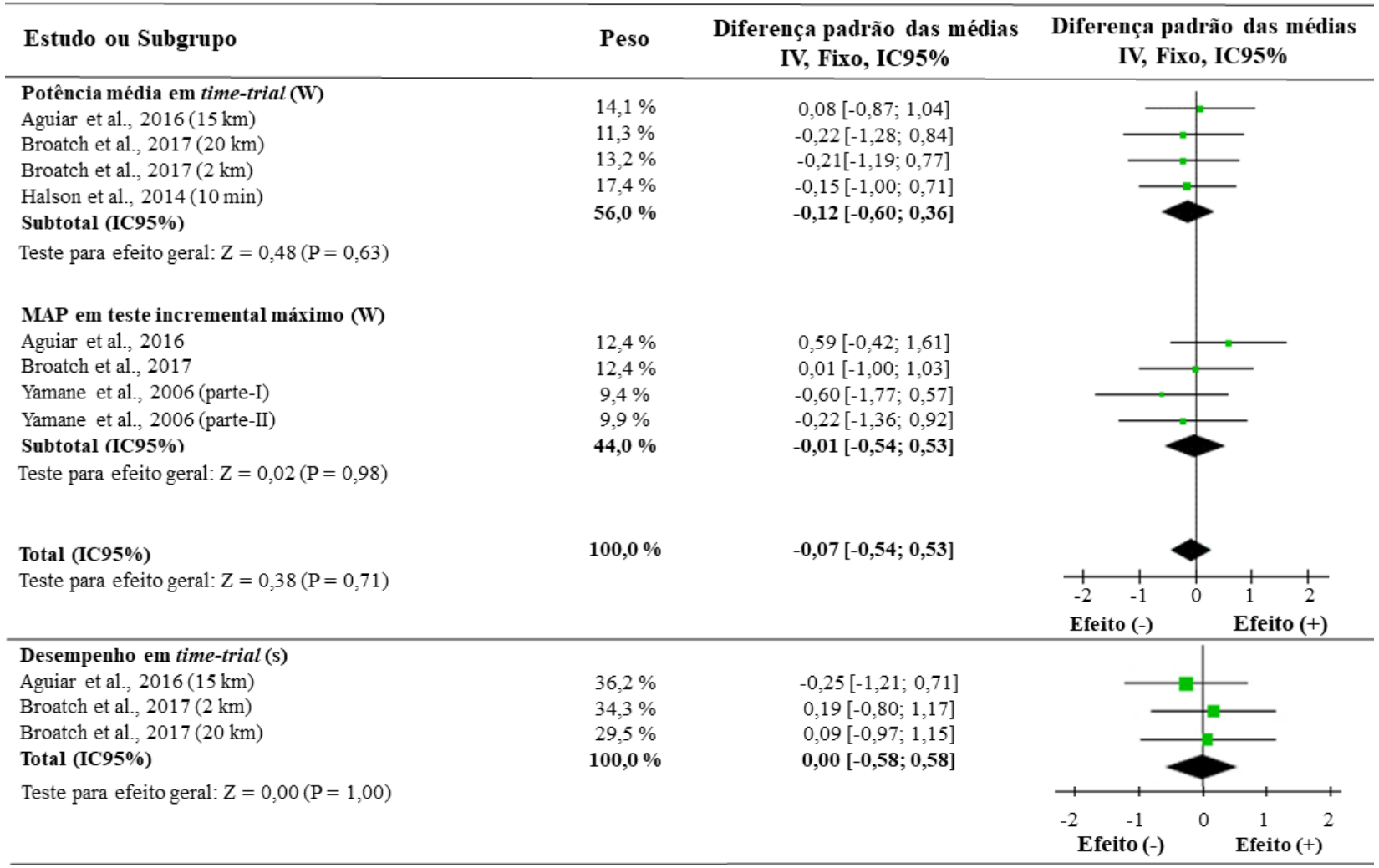


Figura 4. *Forest plot* ilustrando a comparação entre IAF e a condição controle para parâmetros de *endurance*.

5.4. Discussão

A presente revisão de literatura teve como objetivo investigar sistematicamente o efeito do uso regular da IAF associada ao treinamento resistido e treinamentos contínuos e intervalados sobre os ganhos de desempenho. Os principais achados da presente revisão sistemática foram que IAF mitiga as melhorias induzidas pelo treinamento na força máxima e resistência de força (SMD geral = − 0,60; $p < 0,0001$), além de diminuir também o ganho de desempenho em esforços balísticos (SMD geral = − 0,61). Por outro lado, a IAF parece não afetar os ganhos de desempenho em *time-trial* (potência média), MAP (SMD geral = −0,07), ou duração do *time-trial* (SMD geral = 0,00) quando associada aos treinamentos contínuos e intervalados. Esses resultados corroboram parcialmente com nossa hipótese inicial.

Durante programas de treinamento resistido a força máxima e o desempenho em esforços balísticos podem ser alterados por meio de uma combinação de adaptações neurológicas (por exemplo aprendizado e coordenação) e morfológicas (por exemplo, aumento na área da secção transversa do músculo e número de miofibrilas) (JONES et al., 2008), acompanhados de alterações em vários mecanismos/vias moleculares (por exemplo, síntese de proteínas musculares, ativação/proliferação de células satélites, etc). Da mesma forma, a resistência de força (ou seja, a capacidade de suportar a fadiga sob condições de desempenho de força estendido) está relacionada, principalmente, às adaptações morfológicas (por exemplo, melhor função mitocondrial, maior densidade capilar, capacidade tamponamento melhorada, etc.) e também pode ser afetada pelo reparo muscular e processos de síntese proteica (KRAEMER; RATAMESS, 2004). Portanto, caso a IAF altere qualquer um desses processos induzidos pelo treinamento, é provável que influencie a resposta adaptativa do músculo ao exercício e, em seguida, o desempenho do exercício.

Consistente com essa premissa, Roberts et al. (2015b) verificaram que o uso regular da IAF em treinamento resistido atenua os ganhos na área de secção transversa da fibra muscular do tipo II e no número de mionúcleos por fibra. Além disso, nesse mesmo estudo a IAF atrasou e/ou inibiu agudamente a atividade das células satélites, suprimiu a fosforilação de proteínas associadas à hipertrofia e mitigou melhorias de 1RM e força isométrica máxima. Em um estudo subsequente, Fyfe et al. (2019) também relataram uma mitigação dos ganhos induzidos pelo treinamento na hipertrofia muscular, porém nesse estudo não foram verificadas alterações no desempenho em 1RM. Esses resultados não foram inesperados, pois a hipertrofia nem sempre é acompanhada de aumento de força (BUCKNER et al., 2016).

As diferenças nos resultados de hipertrofia e força entre os estudos podem ser explicadas por diferenças na prescrição do treinamento (relação esforço-pausa, carga, frequência, duração do treinamento), que desempenham um papel importante na resposta adaptativa ao treinamento resistido (KRAEMER; RATAMESS, 2004). Por exemplo, Roberts et al. (2015b) submeteram os voluntários a 12 semanas de treinamento resistido de membros inferiores (2 sessões por semana, 3-5 séries de 8-12 repetições à 8-12 RM), bem como esforços pliométricos (3 séries de 12 esforços balísticos), enquanto que o estudo de Fyfe et al. (2019) incluiu 7 semanas de treinamento de membros inferiores e superiores (2 sessões por semana, 3-5 séries de 12 repetições a 1-12-RM) e abdominais (3 séries de 20 repetições à 20-RM). Portanto, além da duração e frequência do treinamento, existem algumas diferenças importantes no número de séries e na composição do treinamento.

Outra explicação para a redução induzida pela IAF no ganho de força é a vasoconstrição e a subsequente redução no fluxo sanguíneo (MAWHINNEY et al., 2017) uma vez que se correlaciona com a síntese de proteína muscular (FUJITA et al., 2006) e um equilíbrio positivo entre síntese e quebra de proteína muscular é de suma importância para a hipertrofia e o desenvolvimento da força (TIPTON; WOLFE, 2001). Nesse contexto, Fuchs et al. (2020) reportaram que a taxa de síntese de proteínas miofibrilares diminuem quando a IAF é realizada após o treinamento resistido combinado com a ingestão de proteína, o que provavelmente é explicado por uma redução na entrega e/ou absorção de proteína após o treinamento de resistido. Apesar de ser uma hipótese, sugere-se que isso ocorra devido à diminuição do transporte de aminoácidos ou menor aporte sanguíneo.

O uso regular da IAF durante programas de treinamento intervalado de alta intensidade, treinamento intervalado de sprint e treinamento contínuo de intensidade moderada parece não ter efeito sobre os ganhos de desempenho em exercícios de *endurance*, independentemente do parâmetro utilizado (MAP em teste incremental máximo ou desempenho em *time-trial*). O desempenho em exercícios de resistência aeróbico está relacionado principalmente a fatores como o $\dot{V}O_{2max}$, economia de corrida e limiar de lactato (BASSETT; HOWLEY, 2000; JACOBS et al., 2011; SLATTERY et al., 2006), que podem ser influenciados por adaptações musculares que incluem aumentos na densidade mitocondrial (LUNDBY; JACOBS, 2016) e maior atividade enzimática (MEINILD LUNDBY et al., 2018). Essas adaptações surgem principalmente de perturbações homeostáticas em resposta ao exercício (alterações nos mensageiros primários como ácidos graxos livres, lactato, cálcio, estado redox da célula, espécies reativas de oxigênio e ressíntese de adenosina trifosfato). Essas alterações podem ativar proteínas mensageiras secundárias, como proteína quinase dependente de

cálcio/calmodulina II, proteína quinase 5' ativada por AMP, proteína quinases ativadas por mitógeno p38 e sirtuína 1. Esses mensageiros secundários subsequentemente ativam fatores de transcrição, que iniciam a transcrição gênica e a tradução/síntese de proteínas funcionais (HAWLEY et al., 2018; LUNDBY; JACOBS, 2016; MACINNIS; GIBALA, 2017).

Embora a IAF não afete os ganhos de desempenho em resposta ao treinamento de resistência, algumas investigações reportam que a IAF pode potencializar os aumentos induzidos pelos treinamentos contínuos e intervalados na expressão gênica de PGC-1α (ALLAN et al., 2017; IHSAN et al., 2014; JOO et al., 2016). No entanto, é importante notar que nem sempre há uma correlação forte entre alterações na expressão gênica e aumentos subsequentes no conteúdo de proteínas funcionais (GRANATA; JAMNICK; BISHOP, 2018), pois a abundância de mRNA transcritos é parcialmente correlacionado com o conteúdo proteico ($r = \sim0,40$) (VOGEL; MARCOTTE, 2012). Até o momento apenas um estudo verificou o aumento do conteúdo intramuscular de PGC-1α após o uso regular da IAF, no entanto, nesse estudo os resultados de desempenho não foram avaliados devido ao desenho experimental utilizado (IAF foi realizado em uma perna, enquanto a perna contralateral permaneceu fora da água [controle]) (IHSAN et al., 2015).

Outra possível explicação para a ausência de efeito da IAF no ganho de desempenho em treinamentos contínuos e intervalados é que as adaptações de cunho aeróbio no músculo (adaptação periférica) têm, provavelmente, efeitos menores no desempenho aeróbico quando comparados com as adaptações centrais (FOSTER et al., 1978). Além disso, as limitações centrais no exercício de resistência aeróbica são mais comuns em participantes treinados, enquanto as limitações periféricas são mais prováveis em participantes não treinados (circulação periférica e metabolismo muscular) (SUTTON, 1992). Embora não haja um número suficiente de estudos para investigar a influência do nível de treinamento, estudos futuros devem levar em consideração essas diferenças.

É comumente hipotetizado que o uso regular da IAF após sessões de treinamento irá acelerar a recuperação aguda (ABAÏDIA et al., 2017; ASCENSÃO et al., 2011; DE PAULA et al., 2018; MACHADO et al., 2016; SIQUEIRA et al., 2018) e assim contribuir para maximizar a resposta adaptativa após um programa de treinamento. No entanto, a falta de melhorias adicionais no desempenho aeróbico e a atenuação do desempenho de força, relatadas na presente revisão, são contrárias a essa hipótese. Portanto, evidências sobre os efeitos agudos positivos da IAF em “parâmetros de recuperação” (marcadores de dano muscular e/ou inflamação, DOMS e desempenho neuromuscular) não parecem contribuir para adaptações crônicas. Por exemplo, reduções agudas na resposta inflamatória pós-exercício após uma única

sessão de exercício e IAF são geralmente interpretadas como positivas (ASCENSÃO et al., 2011), no entanto, a inflamação é um componente importante do processo de reparo muscular (PEAKE et al., 2017) e limitar a inflamação pode ser prejudicial para adaptações a longo prazo (PEAKE et al., 2017; PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000). Assim, embora a IAF possa ser benéfica na recuperação do desempenho de forma aguda, não parece beneficiar as adaptações ao treino. Dessa forma, a "periodização da recuperação" pode ser uma abordagem importante em programas de treinamento esportivo. Por exemplo, pode ser aconselhável evitar a IAF durante blocos de treinamento focados em melhorar a força muscular, hipertrofia e potência. Por outro lado, a IAF pode ser indicada durante competições, quando o treinamento resistido pesado, normalmente, não é realizado (RITCHIE et al., 2016; TNØNESSEN et al., 2014) e a recuperação fisiológica lenta pode comprometer o desempenho subsequente (IHSAN et al., 2020).

Como parte dos resultados da presente revisão de literatura uma série de limitações foram identificadas entre os estudos selecionados. Por exemplo, existe uma grande heterogeneidade nos parâmetros de aplicação da IAF, principalmente no tempo de exposição e na temperatura da água. Os efeitos agudos e benéficos da IAF na recuperação muscular são tipicamente relatados quando realizadas à 11-15 ° C e por 11-15 minutos (faixas de temperatura e a duração ideais da IAF para reduzir a percepção da dor e melhorar a função muscular) (MACHADO et al., 2016). Nos estudos selecionados para a presente revisão, a temperatura da IAF foi de 9,7 ± 2,9° C e o tempo de exposição foi de 16,5 ± 3,6 minutos. No entanto, não está claro se essa temperatura e duração da IAF são ideais para o uso regular durante o treinamento físico. Pode ser que diferentes temperaturas sejam necessárias para melhorar a recuperação aguda do desempenho muscular do que para facilitar as adaptações ao treinamento.

Também é importante destacar a grande variação na duração dos programas de treinamento entre os estudos selecionados, pois algumas intervenções (FYFE et al., 2019; ROBERTS et al., 2015b) foram de 2 à 3 vezes mais longas que outras (AGUIAR et al., 2016; BROATCH; PETERSEN; BISHOP, 2017; FRÖHLICH et al., 2014; HALSON et al., 2014; YAMANE et al., 2006; YAMANE; OHNISHI; MATSUMOTO, 2015). Essas diferenças metodológicas dificultam as comparações diretas entre os estudos e podem gerar efeitos variados nos parâmetros de desempenho analisados. Por exemplo, desde que haja progressão adequada das cargas de treinamento, espera-se que 39 sessões de treinamento de *sprints* repetidos (HALSON et al., 2014) tenham um efeito acumulativo maior no desempenho do que 12 sessões de HIIT (AGUIAR et al., 2016). Por fim, a qualidade metodológica dos estudos selecionados na presente revisão sistemática foi classificada como *moderada*, principalmente

pela dificuldade de cegamento. Além disso, os estudos apresentaram um *alto risco* de viés devido ao cegamento e problemas na descrição da randomização. Portanto, um possível efeito placebo desse método não deve ser descartado. Portanto, futuras investigações devem melhorar a qualidade metodológica e incluir uma condição placebo, tal como intervenções inertes.

5.5. Conclusão da parte I

O uso regular da IAF após sessões de treinamento não parece influenciar as adaptações de desempenho de *endurance* associadas aos treinamentos contínuo e intervalado. No entanto, há evidências contrárias indicando que a IAF tem um efeito deletério nos ganhos de força muscular quando associada ao treinamento resistido. Considerando a escassez de pesquisas investigando os efeitos do uso regular da IAF nas adaptações de desempenho após o treinamento físico, são necessárias maiores investigações sobre o tema, em especial, que investiguem as respostas intramusculares que suportem esses achados.

6. CAPITULO II. ESTUDO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi concluído e o artigo científico está em processo de confecção para submissão.

6.1. Métodos

6.1.1. Voluntários

O tamanho amostral foi calculado utilizando o programa G*Power 3.1 (Franz Faul, Düsseldorf, Alemanha) para obtenção de um poder estatístico de 90% e assumindo um valor de significância de $p < 0,05$. Para isso, foi utilizado como base o estudo de Roberts et al. (2015b), tendo como referência os resultados da aplicação crônica da IAF sobre o desempenho. Dessa forma, foi constatado que seria necessário um tamanho amostral mínimo de 6 voluntários em cada grupo.

Participaram do presente estudo 16 voluntários do sexo masculino, moderadamente ativos (atividades variadas pelo menos 2-3 vezes por semana, tal como futebol, corrida de rua, ciclismo e exercício resistido), saudáveis, com idade entre 18 e 35 anos. Os voluntários foram alocados randomicamente em 2 grupos por meio de sorteio (randomização simples de sorteio de cartas). Um grupo foi submetido a sessões de IAF após todas as sessões de treinamento, enquanto o grupo controle foi submetido apenas ao programa de treinamento físico. Os voluntários foram avaliados somente após a assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido ao qual foram informados dos procedimentos e dos riscos envolvidos nos testes. Todos os procedimentos experimentais do presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista (protocolo n. 2.538.336) e foram conduzidos respeitando a Declaração de Helsinque.

6.1.2. Critérios de inclusão e exclusão

Participaram do estudo voluntários sem histórico de lesão nos músculos, tendão ou em qualquer tecido conjuntivo nos últimos 6 meses. Além disso, os voluntários não poderiam estar utilizando medicamentos, suplementos alimentares ou qualquer outro tipo de ergogênico nas últimas duas semanas antes do início do estudo. Voluntários poderiam ser excluído do estudo caso fizessem o uso de recursos ergogênicos e drogas farmacológicas durante o período das avaliações e intervenções. Além disso, poderiam também ser excluídos caso faltassem repetidamente (2 faltas consecutivas), atingissem uma frequência menor que 90% e/ou se lesionassem durante as sessões de treinamento ou avaliações.

6.1.3. Desenho experimental

O presente estudo foi conduzido como um estudo paralelo, controlado e randomizado. Dessa forma, dois grupos independentes compostos por um grupo experimental (grupo submetido a IAF) e controle (grupo submetido a recuperação passiva) realizaram avaliações físicas e biópsias musculares em três ocasiões e um programa de treinamento com duração de 5 semanas. A dinâmica de aplicação desses procedimentos respeitou a seguinte ordem:

Primeiramente, um procedimento de biópsia foi realizado para coleta de amostras de tecido muscular (linha de base). Aproximadamente 5 dias após a biópsia muscular, os voluntários realizaram uma sessão de familiarização para garantir que as avaliações iniciais não fossem prejudicadas por falta de familiaridade com os procedimentos e/ou equipamentos. Durante a sessão de familiarização foram realizados SVCM e um teste de corrida até exaustão. Após um intervalo de 48 horas, foi realizada a avaliação de linha de base composta por um teste incremental máximo, séries de SVCM e um teste de corrida até exaustão.

Após a avaliação de linha de base foram iniciadas as 5 semanas de HIIT divididas em duas partes. Na primeira parte, com duração de 4 semanas, ocorreu um aumento progressivo do volume do treinamento e, caso necessário, da intensidade. Na segunda parte ocorreu uma diminuição do volume de treinamento ("polimento") visando potencializar os ganhos gerados pelo treinamento e teve duração de uma semana (LE MEUR; HAUSSWIRTH; MUJIKA, 2012). As sessões de HIIT foram realizadas três vezes por semana (total de 16 sessões de treinamento), respeitando um intervalo de recuperação de 48 h entre cada sessão devido à alta intensidades das sessões (PARRA et al., 2000). A carga interna das sessões foi monitorada por meio da PSE e das respostas de FC mensuradas durante e após cada sessão de treinamento, respectivamente.

Imediatamente após todas as sessões de HIIT foram realizadas a IAF ou a recuperação passiva. Para o monitoramento do desempenho durante o período de treinamento (5 semanas), foram realizados SVCM antes de todas as sessões de treinamento. Além disso, antes de iniciarem o programa de treinamento (em 3 ocasiões) e antes de todas as sessões de treinamento, a VFC foi registrada. Finalmente, foram realizadas as avaliações nos mesmos moldes da avaliação de linha de base na quarta semana de treinamento (ocorreu antes de duas sessões de treinamento [sessão n° 11 e 12]) e 3 dias após a última biópsia (avaliações Pós-I e Pós-II). Todos os testes em corrida e sessões de treinamento foram realizados em uma esteira ATL (Inbramed, Brasil), sendo que antes de todas as avaliações foram realizadas sessões de aquecimento padronizadass (5 minutos à 8 $km \cdot h^{-1}$).

Duas biópsias musculares foram realizadas 24 h após a quarta semana de HIIT e das avaliações Pós-II. Na Figura 5 é apresentado um esquema do desenho experimental do presente projeto de pesquisa.

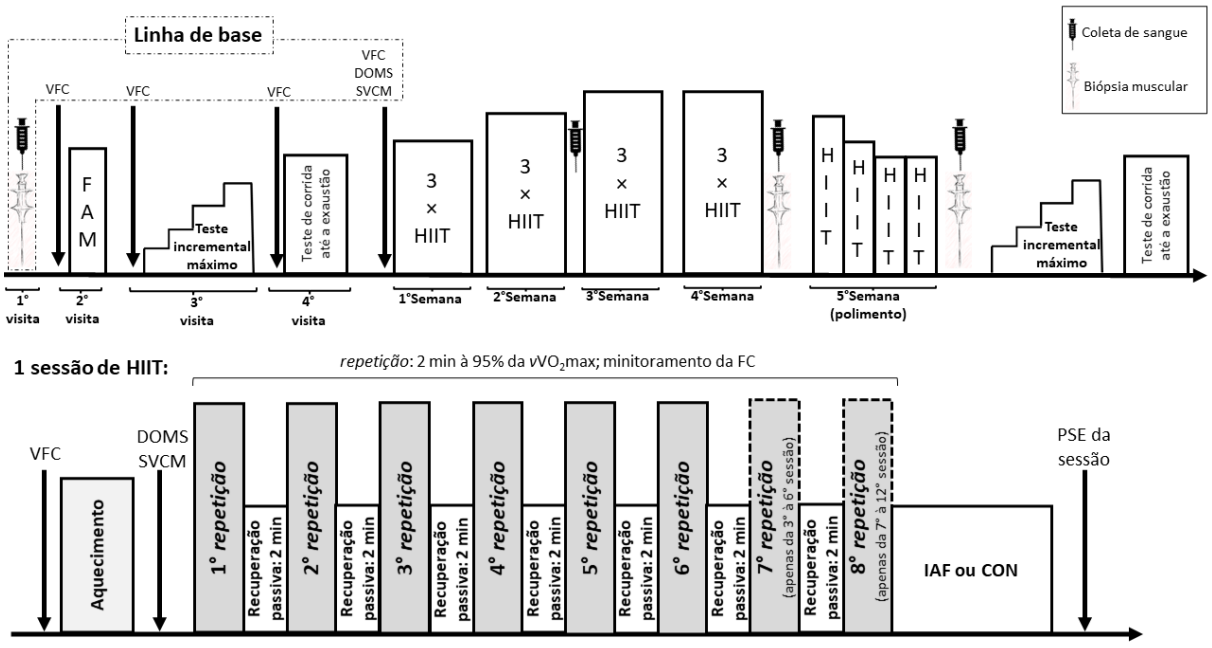


Figura 5. Desenho experimental. HIIT, treinamento intervalado de alta intensidade; SVCM, salto vertical contra movimento; VFC, variabilidade da frequência cardíaca; FAM, familiarização; DOMS, dor muscular de início tardio; FC, frequência cardíaca.

6.1.4. Avaliações da linha de base e Pós treinamento

6.1.4.1.Teste incremental máximo

O teste incremental máximo foi realizado para determinação do $\dot{V}O_{2max}$ e da menor velocidade associada ao $\dot{V}O_{2max}$ ($v\dot{V}O_{2max}$). O teste incremental máximo foi iniciado a 8,0 km·h^{-1} com incrementos de 1,5 km·h^{-1} a cada estágio de 2 min. A intensidade inicial e os incrementos do teste foram pensados de forma que o esforço durasse entre 8 e 12 min como sugerido por Howley et al. (1995). A escala de Borg (6-20) foi utilizada para avaliar a percepção subjetiva de esforço (PSE) ao final de cada estágio (BORG, 1982). Amostras de sangue (25 µL) foram coletadas no 3° e 5° minuto do lóbulo da orelha e armazenadas em microtubos contendo 50 µL de fluoreto de sódio a 1% para posterior determinação da concentração pico de lactato sanguíneo em um analisador eletroquímico YSI 2900 (Yellow Spring Instruments, Ohio, EUA).

A exaustão foi assumida como a impossibilidade do voluntário de permanecer na velocidade pré-determinada, sendo o teste interrompido pelo próprio voluntário ou pelo avaliador. Além disso, 5 min após o término do teste incremental os voluntários foram

submetidos a um teste retangular à 105% da velocidade máxima previamente atingida no teste incremental máximo para confirmação do $\dot{V}O_{2max}$ (ROSSITER; KOWALCHUK; WHIPP, 2006).

As respostas respiratórias foram monitoradas a cada respiração durante o teste incremental máximo por meio de um analisador de gases estacionário Quark CPET (Cosmed, Roma, Itália), que foi calibrado antes de cada teste, seguindo as recomendações do fabricante. Todos os dados obtidos foram suavizados a cada 5 s e interpolados a cada 1 s utilizando o programa OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, EUA) (OZYENER et al., 2001). A FC foi monitorada por meio de uma fita transmissora acoplada ao analisador de gases. A maior média de $\dot{V}O_2$ dos últimos 30 segundos de cada estágio foi considerada como $\dot{V}O_{2max}$, desde que não fosse diferente da média dos últimos 15 s do $\dot{V}O_2$ atingido no teste de confirmação (diferença $\leq$ 2,1 $mL \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) (ROSSITER; KOWALCHUK; WHIPP, 2006). Caso os valores de $\dot{V}O_2$ do teste incremental máximo e do teste de confirmação fossem diferentes, o teste foi aplicado novamente em outro momento.

6.1.4.2.Teste de corrida até exaustão

O teste de corrida até exaustão foi realizado em esteira à 100% da $v\dot{V}O_{2max}$. A velocidade ao qual o teste foi realizado na avaliação de linha de base (determinada por meio do teste incremental) foi mantida para as demais avaliações (Pós-I e Pós-II) para possibilitar verificar o impacto no desempenho. Durante o teste foi avaliado o tempo até a exaustão, o $\dot{V}O_2$ e a PSE da corrida. Além disso, amostras de sangue capilarizado foram coletadas no 3°, 5° e 7° min após o término do esforço para determinação da concentração pico de lactato. Durante o teste os voluntários foram encorajados verbalmente e estavam utilizando um cinto para evitar quedas.

6.1.5. Treinamento intervalado de alta intensidade - HIIT

As sessões de HIIT, realizada 3 vezes por semana, foram compostas por esforços de 2 min realizados em uma velocidade correspondente a 95% da $v\dot{V}O_{2max}$ seguidos por pausas passivas de 2 min (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013). A distribuição do número de repetições ao longo das 4 primeiras semanas de treinamento foi de 6 repetições na primeira semana, 7 repetições na segunda semana e 8 esforços na terceira e quarta semana. Por outro lado, o "polimento" (1 semana [3 sessões] + 1 dia da semana seguinte = 4 sessões) foi iniciado com 7 repetições na primeira sessão, seguido de 6, 5 e 5 repetições nas sessões subsequentes (LE MEUR; HAUSSWIRTH; MUJIKA, 2012) (Tabela 2).

Trinta minutos após cada sessão de HIIT foi registrada a PSE da sessão (escala CR-10) para o cálculo da carga da sessão de treinamento (PSE da sessão × Duração da sessão) (FOSTER, 1998). Além disso, também com objetivo de quantificar a carga interna das sessões, a FC foi registrada durante todas as sessões de treinamento por meio de um sensor de FC H10 e um monitor V800 Polar (Polar, Kempele, Finlândia). Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo da integral da FC por meio do método trapezoidal. Para todas as sessões foram consideradas para análise as faixas de sinal de FC entre o primeiro e o último *sprint* (início e fim dos *sprints* sincronizados no sinal por meio da função "marcar" do munitor), isto é, sem exclusão do sinal referente ao repouso. Todo o processo de análise foi realizado utilizando uma rotina em ambiente MatLab R2015a (Mathworks, Massachusetts, EUA).

Tabela 2. Progressão configurações das sessões de HIIT.

	Aumento progressivo do volume												Polimento			
Sessão:	*1°*	*2°*	*3°*	*4°*	*5°*	*6°*	*7°*	*8°*	*9°*	*10°*	*11°*	*12°*	*13°*	*14°*	*15°*	*16°*
%$v\dot{V}O_{2max}$	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
Repetições (uni)	6	6	6	7	7	7	8	8	8	8	TF^{+3}	TF^{+3}	7	6	5	5
Esforço (min)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Pausa (min)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

$v\dot{V}O_{2max}$, velocidade associada ao consumo máximo de oxigênio. TF, teste físico (teste incremental máximo ou teste de corrida até exaustão).

6.1.6. Monitoramento da recuperação

6.1.6.1. Desempenho neuromuscular: SVCM

Foram realizados 6 SVCM com 1 min de intervalo entre cada salto. Os voluntários foram instruídos a iniciar os movimentos com joelhos e quadril estendidos e com as mãos na cintura, flexionar os joelhos e quadril a 90º e estender o mais rápido possível para a realização do movimento de salto; e então aterrissar com os joelhos estendidos (Figura 6).

O sinal da plataforma de força (1000 Hz) foi adquirido usando o sistema de aquisição Powerlab e o software LabChart (ADinstruments, Dunedin, NZ). O sinal foi calibrado antes de todas as avaliações de salto usando cinco pesos conhecidos que foram linearmente associados à sua respectiva voltagem (mV) gerada na plataforma de força. A linearidade entre voltagem e kg foi considerada se o valor de "r" da regressão fosse ≥ 0,998. Os dados foram analisados usando um algoritmo customizado no programa Matlab (MathWorks, Natick, EUA). Os dados brutos de salto foram filtrados com um filtro Butterworth de quarta ordem (corte de passagem baixa de 25 Hz). Os parâmetros do SVCM analisados foram altura do salto, potência pico, força

pico da fase excêntrica e concêntrica usando as equações de Lintorne (2001). Para a apresentação dos dados do SVCM foi considerado apenas o maior desempenho de salto (altura) obtido entre as seis repetições, portanto, para os demais parâmetros foram apresentados os valores referentes a esta mesma repetição de salto (CLAUDINO et al., 2017).

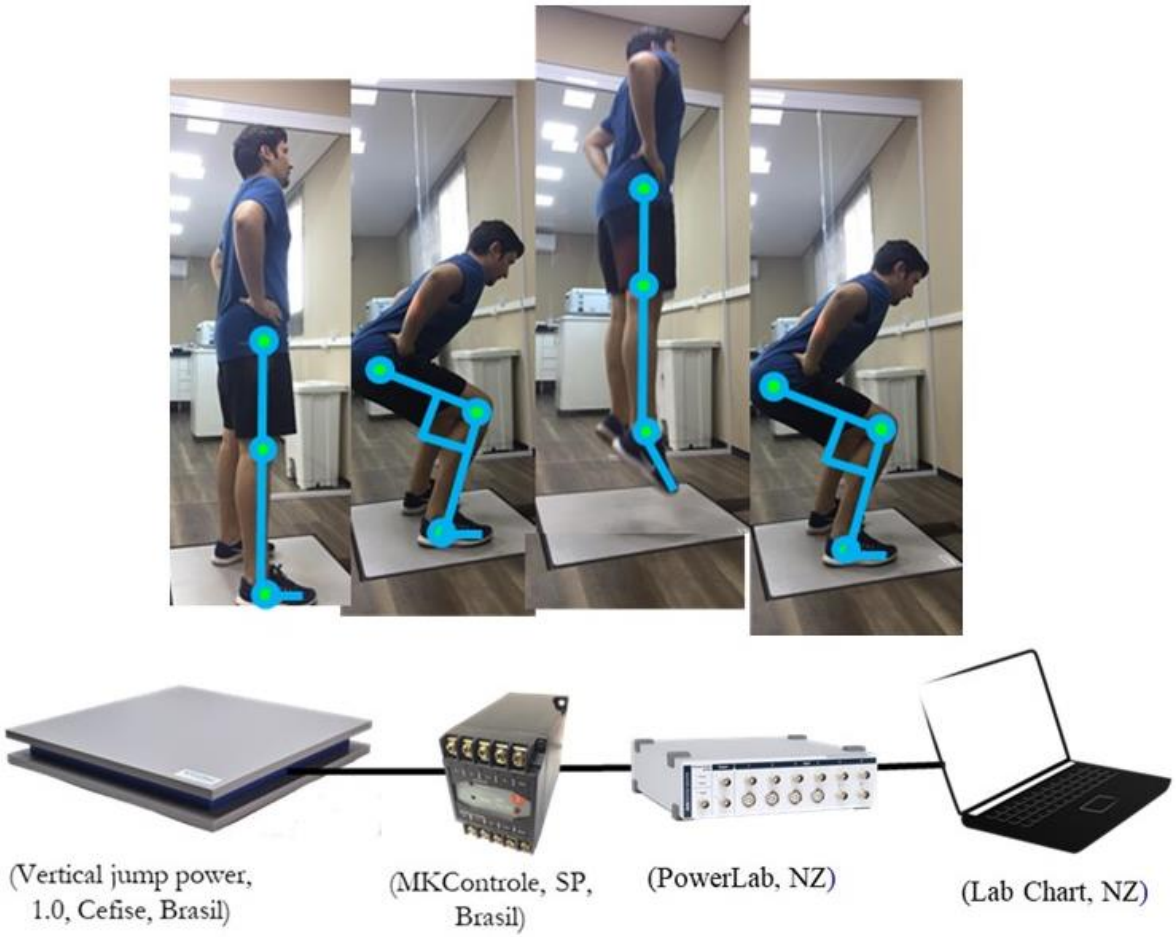


Figura 6. SVCM e sistema de aquisição de sinal.

6.1.6.2. Respostas autonômicas: VFC

A mensuração da VFC ocorreu em repouso, com os participantes sentados por um período de 6 minutos, em uma sala com pouca luz e silenciosa. A VFC foi mensurada por meio do registro dos intervalos RR usando um sensor de FC H10 e um monitor V800 Polar (Polar, Kempele, Finlândia).

Para análise dos dados de VFC foram utilizados apenas os últimos 5 minutos registrados, sendo que o primeiro minuto foi utilizado apenas para estabilização da FC. A rMSSD, baixa frequência (LF), alta frequência (HF), razão entre HF e LF (HF:LF), desvio padrão perpendicular à linha de identidade (SD1) e o desvio padrão paralelo à linha de

identidade (SD2) foram determinados usando o programa LabChart (ADinstruments, Dunedin, NZ) e rotina própria de análise da VFC.

Na presente tese, a rMSSD, HF e LF, HF:LF, SD1 e SD2 foram transformados em logaritmo da base 10 (Ln) e apresentados em porcentagem de mudança em relação à linha de base (Δ%). A linha de base da variabilidade da FC foi determinada utilizando a média de três resultados obtidos antes da familiarização, do teste incremental máximo e da primeira sessão de treinamento.

6.1.6.3. Dano muscular: concentração sanguínea de CK e LDH

Coletas de sangue venoso também foram realizadas por meio de punção da veia antecubital (aproximadamente 5 mL) para análise dos marcadores de dano muscular. Após as coletas, as amostras de sangue foram depositadas imediatamente em tubos contendo EDTA (Vacutainer, Inglaterra) e centrifugadas a 4000 rpm, durante 10 min a 4° C para separação do plasma. O plasma foi aliquotado em microtubos de 2,0 ml e armazenados a -80° C para posterior análise. A concentração sanguínea de CK e LDH foram avaliadas através de um método cinético utilizando um analisador de acesso aleatório (A-15, BioSystems SA, Barcelona, CAT, Espanha) e kit's comerciais (BioSystems SA, Barcelona, Espanha). Os dados de concentração sanguínea de CK e LDH foram normalizados pelos valores de linha de base determinados antes da familiarização e foram apresentados em *Fold change* ("vezes de aumento").

6.1.6.4. DOMS: escala visual analógica

A mensuração da dor foi realizada por meio de uma escala visual analógica. A escala visual analógica é constituída de uma régua de 100 mm no qual 0 representa "Sem nenhuma dor" e 100 "Com muita dor" (Figura 7). Após realizar o aquecimento realizado antes de todas as sessões de treinamento foi perguntado ao participante o nível de dor que o mesmo estava sentindo naquele momento. O voluntário assinalou na escala a sua percepção de dor e a marcação foi medida com auxílio uma régua milimetrada. Os dados obtidos ao longo do programa de treinamento foram normalizados pelos valores de linha de sabe determinado antes da familiarização e apresentado em delta percentual (Δ%).

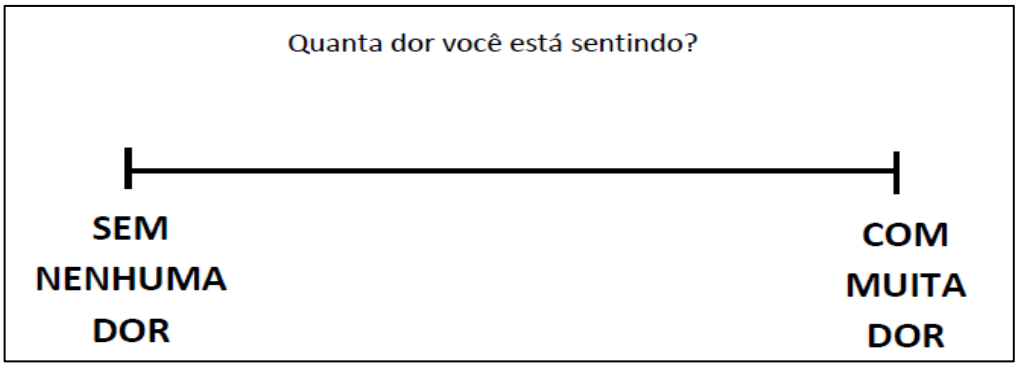


Figura 7. Escala analógica de dor.

6.1.7. Imersão em água fria - IAF

Para a realização da IAF os participantes foram posicionados em uma banheira de imersão contendo 200 L de água, com temperatura de 11,2 ± 0,2° C durante 11 minutos (MACHADO et al., 2016). A escolha da duração da IAF e da temperatura da água utilizada no presente estudo foram baseadas na revisão sistemática de Machado et al. (2016) que verificaram nessa faixa, melhores resultados para diminuição da percepção de dor muscular, fator associado a inflamação e, de modo geral, a recuperação desse tecido. Durante a IAF, os sujeitos foram mantidos sentados, quadril flexionado a aproximadamente 90° e penas totalmente estendidas, e foram submersos até a linha da crista ilíaca (baixa profundidade: ≈ 25 cm) (Figura 8).

A temperatura da água foi controlada por meio de um sistema de auto resfriamento controlado por um termostato digital (TIC17RGTi, ES Full Gauge, EUA). A circulação de água entre o equipamento de resfriamento e o tanque de imersão foi acionado quando a temperatura da água no tanque aumentou em 0,1º C para controle e manutenção da mesma.

Figura 8. Sistema utilizado para realização da IAF e manutenção da temperatura da água. IAF, imersão em água fria.

6.1.8. Biópsia muscular

A biópsia muscular foi realizada por punção do músculo vasto lateral por agulha de *Bergstrom* de 5 mm de diâmetro. Todos os procedimentos foram realizados em sala apropriada por um médico responsável, assistido por um Doutor assistente.

No início do procedimento foi realizada assepsia na região da perna que abrange o ventre do músculo vasto lateral, seguido de bloqueio anestésico com injeção subcutânea de 3 mL de cloridrato de lidocaína a 2%. Uma incisão com bisturi cirúrgico (≈1,0 cm) foi feita na derme e fáscia muscular, paralelamente as fibras musculares para permitir a inserção da agulha de *Bergstrom*. Em seguida, a agulha de *Bergstrom* foi inserida no músculo e, concomitantemente, o assistente aplicou sucção no local utilizando uma seringa de 60 mL acoplada a parte posterior da agulha por uma cânula de aspiração de silicone. Com isso, uma amostra de ≈100 mg de tecido foi seccionada e imediatamente selada em talco, resfriada em nitrogênio líquido e armazenado em um freezer -80º C (Figura 9).

Após o procedimento, a incisão foi suturada utilizando curativo estéril de micropore com filamentos de poliéster (Steri-Strip - 3M, São José do Rio Preto, SP, Brasil). Além disso, o local da incisão foi protegido por um curativo estéreo simples impermeável (Tegaderm - 3M, São José do Rio Preto, SP, Brasil) e uma bandagem, que foi mantida no local por aproximadamente 1h para evitar a formação de edema.

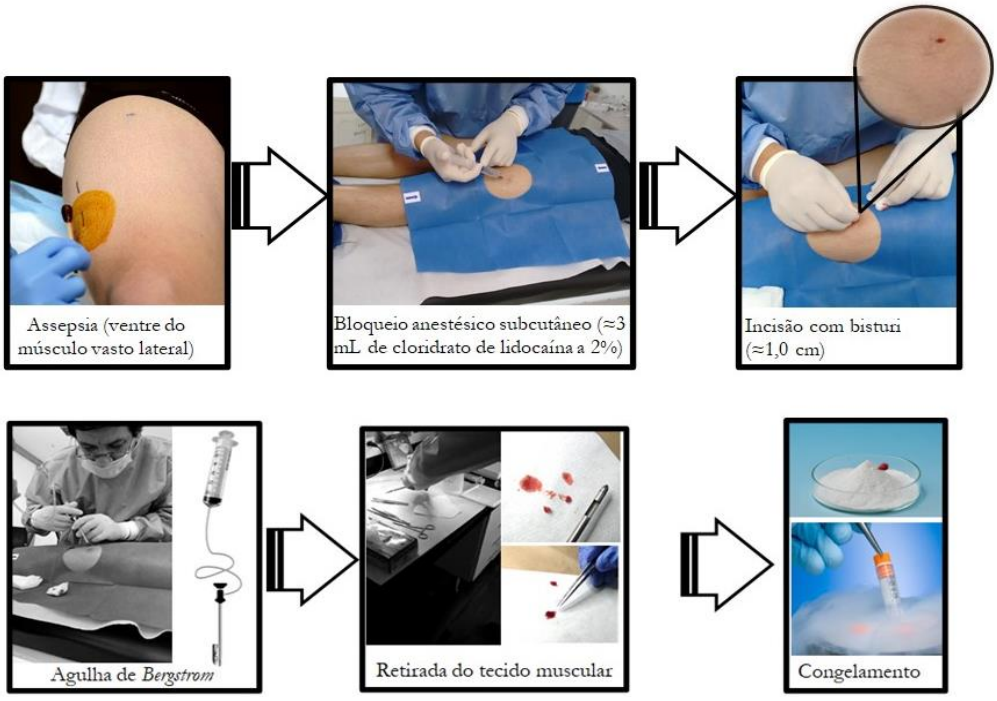


Figura 9. Etapas da biópsia muscular e preparação das amostras coletadas.

6.1.9. Análise das amostras de tecido muscular

A técnica de imunofluorescência foi realizada para análise da expressão de PAX-7 e PGC-1α. As amostras de tecido muscular foram fixadas nos blocos utilizando um composto O.C.T. de glicóis e resinas (Tissue-Tek, Sakura Finetek, Japan) e transversamente seccionadas à uma espessura de 6μm com auxílio do Criostato à -25ºC (Leica CM 1850 UV, Alemanha). Os cortes foram fixados manualmente em lâminas histológicas lapidadas e sinalizadas na dimensão de 26x76mm (StarFrost, Knittel, Alemanha). Em seguida, as lâminas montadas foram refrigeradas para armazenamento à -20° C.

No ensaio de imunofluorescência, após o lento descongelamento das lâminas armazenadas, os cortes foram incubados separadamente em anticorpos primários monoclonais de PAX-7 e PGC-1α (Santa Cruz Biotechnology, EUA), diluídas em BSA 1x (*mouse*; 1:10 e 1:50, respectivamente), ambas acompanhadas de anticorpo primário de laminina (*rabbit*; 1:200; ABCAM, EUA). Para tipagem das fibras do tipo I e IIa foram utilizados em um mesmo corte anticorpos de cadeia pesada de miosina tipo I (*mouse*; BA-D5, DSHB, Iowa, EUA), tipo IIa (*mouse*; N6.36, DSHB, Iowa, EUA) e laminina. Durante a incubação as lâminas foram posicionadas dentro de um recipiente opaco previamente umedecido para garantir que os cortes não secassem durante esse período e posicionados dentro de uma estufa à 37° C durante 1 h.

Uma hora depois, os cortes incubados passaram por 3 ciclos de 5 min de lavagem com 50 μL de PBS para retirada do anticorpo primário. Imediatamente após a remoção do PBS do último ciclo de lavagem foi pipetado 25 μL de anticorpo secundário para PAX-7 (*Alexa fluor Goat anti-mouse IgG1 488*) e PGC-1α (*Alexa fluor Goat anti-mouse IgG2a 488*), ao qual contaram também com anticorpos secundários de laminina (*Alexa fluor Goat anti-rabbit IgG 647*) e adição de 4',6-Diamidino-2-fenilindol dihidroclorídrico (DAPI) corante fluorescente, para coloração de núcleos. Já para a tipagem de fibras foram utilizados anticorpos secundários para fibras do tipo I (Alexa Fluor anti-mouse IgM 647) e II (Alexa Fluor 488 anti-mouse IgG), além da laminina (*Alexa fluor Goat anti-rabbit IgG 546*) e DAPI. Em seguida a lâmina foi encubada novamente durante 45 min à 37° C e submetida à 3 ciclos de lavagem com PBS e 1 ciclo de lavagem com água milli-Q. Após a retirada do líquido da lâmina foi adicionado 3 gotas do meio de montagem (~10 mg p-fenilenodiamina em glicerol 90% e PBS 1x) e cuidadosamente adicionada a lamínula. A lâmina montada foi selada utilizando esmalte e refrigerada à 4° C na vertical durante 48 h para secagem (Figura 10).

Posteriormente, imagens foram capturadas das lâminas montadas utilizado um microscópio confocal Leica SP5 (Leica Microsystems GmbH, Alemanha). No total foram capturas 3 imagens à 20x de regiões randômicas, localizando-se apenas pela integridade do tecido

muscular observado. O programa Leica LAS AF Lite (vesão 1.0, Leica Microsystems, Alemanha) foi utilizado para o processamento e análise das imagens capturadas. A quantificação de células satélites foi realizada por meio da contagem visual, ao qual foi feita uma média do número de núcleos que expressavam PAX-7 nas 3 imagens capturadas. Por outro lado, para quantificação da PGC-1α foi realizada uma média dos valores de densidade óptica das três imagens capturadas. Em ambas as análises, os dados foram normalizados em relação a quantidade de fibras musculares presentes na captura e aos valores de linha de base e apresentados em *fold change*.

Para tipagem das fibras musculares, as imagens foram capturadas utilizando o mesmo microscópio confocal (20x) de regiões randômicas, localizando-se apenas pela integridade do tecido muscular observado. A imagem capturada foi analisada de forma visual e contabilizada o número de fibras marcadas e identificadas como fibra do tipo I e II. A análise foi realizada de forma que no mínimo ~100 fibras musculares fossem analisadas por voluntário em cada momento. Os dados são apresentados em valores percentuais.

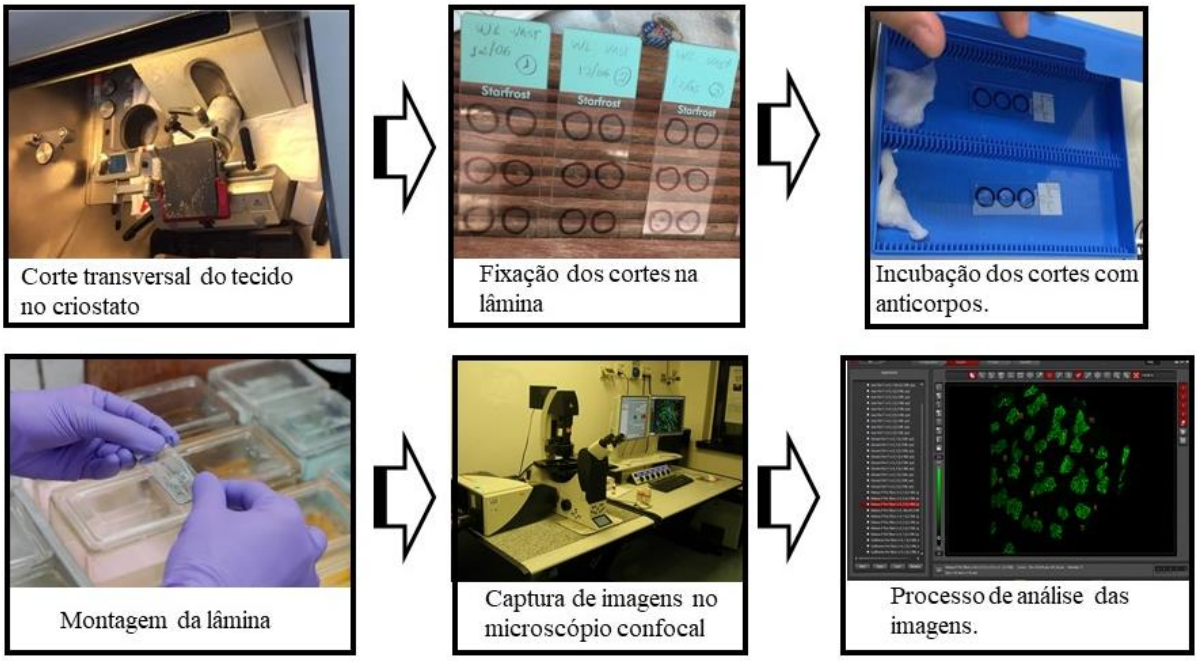


Figura 10. Etapas do ensaio de imunofluorescência.

6.2. Análise estatística

Para análise estatística dos dados foi usado o programa SPSS versão 23.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EUA). Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para fins de verificação da normalidade da distribuição. Após a confirmação da normalidade, os seguintes procedimentos estatísticos foram realizados:

Foi aplicado um modelo linear misto para comparação entre grupos (grupo controle e grupo IAF) e momentos (linha de base, Pós-I e Pós-II) nas variáveis de desempenho ($v\dot{V}O_{2max}$ e duração do teste de corrida até a exaustão), variáveis cardiorrespiratórias, marcadores de adaptação intramuscular (número células satélites, densidade óptica de PGC-1α e porcentagem de fibras do tipo I e II), DOMS, concentração sanguínea de CK e LDH, índices da VFC (rMSSD, LF, HF, LF:HF, SD1 e SD2) e SVCM. Caso necessário, o *post hoc* de Sidak foi utilizado para identificação das diferenças. Além disso, o teste t de student para amostras independentes foi aplicado para comparação entre os grupos dos deltas percentuais (Δ%) de $\dot{V}O_{2max}$, $v\dot{V}O_{2max}$, duração do teste de corrida até a exaustão, somatório carga das sessões (PSE e FC). Os resultados são apresentados em valores de média ± desvio padrão. Em todos os casos foi considerado um nível de significância de 5%.

6.3. Resultados

Na Tabela 3 são apresentadas as características dos voluntários. Não foi verificada diferença significativa entre as características dos voluntários ($p \geq 0,158$), demonstrando a homogeneidade dos grupos e que a randomização foi bem sucedida.

Tabela 3. Características antropométricas dos voluntários.

	Grupo controle *(n = 7)*	Grupo IAF *(n = 9)*	p-valor
Massa corporal (kg)	83,2 ± 20,7	80,7 ± 12,6	0,768
Estatura (cm)	178,0 ± 3,8	178,2 ± 4,8	0,941
Idade (anos)	28 ± 8	23 ± 3	0,158

IAF, imersão em água fria.

A aderência ao programa treinamento foi de 100%, isto é, todos os 16 voluntários realizaram 16 sessões de treinamento dentro da frequência previamente estipulada (três vezes por semana). Além disso, não houveram desistências ou exclusões ao longo do programa de treinamento.

No que se refere a controle de carga de treinamento, a carga interna acumulada determinada por meio da PSE da sessão no grupo controle foi 2607,7 ± 544,2 unidades arbitrárias (u.a.), enquanto que para o grupo IAF a carga interna acumulada foi 2558,2 ± 528,8 u.a. ($p = 0,857$). Foi verificado aumento significativo carga de treinamento ao longo das quatro

primeiras semanas de treinamento seguido de diminuição na última semana (polimento) (*efeito de tempo* $p < 0,001$). Apenas na 11° sessão de treinamento foi observada diferença significativa entre os grupos, quando o grupo IAF apresentou maiores valores de carga de treinamento comparado com o controle (*efeito grupo*tempo*, $F = 2,004$; $p = 0,021$; *post hoc* $p = 0,049$). Além disso, não foram verificadas diferenças significativas entre grupos (*efeito de grupo*, $F = 0,035$; $p = 0,853$) (Figura 11).

A carga interna acumulada determinada por meio da integral da FC nos grupos controle e IAF foram 3625554 ± 238794 bpm·s e 3594842 ± 160244 bpm·s, respectivamente ($p = 0,762$). Assim como os resultados anteriores, foi verificado aumento significativo carga interna ao longo das quatro primeiras semanas de treinamento seguido de diminuição na última semana (polimento) (*efeito de tempo*, $F = 416,343$; $p < 0,001$). Por outro lado, não foram verificadas alterações significativas na carga interna entre grupos (*efeito de grupo*, $F = 0,111$; $p = 0,743$) além de nenhuma interação entre os grupos (*efeito grupo*tempo*, $F = 2,093$; $p = 0,057$) (Figura 11).

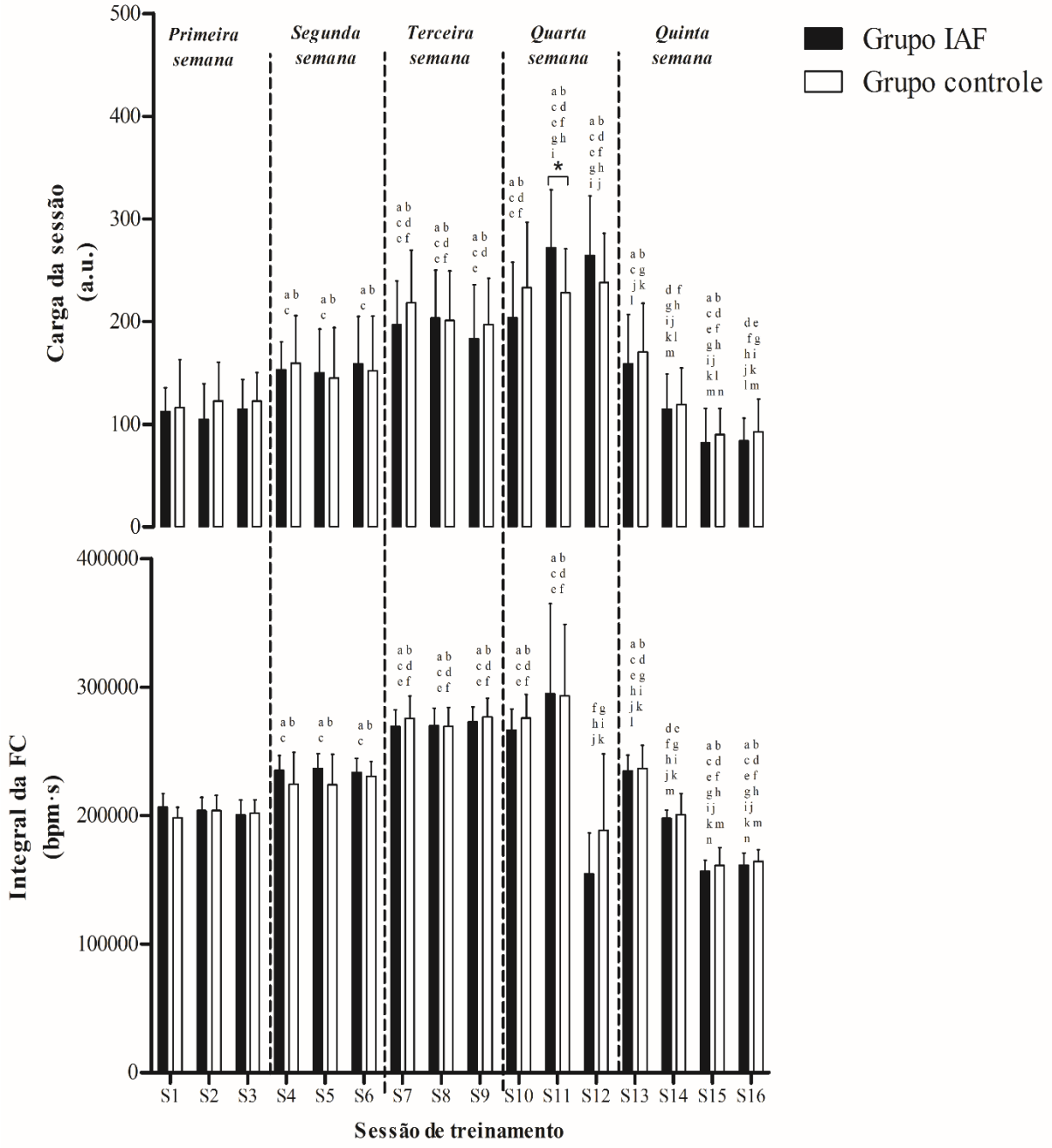


Figura 11. Carga da interna das sessões de HIIT mensurada por meio das respostas de PSE e FC dos grupos controle e IAF. [a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n] = Diferença significativa ao longo do tempo comparado com as sessões S1 à S16 (*Efeito de tempo*), respectivamente. * = Diferença significativa entre os grupos imersão em água fria e controle (*Interação grupo*tempo*). HIIT, treinamento intervalado de alta intensidade; IAF, imersão em água fria. FC, frequência cardíaca; PSE, percepção subjetivo de esforço.

As sessões de IAF tiveram uma temperatura média de 11,2 ± 0,2° C, sendo que o grupo controle permaneceu após as sessões de HIIT na sala de avaliação à uma temperatura de 20,7 ± 1,5° C.

6.3.1. Teste incremental máximo e teste de corrida até a exaustão

Em todos os testes incrementais (Pre, Pós-I e Pós-II) os voluntários atingiram o critério previamente determinado (diferença no $\dot{V}O_2$ < 2,1 $mL \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ comparado com o valor atingido no teste de confirmação) e, portanto, os parâmetros fisiológicos e de desempenho foram assumidos como máximos.

Na Figura 12 são apresentados os valores de $\dot{V}O_{2max}$ e $v\dot{V}O_{2max}$ do teste incremental máximo para os grupos controle e IAF na linha de base e nos momentos Pós-I e II. Foi verificado aumento significativo nos momentos Pós-I e Pós-II comparado com a linha de base para o $\dot{V}O_{2max}$ (*efeito de tempo*, F = 19,957; p < 0,001; *post hoc* p < 0,001) e $v\dot{V}O_{2max}$ (F = 25,474; p < 0,001; *post hoc* p < 0,001). Além disso, após uma semana de diminuição das cargas de treinamento ("polimento"), foram verificadas diferenças significativas entre Pós-I e Pós-II apenas para a $v\dot{V}O_{2max}$ (*post hoc* p = 0,032). Embora tenham sido verificadas melhorias significativas no $\dot{V}O_{2max}$ e na $v\dot{V}O_{2max}$ ao longo do tempo, não foram observadas diferenças entre grupos (*efeito de grupo*, F ≤ 0,053; p ≥ 0,822) e interações (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 0,249; p ≥ 0,783). Além disso, quando comparado o Δ% do $\dot{V}O_{2max}$ e $v\dot{V}O_{2max}$ também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e IAF (p ≥ 0,697).

Para os demais parâmetros respiratórios foram verificados aumentos significativos no $\dot{V}O_2$ expresso em valores absoluto no momento Pós-II em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 15,545; p = 0,001; *post hoc* p = 0,001), diminuições significativas no QR quando comparado o momento Pós-I e II com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 8,512; p = 0,002; *post hoc* p ≤ 0,034), enquanto que a FC diminuiu no momento Pós-I em comparação com a linha de base e aumentou comparado com Pós-II (*efeito de tempo*, F = 14,700; p = 0,001; *post hoc* p ≤ 0,01). Além disso, o [La-] pico também diminuiu significativamente nos momentos Pós-I e II comparado com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 631,709; p ≤ 0,001; *post hoc* p ≤ 0,001). Apesar desses efeitos ao longo do tempo, não foram verificadas interações (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 1,618; p ≥ 0,221) e efeitos de grupos (*efeito de grupo*, F ≤ 4,362; p ≥ 0,057) entre os grupos controle e IAF para nenhuma dessas variáveis (Tabela 4).

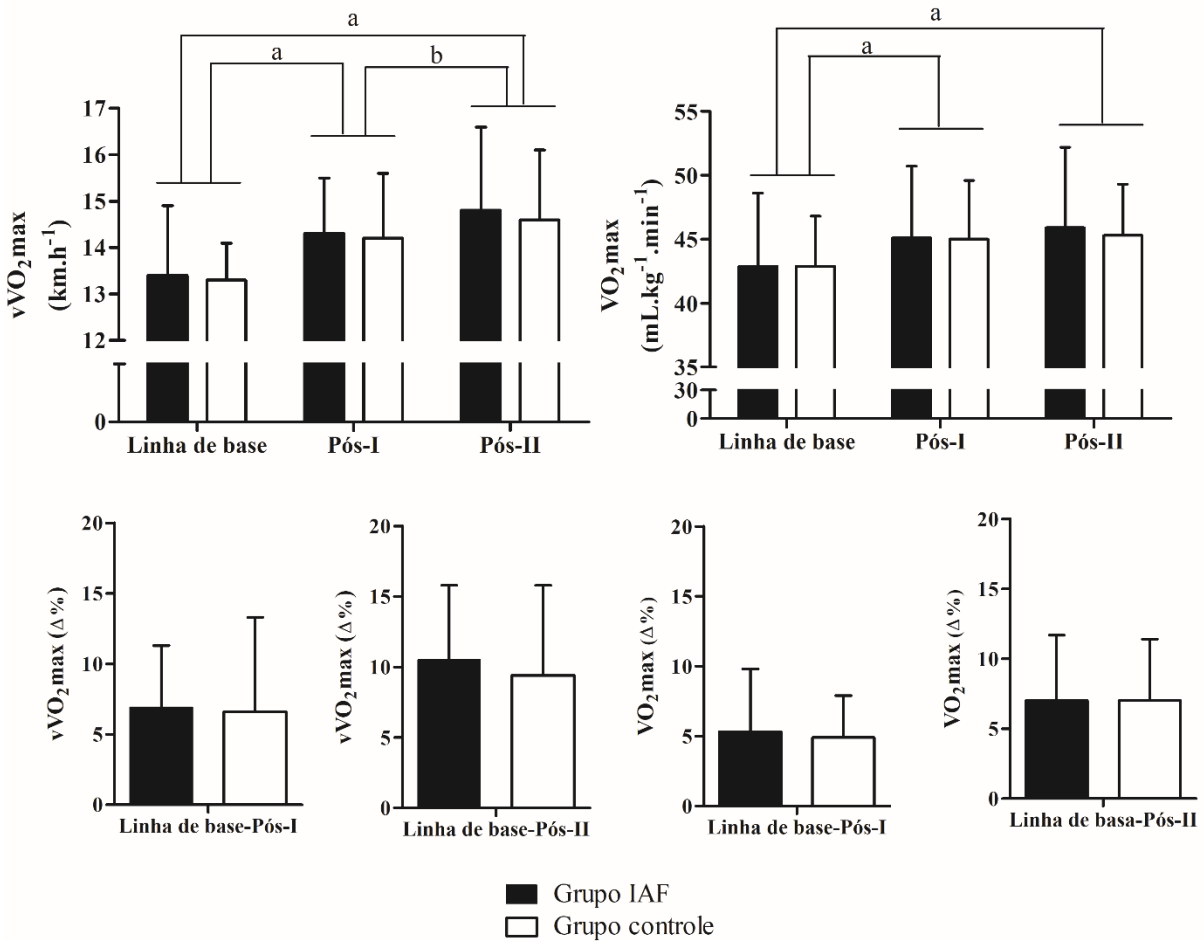


Figura 12. Consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2max}$) e menor velocidade associada ao $\dot{V}O_{2max}$ ($v\dot{V}O_{2max}$) determinados no teste incremental máximo. [b]*Efeito de tempo:* diferença significativa em comparação com o momento Pós-I. IAF, imersão em água fria.

Tabela 4. Parâmetros cardiorrespiratórios e metabólicos de exaustão no teste incremental máximo.

	Grupo controle			Grupo IAF			*Interação*		*Efeito de tempo*		*Efeito de grupo*	
	Linha de base	Pós-I	Pós-II	Linha de base	Pós-I	Pós-II	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
$\dot{V}O_2$ (mL/min)	3517,5 ± 648,2	3679,5 ± 632,9	3650,5 ± 557,0	3434,5 ± 524,8	3586,4 ± 456,2	3604,0 ± 435,8	0,345	0,709	15,545	0,001[aa]	0,083	0,777
$\dot{V}CO_2$ (mL/min)	4002,6 ± 731,7	3986,3 ± 744,7	4099,3 ± 482,3	4159,9 ± 714,7	4031,1 ± 522,4	4091,1 ± 513,8	0,543	0,591	1,559	0,240	0,046	0,834
$\dot{V}E$ (L/min)	135,9 ± 19,8	141,6 ± 17,5	142,3 ± 9,7	140,8 ± 24,3	143,2 ± 23,6	150,5 ± 31,6	1,100	0,347	2,821	0,077	0,188	0,671
QR	1,16 ± 0,0	1,10 ± 0,0	1,14 ± 0,0	1,23 ± 0,1	1,14 ± 0,0	1,15 ± 0,0	1,392	0,268	8,512	0,002[a aa]	4,362	0,057
FC (bpm)	190 ± 9	183 ± 9	186 ± 1	191 ± 7	185 ± 5	190 ± 6	0,566	0,577	14,700	0,001[ab]	0,385	0,545
[La-]-pico (mmol/L)	10,0 ± 1,6	8,6 ± 1,5	9,9 ± 2,4	9,9 ± 1,6	8,9 ± 1,3	10,4 ± 1,6	0,087	0,917	631,709	0,001[a aa]	0,010	0,920
PSE (u.a.)	18 ± 2	17 ± 2	18 ± 2	19 ± 1	19 ± 1	18 ± 1	1,618	0,221	0,272	0,764	0,596	0,453

$\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; $\dot{V}E$, ventilação; QR, coeficiente respiratório; FC, frequência cardíaca; [La-], concentração sanguínea de lactato; IAF, imersão em água fria; PSE, percepção subjetiva de esforço. [a]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa da linha de base com o momento Pós-I. [aa]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa da linha de base com o momento Pós-II. [b]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa do momento Pós-I com o momento Pós-II.

Os testes de corrida até exaustão foram realizados nas velocidades de 13,3 ± 0,8 para o grupo controle e 13,4 ± 1,5 km·h^{-1} para o grupo IAF (p = 0,859) e correspondente a 100% da $v\dot{V}O_{2max}$ mensurada na linha de base, sendo que essa velocidade foi mantida para as avaliações subsequentes (Pós-I e Pós-II).

Os resultados de desempenho do teste de corrida até exaustão são apresentados na Figura 13. Foram verificados aumentos significativos no tempo até exaustão (*efeito de tempo*, F = 20,871; p ≤ 0,001) nos momentos Pós-I e Pós-II em comparação com a linha de base (*post hoc* p ≤ 0,001), e no momento Pós-I comparado com o Pós-II (*post hoc* p = 0,003). Apesar da melhora do desempenho no teste de corrida até exaustão ao longo do tempo, não foi observada nenhuma diferença entre grupos (*efeito de grupo*, F ≤ 1,350; p ≥ 0,264) e interação (*efeito grupo*tempo*, F = 1,393; p = 0,265) quando o desempenho foi expresso em valores absolutos e também nas comparações entre Δ% (Pós-I: p = 0,154; Pós-II: p = 0,169).

Em relação aos parâmetros de exaustão do teste de corrida, foi verificado aumento significativo no $\dot{V}O_2$ nos momentos Pós-I e II em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 6,402; p = 0,007; *post hoc* p ≤ 0,048). Por outro lado, foram verificadas diminuições significativas do QR no momento Pós-I em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 4,323; p = 0,023; *post hoc* p = 0,023). A FC também diminuiu significativamente apenas no momento Pós-I em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 6,735; p = 0,004; *post hoc* p = 0,008). De forma semelhante, o [La-] pico também diminuiu significativamente no momento Pós-I em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 4,586; p = 0,021; *post hoc* p = 0,044). No entanto, para as demais variáveis de exaustão do teste de corrida ($\dot{V}O_2$ absoluto, $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}E$ e PSE) não foi verificada nenhuma alteração ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F ≤ 3,490; p ≥ 0,053). Além disso, não foram verificadas interações (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 1,618; p ≥ 0,221) e efeito de grupo (*efeito grupo*, F ≤ 0,580; p ≥ 0,458) entre os grupos controle e IAF para nenhuma dessas variáveis (Tabela 5).

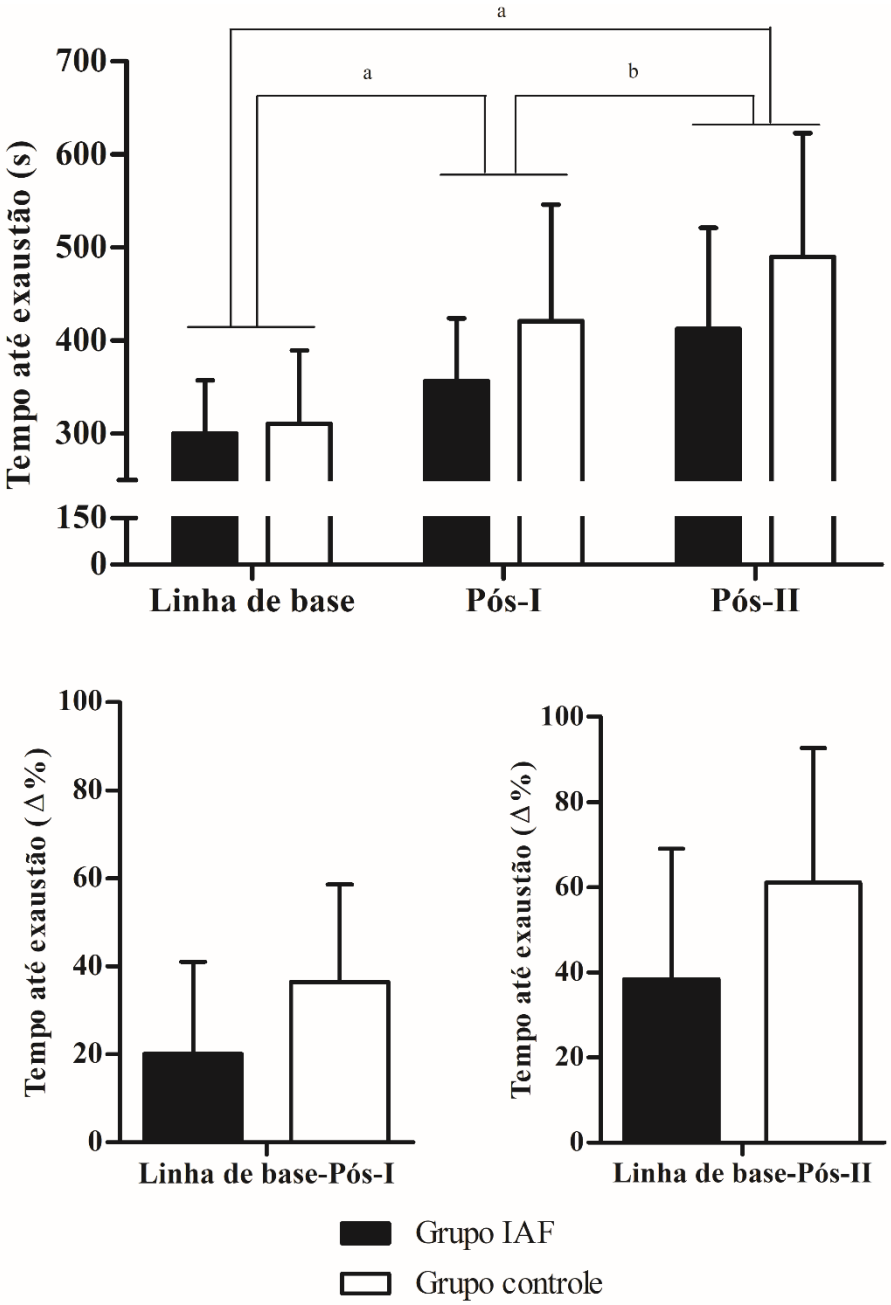


Figura 13. Desempenho no teste de corrida até a exaustão expresso em tempo (s) e delta percentual (Δ%). IAF, imersão em água fria. [a]*Efeito de tempo:* diferença significativa em comparação com a linha de base. [b]*Efeito de tempo:* diferença significativa em comparação com o momento Pós-I.

Tabela 5. Parâmetros cardiorrespiratórios, metabólico e PSE no teste de corrida até exaustão.

	Grupo controle			Grupo IAF			*Interação*		*Efeito de tempo*		*Efeito de grupo*	
	Linha de base	Pós-I	Pós-II	Linha de base	Pós-I	Pós-II	F	p-valor	F	p-valor	F	p-valor
$\dot{V}O_2$ (mL·kg^{-1}·min^{-1})	42,7 ± 3,9	44,1 ± 4,5	45,1 ± 5,1	42,9 ± 5,8	44,4 ± 6,0	44,4 ± 5,4	0,378	0,690	6,402	0,007[a aa]	0,001	0,978
$\dot{V}O_2$ absoluto (mL·min^{-1})	3512,8 ± 717,9	3605,5 ± 648,5	3628,0 ± 497,2	3385,3 ± 508,6	3516,5 ± 487,6	3508,4 ± 483,5	0,119	0,889	3,490	0,053	0,168	0,688
$\dot{V}CO_2$ (mL·min^{-1})	4007,7 ± 762,9	3837,6 ± 741,8	3842,5 ± 715,8	3833,8 ± 626,4	3799,3 ± 550,8	3800,3 ± 557,6	18,462	0,949	2,157	0,144	0,069	0,797
$\dot{V}E$ (L·min^{-1})	137,9 ± 16,3	135,6 ± 20,1	140,3 ± 16,7	136,8 ± 20,4	138,7 ± 24,9	139,4 ± 28,6	0,485	0,623	0,726	0,496	0,001	0,970
QR	1,14 ± 0,04	1,06 ± 0,03	1,05 ± 0,08	1,13 ± 0,05	1,08 ± 0,05	1,08 ± 0,05	0,609	0,551	4,323	0,023[a]	0,580	0,458
FC (bpm)	182,5 ± 8,8	177,8 ± 12,1	181,3 ± 7,5	183,3 ± 8,6	177,0 ± 6,7	180,1 ± 9,8	0,148	0,863	6,735	0,004[a]	0,015	0,903
[La-] pico (mmol·L^{-1})	9,7 ± 2,2	8,6 ± 1,7	8,6 ± 2,0	9,8 ± 1,1	9,1 ± 1,8	9,3 ± 1,4	0,491	0,618	4,586	0,021[a]	0,315	0,583
PSE (a.u.)	17,6 ± 1,3	17,1 ± 1,1	17,5 ± 1,3	17,9 ± 1,1	17,2 ± 1,4	17,8 ± 1,9	0,078	0,925	1,873	0,180	0,144	0,710

$\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; $\dot{V}E$, ventilação; QR, coeficiente respiratório; FC, frequência cardíaca; [La-], concentração sanguínea de lactato; PSE, percepção subjetiva de esforço. [a]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa da linha de base com o momento Pós-I. [aa]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa da linha de base com o momento Pós-II.

6.3.2. Adaptações intramusculares

Na Figura 14 são apresentados os resultados da contagem de célula satélites (PAX-7) relativizados pelo número de fibras musculares na linha de base e nos momentos Pós-I e II. Foram verificados aumentos significativos no número de células satélites (*efeito de tempo*, F = 6,763; p = 0,006) no momento Pós-I em comparação com a linha de base e com o momento Pós-II (*post hoc* p ≤ 0,018). Além disso, o grupo IAF apresentou maiores valores de número de células satélites em comparação com o grupo controle (*efeito de grupo*, F = 0,036; p = 5,361). No entanto, apesar desse resultado, não foi observada nenhuma interação entre os grupos (*efeito grupo*tempo*, F = 22,333; p = 0,601). Além disso, a resposta do número de células satélites expresso em *fold change* também apresentou aumento significativo no momento Pós-I em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 4,772; p = 0,018; *post hoc* p = 0,030). Apesar desses efeitos de tempo, também não foi observada nenhuma interação entre os grupos (*efeito grupo*tempo*, F = 0,257; p = 0,775) e nenhum *efeito de grupo* (F = 0,009; p = 0,924).

Na Figura 15 são apresentados os dados de densidade óptica de PGC-1α relativizados pelo número de fibras musculares de ambos os grupos na linha de base e nos momentos Pós-I e II. Foram verificados aumentos significativos na densidade óptica de PGC-1α (efeito de tempo, F = 4,332; p = 0,031) no momento Pós-I em comparação com a linha de base (post hoc p ≤ 0,023). No entanto, não foram observadas interações (efeito grupo*tempo, F = 0,144; p = 0,867) e *efeito de grupo* (F = 0,834; p = 0,372). De forma similar, a resposta da PGC-1α expressa em *fold change* não aumentou significativamente no momento Pós-I em comparação com a linha de base (*efeito de tempo*, F = 4,499; p = 0,023; post hoc p = 0,036). No entanto, também não foram observadas interações (*efeito grupo*tempo*, F = 0,403; p = 0,673) e *efeito de grupo* (F = 0,282; p = 0,600).

Na Figura 16 são apresentados os resultados da tipagem de fibras de ambos os grupos na linha de base e nos momentos Pós-I e II expressos em Δ% e *fold change*. Não foram verificadas alterações significativas ao longo do tempo no percentual (Δ%) de fibras do tipo-I e II (*efeito de tempo*, F ≤ 1,960; p = 0,175). Além disso, não foram observadas interações (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 1,257; p ≥ 0,312) e *efeito de grupo* (F ≤ 1,145; p = 0,302). De forma similar, quando expresso em *fold change* também não foram verificadas alterações ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F ≤ 2,063; p = 0,147) e efeitos de grupo (F ≤ 2,158; p = 0,164) e interações (F ≤ 1,210; p = 0,314).

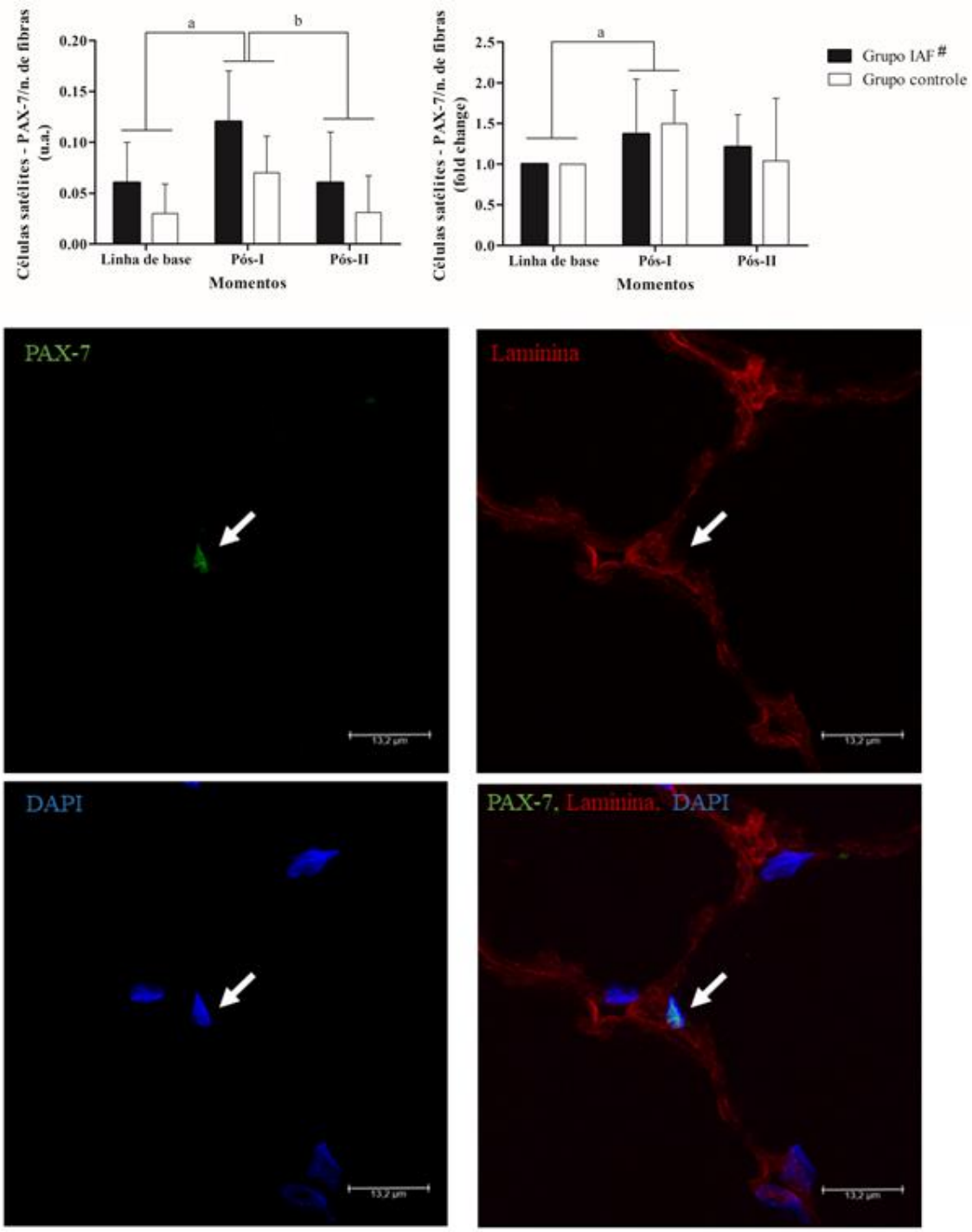


Figura 14. Contagem de células satélites (PAX-7) relativizada pelo número de fibras e imagens ilustrativas do processo de identificação. [a]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa em comparação com a linha de base. [b]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa em comparação com o momento Pós-I. [#]*Efeito de grupo:* diferença significativa entre grupos apenas para os dados não relativizados. →, indica a localização da célula satélite.

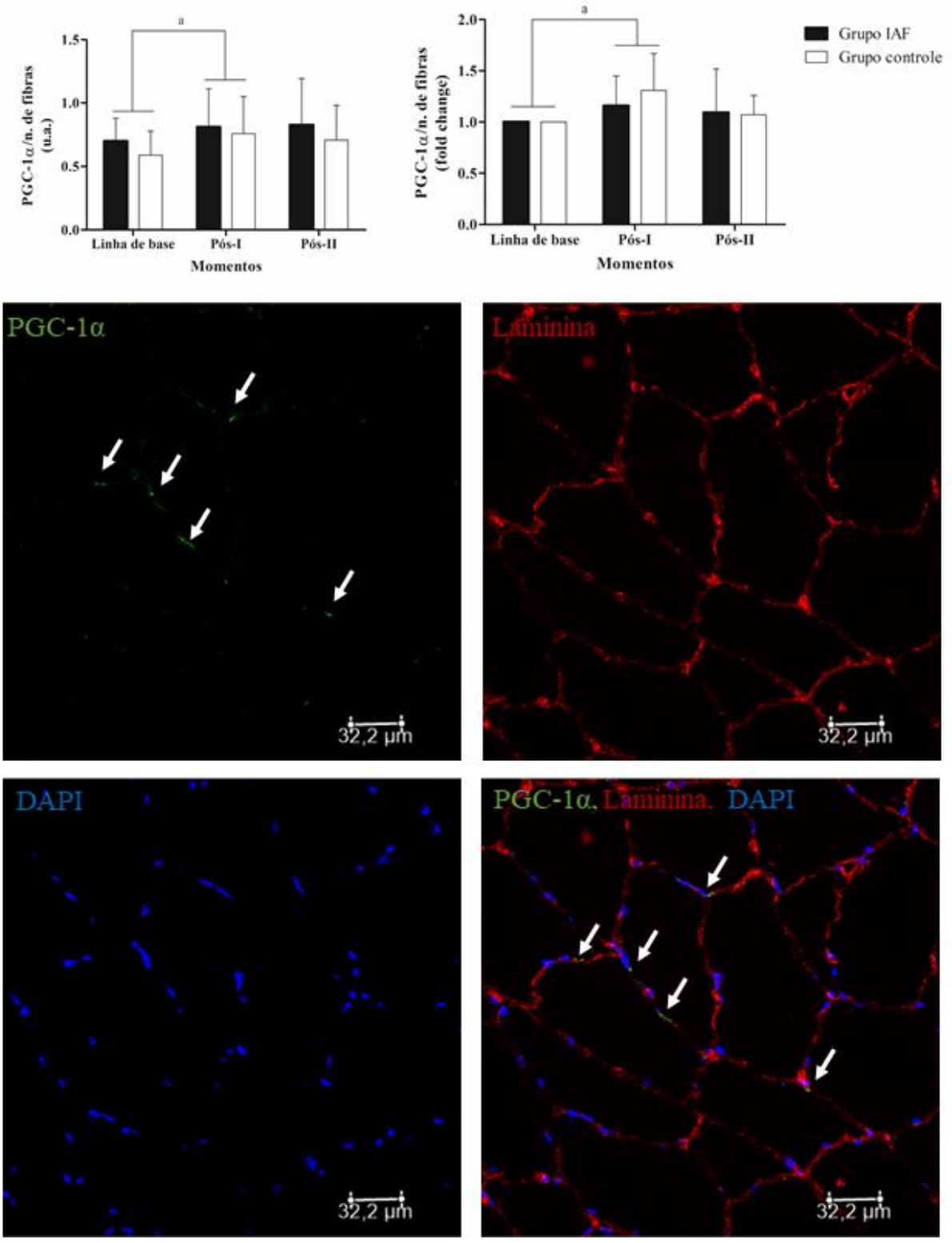


Figura 15. Densidade óptica da PGC-1α relativizada pelo número de fibras e imagens ilustrativas do processo de identificação. Grupo imersão em água fria n = 5; Grupo controle n = 3. [a]*Efeito de tempo post hoc:* diferença significativa em comparação com a linha de base. →, indica a localização da expressão de PGC-1α.

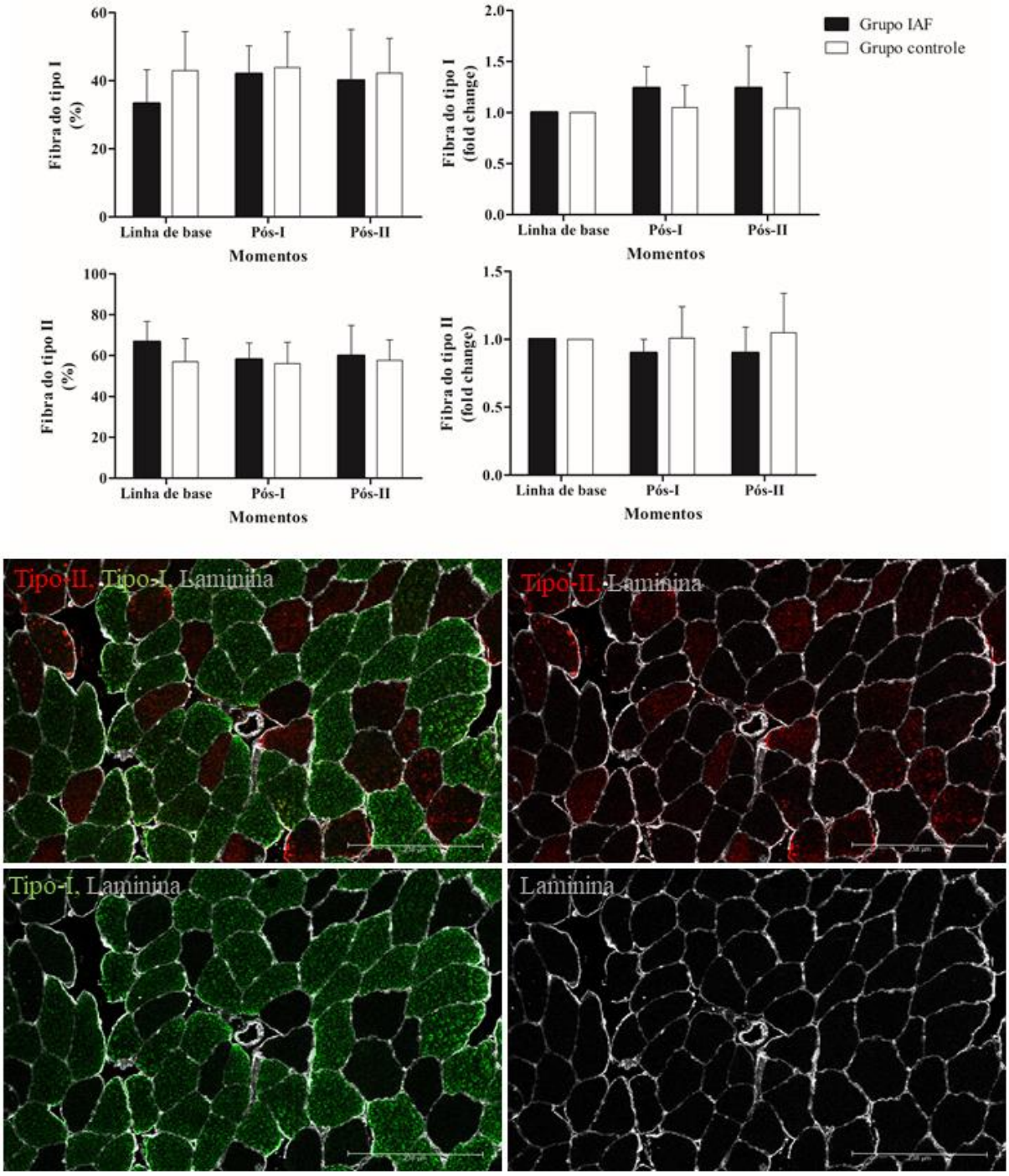


Figura 16. Tipagem das fibras musculares dos grupos IAF e controle na linha de base e nos momentos Pós-I e II expresso em valores percentuais e *fold change*. IAF, imersão em água fria.

6.3.3. Monitoramento da recuperação

Na Figura 17 são apresentados os resultados de concentração sanguínea de CK e LDH (*Fold change*) para os grupos IAF e controle. Ao longo do tempo, o aumento na concentração sanguínea de LDH foi mais expressivo na segunda semana de treinamento em comparação com a quarta semana (*efeito de tempo*, F = 4,333; p = 0,024; *post hoc* p = 0,024). Por outro lado, a

concentração sanguínea de CK não se alterou ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F = 1,774; p = 0,187). Além disso, não foram verificadas interações (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 0,63; p ≥ 0,804) e *efeito de grupo* (*efeito grupo*, F ≤ 0,296; p ≥ 0,589) para a concentração sanguínea de CK e LDH.

Na Figura 18 são apresentados os resultados da DOMS (Δ%) para os grupos controle e IAF ao longo das 5 semanas de treinamento. Não foram verificadas alterações da DOMS ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F = 1,757; p = 0,055), além disso, não foi verificada nenhuma interação (*efeito grupo*tempo*, F = 0,998; p = 0,461) e *efeito de grupo* (*efeito grupo*tempo*, F = 0,022; p = 0,885).

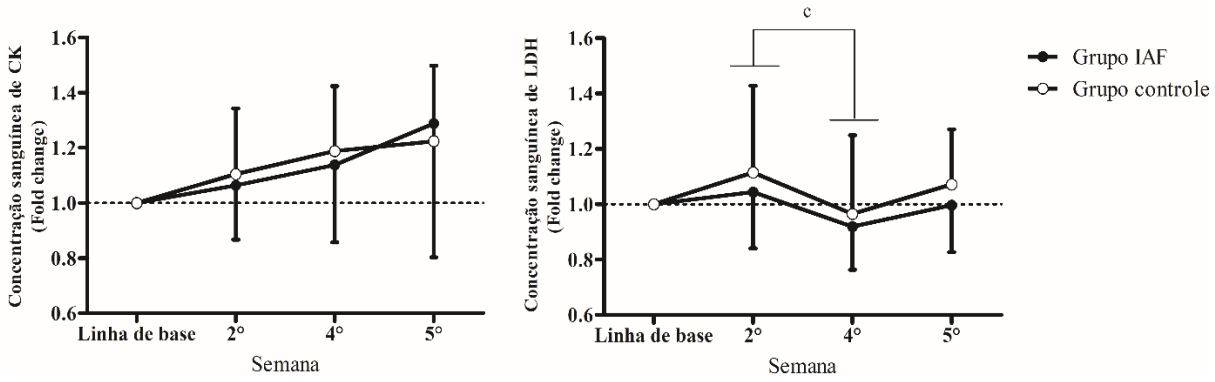


Figura 17. Concentração sanguínea de CK e LDH (*Fold change*). [c] *efeito de tempo*: diferença significativa em comparação à 4° semana.

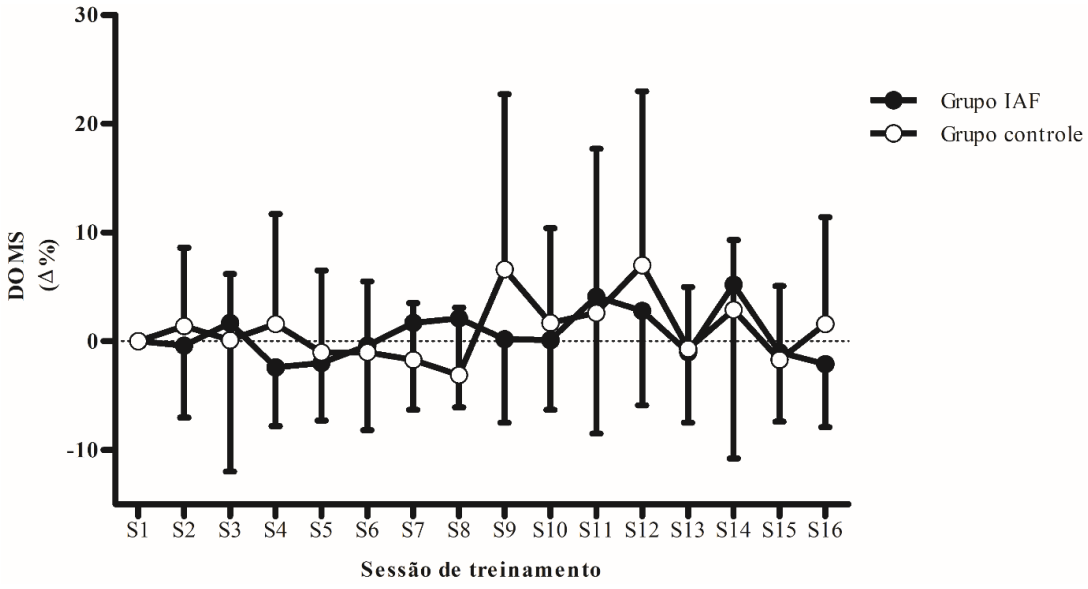


Figura 18. Dor muscular de início tardio (DOMS) ao longo do programa de treinamento expresso em percentual de diferença em relação ao momento S1 (Δ%). IAF, imersão em água fria.

Na Figura 19 são apresentados os resultados de desempenho do SVCM (altura do salto) em Δ%. Não foram verificadas alterações de desempenho no SVCM ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F = 1,691; p = 0,069), além disso, não foi verificada nenhuma interação entre os grupos (*efeito grupo*tempo*, F = 0,582; p = 0,874) e *efeito de grupo* (F ≤ 0,529; p = 0,479). Quando comparados os demais parâmetros do SVCM foram verificadas alterações significativas ao longo do tempo na força pico da fase excêntrica (*efeito de tempo*, F = 2,857; p = 0,001) e concêntrica (*efeito de tempo*, F = 2,464; p = 0,005). Por outro lado, não houveram alterações da potência pico ao longo do tempo (*efeito de tempo*, F = 1,402; p = 0,165). Corroborando com os resultados de altura do salto, nenhuma interação (*efeito grupo*tempo*, F ≤ 1,451; p ≥ 0,143) e *efeito de grupo* (F ≤ 4,519; p ≥ 0,052) foram verificados entre os grupos controle e IAF para os demais parâmetros de performance do SVCM (Figura 19).

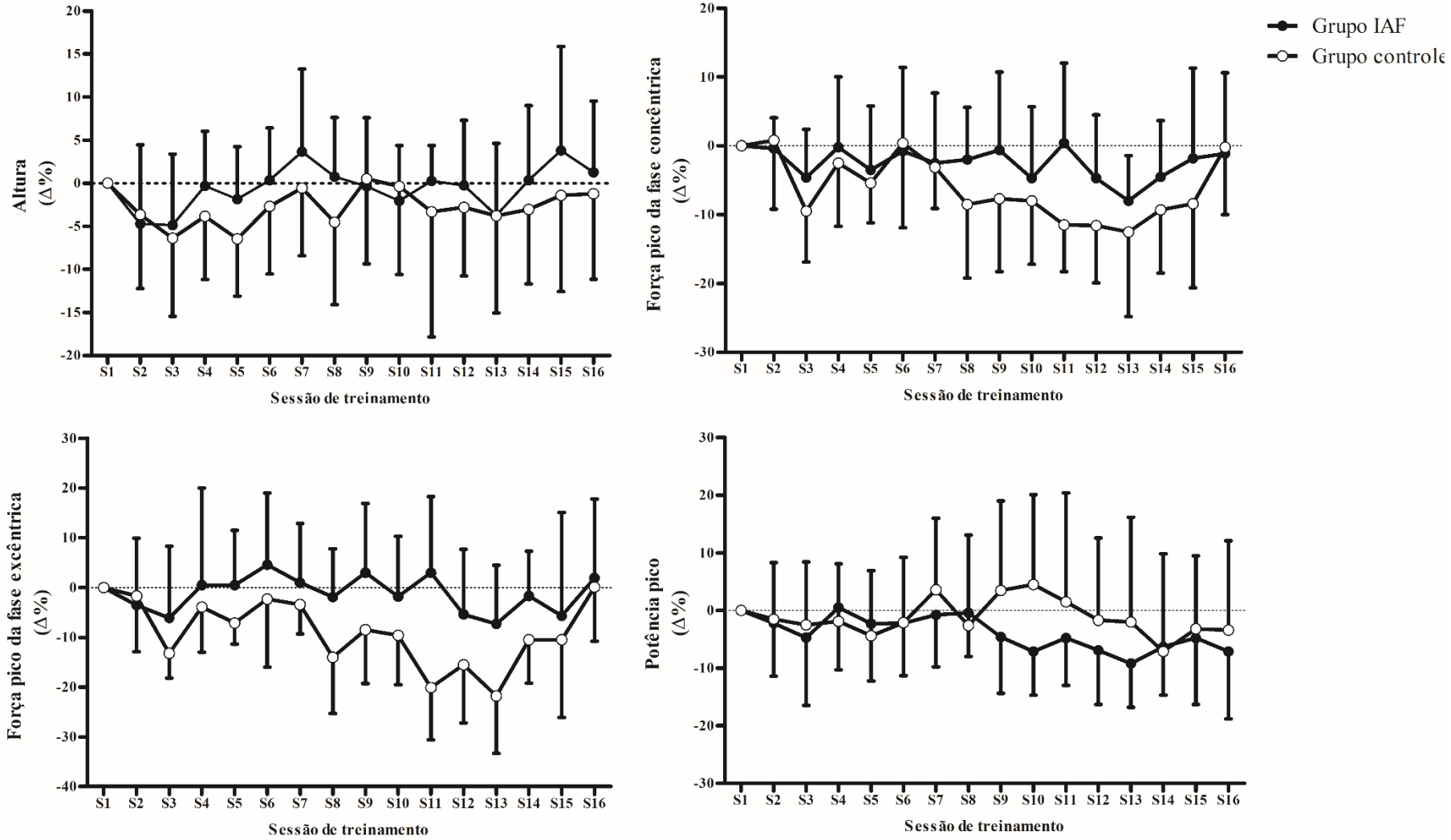


Figura 19. Desempenho no salto vertical contra movimento (SVCM) expresso em percentual de diferença em relação ao momento S1 (Δ%). IAF, imersão em água fria.

Na Figura 20 são apresentadas as médias semanais de rMSSD, LF, HF, razão LF:HF, SD1 e SD2 em Δ%. Não foram verificadas alterações ao longo do tempo da rMSSD, LF, HF, LF:HF, SD1 e SD2 (*efeito de tempo*, $F \leq 2{,}163$; $p \geq 0{,}114$), além disso, não foi verificada nenhuma interação entre os grupos (*efeito grupo*tempo*, $F \leq 1{,}482$; $p \geq 0{,}250$). Por outro lado, um efeito de grupo foi verificado apenas na razão LF:HF (*efeito grupo*, $F = 4{,}624$; $p = 0{,}049$), no entanto, esse efeito não foi verificado para os demais parâmetros (*efeito grupo*, $F \leq 3{,}457$; $p \geq 0{,}083$).

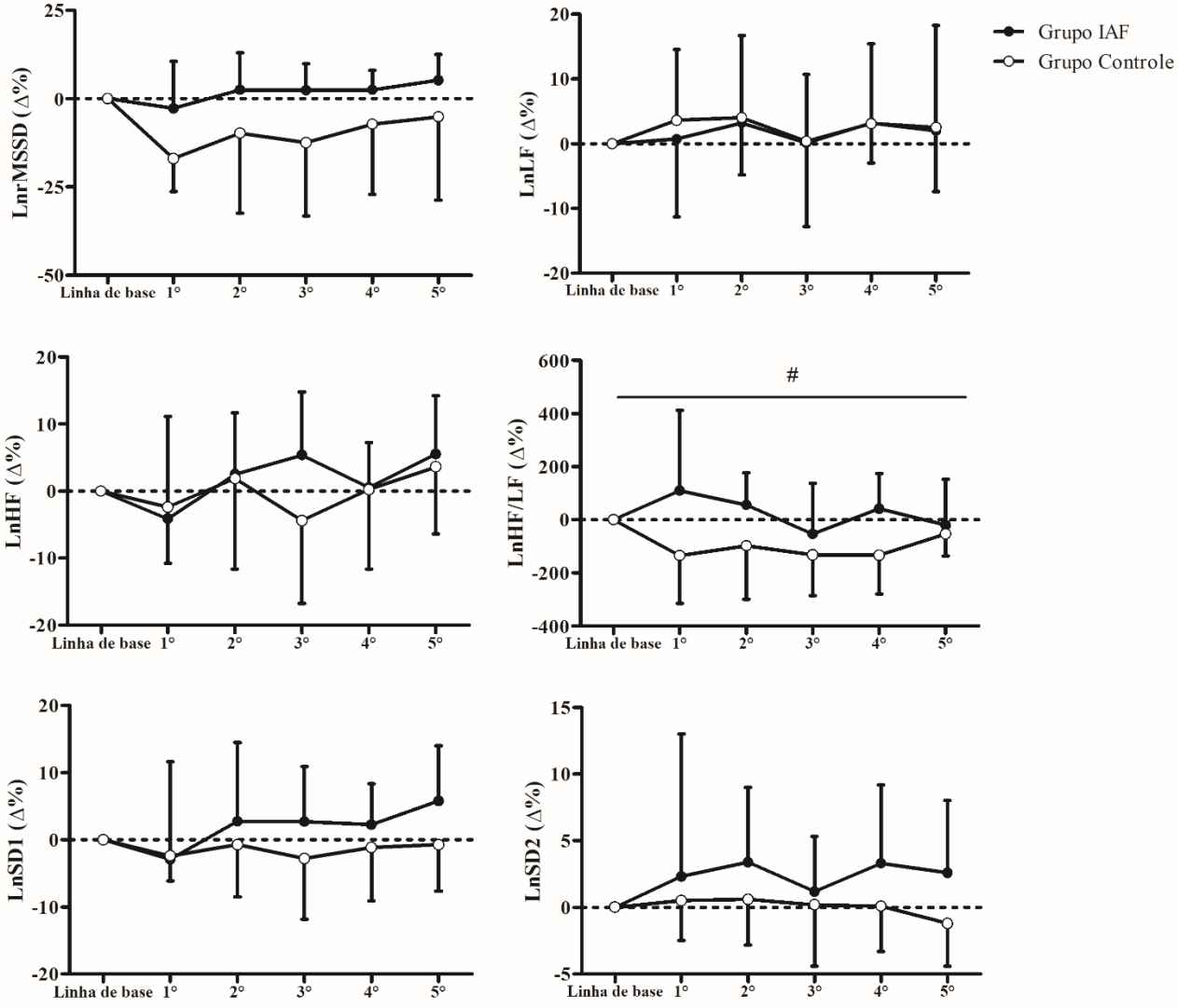


Figura 20. Médias semanais de rMSSD, LF, HF, razão LF:HF, SD1 e SD2 expresso em Δ% para os grupos controle e IAF. #*Efeito de grupo:* diferença significativa entre grupos. rMSSD, raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes; LF, potência de baixa frequência; HF, potência de alta frequência; HF:LF, razão de potência HF e LF; SD1, desvio padrão perpendicular à linha de identidade; SD2, desvio padrão paralelo à linha de identidade.

6.4. Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de 5 semanas de IAF após sessões de HIIT sobre adaptações intramusculares (*pool* células satélites, expressão de PGC-1α e proporção de fibras do tipo I e IIa), indicadores de recuperação (marcadores sistêmicos de dano muscular, DOMS, VFC e desempenho neuromuscular), carga interna das sessões, parâmetros cardiorrespiratórios e do desempenho em corrida. Nossos principais achados foram que a IAF não afetou a longo prazo o aumento do *pool* células satélites e expressão de PGC-1α, além disso, a proporção de fibras do tipo I e IIa também parece não sofrer nenhum tipo de alteração. Em consonância com esses resultados, a IAF não alterou parâmetros de monitoramento da recuperação, tal como DOMS, VFC, concentração sanguínea de CK e LDH e desempenho neuromuscular, e ainda, não afetou a carga interna da sessão ao longo do programa de treinamento. Finalmente, nenhuma alteração foi verificada nos ganhos de desempenho em corrida e na melhora de indicadores de aptidão cardiorrespiratória. Portanto, com base nesses resultados, nossa hipótese inicial foi refutada.

As células satélites são células quiescentes caracterizadas pela expressão de PAX-7 que possuem como principal função o processo de reparo e remodelamento muscular. É comum o aumento do *pool* de células satélites (quantidade de células no tecido) na musculatura após um programa de treinamento, esse aumento pode ser assumido como uma adaptação ao treinamento e é um forte indício de que células satélites foram previamente ativadas. Sabe-se também que o *pool* de células satélites aumenta mesmo após treinamentos não hipertróficos, o que também foi verificado no presente estudo, e esse aumento ocorre principalmente devido ao processo de adaptação e remodelamento muscular, uma vez que esse tipo de exercício não é caracterizado por induzir altos graus de dano muscular (JOANISSE et al., 2013).

Com base nos achados de Roberts et al. (2015b) que verificaram uma inibição aguda da ativação de células satélites após uma sessão de exercício resistido seguida da IAF, esperávamos que a longo prazo essa mitigação da ativação dessas células culminasse em aumentos menos expressivos do *pool* de células satélites na musculatura. No entanto, nenhuma diferença significativa foi verificada no presente estudo no *pool* de células satélites entre os grupos controle e IAF, o que parece indicar que, agudamente, células satélites não deixam de ser ativadas quando realizado o HIIT seguido de IAF.

Ainda sobre os marcadores de adaptação intramuscular, no presente estudo a IAF também não alterou a expressão de PGC-1α ainda que o treinamento tenha aumentado a presença dessa proteína nas análises pós treinamento. O aumento da presença de PGC-1α no núcleo da célula incrementam a transcrição de fatores responsáveis pela biogênese mitocondrial

que podem induzir a melhorias nos processos oxidativos na musculatura (GIBALA et al., 2012). Previamente à nossa investigação apenas dois estudos investigaram o efeito do uso regular da IAF sobre o conteúdo muscular de PGC-1α quando associada ao HIIT, uma vez que esse método poderia afetar vários aspectos importantes para sua síntese (aporte de nutrientes e oxigênio, atividade enzimática, etc) (AGUIAR et al., 2016; BROATCH; PETERSEN; BISHOP, 2017). No entanto, corroborando com nossos achados, nenhum efeito foi verificado nesses estudo, embora algumas investigações tenham observado um aumento na expressão aguda de RNAm PGC-1α (IHSAN et al., 2014), que acaba não consolidando-se em aumentos de conteúdo dessa proteína.

Contrapondo esses resultados, existem também indícios de que a IAF possa diminuir a expressão aguda de RNAm de PGC-1α e que algum fator sistêmico tenha um papel central nessa diminuição (ALLAN et al., 2017), pois foi verificado que ao imergir um membro em água fria e posicionar o outro fora da água, as duas musculaturas apresentam uma diminuição na expressão de RNAm de PGC-1α em comparação com um grupo controle. Uma possível explicação poderia ser o aumento da normetanefrina plasmática (metabólito da norepinefrina), muito comum após a IAF, que pode afetar os eventos locais de fosforilação da sinalização de AMPK na subunidade catalítica Thr172 com potenciais efeitos de diminuição nas taxas de expressão de PGC-1α mRNA (ALLAN et al., 2017). No entanto, não se sabe essa inibição traria impactos significativos a longo prazo, portanto, maiores investigações são necessárias para verificar os potenciais mecanismos da interação entre a IAF e o conteúdo e expressão de PGC-1α.

No presente estudo, a IAF não afetou significativamente a proporção de fibras do tipo I e II, e esse parâmetro não se alterou ao longo do tempo em decorrência do HIIT, ainda que aumentos significativos tenham sido verificados em importantes indicadores de adaptação do metabolismo aeróbio ($\dot{V}O_{2max}$ e MAP, por exemplo). Apesar da IAF aparentemente não afetar a proporção de fibras musculares, esperava-se que houvesse mudança na proporção de fibras do tipo I em decorrência do HIIT, principalmente após a verificação do aumento na expressão de PGC-1α, proteína indutora de adaptações oxidativas e uma das principais mediadoras na transição de fibras musculares do tipo II para o tipo I (BAAR et al., 2002; RUSSELL et al., 2003). Uma possível explicação para essa não alteração seja a curta duração do programa de treinamento que possivelmente não foi o suficiente para gerar mudanças significativas na composição das fibras (WILSON et al., 2012).

No presente estudo o uso regular da IAF não gerou alterações no ganho de desempenho, tanto na MAP (teste incremental máximo) como no teste de corrida até exaustão. Esses

resultados corroboram nossos achados do estudo de revisão citado anteriormente (parte I) e com alguns estudos prévios que associaram IAF à programas de HIIT curto, SIT e treinamentos mistos (SIT + esforços contínuos) em cicloergômetro. Por exemplo, Broatch et al. (2017) investigaram o efeito do uso regular da IAF (15 min/10° C) associada ao SIT (6 semanas), e não verificaram nenhuma alteração significativa no ganho de desempenho em teste incremental e no *time-trials* de 2 e 20 km. Corroborando com esses achados, Aguiar et al. (2016) também não verificaram diferenças significativas entre os grupos no desempenho em teste incremental e *time-trial* 15 km, embora ambos tenham melhorado ao longo do tempo.

Nesse cenário, reforçando os achados da parte I, os efeitos deletérios da IAF parecem ser de fato "esforço dependente", pois esses resultados são diferentes quando a IAF é associada ao treinamento resistido (FRÖHLICH et al., 2014; ROBERTS et al., 2015b). Uma possível explicação para essa dependência sejam as características dos esforços resistidos (intensidade, tipo de contração, etc), que podem gerar danos musculares de maior grau se comparado com HIIT (PEAKE et al., 2017). Com base nos resultados de Roberts et al. (2015b), o dano muscular e o consequente reparo desse tecido atingido parecem ser o processo chave dos efeitos deletérios da IAF sobre o ganho de desempenho quando associada ao treinamento resistido. Isso se deve, principalmente, a supressão aguda do processo de ativação de células satélites no músculo em grupos submetidos a IAF em comparação com o grupo controle, efeito que gerou cronicamente prejuízos no ganho de força e na hipertrofia muscular (ROBERTS et al., 2015b).

Em sintonia com os achados nas variáveis de desempenho, a melhora no $\dot{V}O_{2max}$ não foi alterada pelo uso regular de IAF. No formato utilizado no presente estudo (6-8 esforços de 2 min à 95% da $v\dot{V}O_{2max}$ com intervalos passivos 2 min) (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013), o HIIT pode induzir melhorias tanto a nível muscular (adaptações enzimáticas associadas tanto ao metabolismo aeróbio como anaeróbio de produção de energia), no aparato cardiopulmonar e, apesar de pouco expressivas nesse tipo treinamento, podem ocorrer adaptações neurais (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013). De fato, apesar diferenças entre grupos não terem sido verificadas, foram observadas em ambos aumentos significativas no $\dot{V}O_{2max}$ após 5 semanas de HIIT. Embora não seja um consenso na literatura, pois a diminuição no ganho de $\dot{V}O_{2max}$ já foi reportada em um estudo prévio (YAMANE et al., 2006), a maioria dos estudos parecem corroborar nosso achados (AGUIAR et al., 2016; BROATCH; PETERSEN; BISHOP, 2017).

No presente estudo não foram verificadas alterações significativas de indicadores de recuperação por meio da IAF. Estudos recentes têm reportado que a IAF pode diminuir a DOMS quando realizada dentro de certas faixas de temperaturas e duração (11-15° C e 11-15 minutos,

respectivamente) (MACHADO et al., 2016). Apesar de não existir um consenso sobre o real mecanismo associado a DOMS, a principal explicação para o suposto efeito da IAF sobre a DOMS vem sendo a diminuição das respostas pro-inflamatórias, o que ocasionaria respostas inflamatórias locais mais discretas em decorrência do dano muscular (MACHADO et al., 2016). Tendo em vista esse mecanismo, os voluntários submetidos a IAF acabariam experimentado menores percepções der dor ao longo das sessões treinamento. No entanto, esse resultado não foi verificado no presente estudo, o que pode estar associado a baixo grau de dano induzido por esse tipo de exercício. De fato, como pode ser observado na Figura 17, houveram discretas alterações na concentração sanguínea de CK e LDH (médias dos valores pico: 37,0 e 13,9 %, respectivamente).

Corroborando esses resultados, embora tenha sido verificado efeito de grupo isolado em indicadores da VFC (LF:HF), de forma geral, a IAF não alterou a VFC ao longo do programa de treinamento. Estudos prévio reportam que a IAF realizada de forma repetida pode acelerar a retomada da resposta parassimpática quando associada a sessões consecutivas de exercício, porém esse resultado difere do presente estudo. No estudo de Al Haddad et al. (2012), por exemplo, foi investigado o efeito da aplicação repetida da IAF durante cinco sessões de treinamento de natação em atletas de elite. Esses autores inferiram efeitos "*muito provavelmente benéficas*" à "*provavelmente benéficas*" baseados na magnitude do efeito para a IAF nas respostas de rMSSD. De forma similar, Stanley et al. (2012) submeteram ciclistas treinados à três sessões de treinamento seguidas de IAF e também verificaram aumentos significativos da rMSSD, interpretados como positivos. Apesar desses resultados diferirem dos nossos é importante ponderar que esses estudos foram realizados com atletas treinados e analisaram curtos períodos (3-5 sessões), portanto, o presente estudo é o primeiro a monitorar o efeito da IAF sobre a VFC durante um período tão longo (5 semanas).

No cenário da recuperação, o desempenho é um dos principais e mais precisos indicadores (PEAKE et al., 2017). No presente estudo o desempenho dos voluntários foi monitorado por meio de SVCM e nenhuma diferença entre grupos foi verificada. No entanto, cabe destacar que existe uma tendência de diminuição do desempenho do SVCM (altura do salto) no grupo controle no início do programa de HIIT (momento ao qual o treinamento se mostra mais estressante devido à falta de familiaridade com o esforço) e próxima a quarta semana (onde ocorreu o maior volume do treinamento). Por outro lado, a altura do SVCM retorna aos valores basais após o "polimento", onde ocorrem diminuições no volume de treinamento, além de um possível e benéfico "efeito da carga repetida", devido a adaptações neurais, estruturais e celulares na musculatura (MCHUGH et al., 1999; NOSAKA et al., 2001).

Além disso, essa mesma tendência de diminuição do desempenho no grupo controle é verificada na força pico da fase concêntrica e excêntrica do SVCM (Figura 19). Contudo essas tendências devem consideradas com cautela uma vez que podem estar associadas a variações comuns do método.

A presente tese possui algumas limitações que devem ser sanadas em futuras investigações. Entre elas, não foi possível investigar o efeito do uso regular da IAF em voluntários altamente treinados. No entanto, cabe considerar que a presente tese foi composta por 5 semanas de treinamento e 3 biópsias musculares e, portanto, essa configuração inviabilizou realização desses procedimentos em voluntários altamente treinados em virtude de sua rotina de treinamento. Outras limitações foram ausência das análises do efeito agudo na IAF e a adição de um grupo placebo utilizando um procedimento ou substância inerte como intervenção.

6.5. Conclusão da parte II

A utilização regular da IAF após sessões de HIIT não alteram as adaptações no desempenho em teste incremental, teste contínuo até a exaustão e nas adaptações cardiorrespiratórias. Suportando esses resultados, o uso regular da IAF não altera as adaptações intramusculares como no *pool* de células satélites, expressão de PGC-1α e na proporção de tipo de fibras do tipo I e IIa. Além disso, ao longo das sessões de treinamento a IAF não altera a carga interna das sessões e indicadores de recuperação, tal como a DOMS, desempenho neuromuscular, VFC, concentração sanguínea de CK e LDH.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização regular da IAF após sessões de treinamento não altera as adaptações no desempenho, cardiorrespiratórias e intramusculares, tal como no *pool* de células satélites, expressão de PGC-1α e na proporção de tipo de fibras do tipo I e IIa. Além disso, nenhum efeito adicional da IAF é verificado em parâmetros de recuperação global ao longo do programa de treinamento. Ainda, efeitos deletérios no ganho de desempenho são verificados ao associar a IAF ao treinamento resistido.

Com base nesses resultados, sugerimos que a IAF não deve ser utilizada regularmente ao longo de programas de treinamento com o objetivo de obter-se ganhos adicionais no despenho ou otimizar a recuperação. A utilização da IAF deve ser estratégica e estritamente aguda, por exemplo, após sessões pontuais de treinamento ou quando há um curto intervalo entre compromissos competitivos, tendo como objetivo, simplesmente, a diminuição aguda da dor e a atenuação da piora do desempenho. Além disso, para otimizar a utilização da IAF e exprimir ao máximo os benefícios do método, uma utilização planejada da IAF em momentos específicos ao longo da rotina de treinos e competições deve ser considerada. O uso planejado da IAF pode vir a maximizar os efeitos positivos dessa intervenção, bem como, a combinação dessa ferramenta com outros métodos com foco na melhora do desempenho e recuperação.

Por fim, futuras investigações devem considerar investigar se a utilização da IAF em momentos pontuais de um programa de treinamento (por exemplo, aumento abrupto intencional da carga ou volume do treinamento) poderia potencializar os ganhos no desempenho a longo prazo. Ainda, são necessários estudos que investiguem o efeito do uso regular da IAF em treinamentos com alto volume e temperatura ambiente, onde a IAF poderia ter efeitos adicionais e potencializados. Além disso, apesar da presente tese trazer importantes achados sobre o tema, mais investigações são necessárias para elucidar totalmente os efeitos do uso regular da IAF em adaptações intramusculares.

8. REFERÊNCIA

ABAÏDIA, A. E. et al. Recovery from exercise-induced muscle damage: Cold-water immersion versus whole-body cryotherapy. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 12, n. 3, p. 402–409, 2017.

AGUIAR, P. F. et al. Post-exercise cold water immersion does not alter high intensity interval training-induced exercise performance and Hsp72 responses, but enhances mitochondrial markers. **Cell Stress & Chaperones**, v. 21, n. 5, p. 793, 2016.

ALLAN, R. et al. Postexercise cold water immersion modulates skeletal muscle PGC-1α mRNA expression in immersed and nonimmersed limbs: evidence of systemic regulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 123, n. 2, p. 451–459, 2017.

ALMEIDA, A. C. et al. The effects of cold water immersion with different dosages (duration and temperature variations) on heart rate variability post-exercise recovery: A randomized controlled trial. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 19, n. 8, p. 676–681, 2016.

ASCENSÃO, A. et al. Effects of cold water immersion on the recovery of physical performance and muscle damage following a one-off soccer match. v. 29, n. 3, p. 217–225, 2011.

AUBERT, A. E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart Rate Variability in Athletes. **Sports Medicine 2003 33:12**, v. 33, n. 12, p. 889–919, 2012.

BAAR, K. et al. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. **FASEB J**, v. 16, n. 14, p. 1879-86, 2002.

BAILEY, D. M. et al. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. **Journal of sports sciences**, v. 25, n. 11, p. 1163–1170, 2007.

BANFI, G. et al. Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes. **Journal of Thermal Biology**, v. 34, n. 2, p. 55–59, 2009.

BARNETT, A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? **Sports medicine**, v. 36, n. 9, p. 781–96, 2006.

BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267–284, 2009.

BASSETT, D. R.; HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, n. 1, p. 70–84, 2000.

BASTOS, F. N. et al. Effects of cold water immersion and active recovery on post-exercise heart rate variability. **International Journal of Sports Medicine**, v. 33, n. 11, p. 873–879, 2012.

BISHOP, P. A.; JONES, E.; WOODS, A. K. Recovery from training: a brief review: brief review. **Journal of strength and conditioning research**, v. 22, n. 3, p. 1015–1024, 2008.

BOOTH, J.; MARINO, F.; WARD, J. J. Improved running performance in hot humid conditions following whole body precooling. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 29, n. 7, p. 943–949, 1997.

BORG, G. Ratings of perceived exertion and heart rates during short-term cycle exercise and their use in a new cycling strength test. **International journal of sports medicine**, v. 3, n. 3, p. 153–8, 14, 1982.

BROATCH, J. R.; PETERSEN, A. C.; BISHOP, D. J. Cold-water immersion following sprint interval training does not alter endurance signaling pathways or training adaptations in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, v. 313, n. 4, p. R372-R384, 2017.

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. **Journal of sports science & medicine**, v. 10, n. 4, p. 665–70, 2011.

BUCHHEIT, M. et al. Effect of cold water immersion on postexercise parasympathetic reactivation. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 296, n. 2, 2009.

BUCHHEIT, M. Monitoring training status with HR measures: do all roads lead to Rome? **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. 73, 2014.

BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: Cardiopulmonary emphasis. **Sports Medicine**, v. 43, n. 5, p. 313–338, 2013.

BUCKNER, S. L. et al. The problem Of muscle hypertrophy: Revisited. **Muscle and Nerve**, v. 54, n. 6, p. 1012-1014, 2016.

CHAUVINEAU, M. et al. Effect of the Depth of Cold Water Immersion on Sleep Architecture and Recovery Among Well-Trained Male Endurance Runners. **Frontiers in sports and active living**, v. 3, n. 659990, 2021.

CHEUNG, K.; HUME, P. A.; MAXWELL, L. Delayed Onset Muscle Soreness. **Sports Medicine**, v. 33, n. 2, p. 145–164, 2012.

CHOO, H. C. et al. Ergogenic effects of precooling with cold water immersion and ice ingestion: A meta-analysis. **European journal of sport science**, v. 18, n. 2, p. 170–181, 7, 2018.

CHRISTIANSEN, D. et al. Cold-water immersion after training sessions: effects on fiber type-specific adaptations in muscle K + transport proteins to sprint-interval training in men. **Journal of applied physiology**, v. 125, n. 2, p. 429–444, 2018.

CLARKE, D. H. Effect of immersion in hot and cold water upon recovery of muscular strength following fatiguing isometric exercise. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 44, p. 565–568, 1963.

CLAUDINO, J. G. et al. The countermovement jump to monitor neuromuscular status: A meta-analysis. **Journal of science and medicine in sport**, v. 20, n. 4, p. 397–402, 2017.

COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports medicine**, v. 37, n. 9, p. 737–63, 2007.

DAANEN, H. Cold-induced vasodilation. **Eur J Appl Physiol**, v. 105, n. 4, p. 663-4, 2009.

DE PAULA, F. et al. Post-exercise cold-water immersion improves the performance in a subsequent 5-km running trial. **Temperature**, v. 5, n. 4, p. 359–370, 2018.

DUFFIELD, R. et al. Precooling can prevent the reduction of self-paced exercise intensity in the heat. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 42, n. 3, p. 577–584, 2010.

EARP, J. E. et al. Cold-water immersion blunts and delays increases in circulating testosterone and cytokines post-resistance exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 119, n. 8, p. 1901–1907, 2019.

ELIAS, G. P. et al. Effects of water immersion on posttraining recovery in Australian footballers. **International journal of sports physiology and performance**, v. 7, n. 4, p. 357–366, 2012.

ELIAS, G. P. et al. Effectiveness of water immersion on postmatch recovery in elite professional footballers. **International journal of sports physiology and performance**, v. 8, n. 3, p. 243–253, 2013.

ESTON, R. G.; ESTON, R.; PETERS, D. Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage. **Journal of Sports Sciences**, v. 17, n. 3, p. 231–238, 1999.

FONSECA, L. B. et al. Use of cold-water immersion to reduce muscle damage and delayed-onset muscle soreness and preserve muscle power in Jiu-Jitsu athletes. **Journal of Athletic Training**, v. 51, n. 7, p. 540–549, 2016.

FOSTER, C. et al. Skeletal muscle enzyme activity, fiber composition and VO2 max in relation to distance running performance. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 39, n. 2, p. 73–80, 1978.

FOSTER, C. Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n. 7, p. 1164-8, 1998.

FRÖHLICH, M. et al. Strength Training Adaptations After Cold-Water Immersion. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 28, n. 9, p. 2628–2633, 2014.

FUCHS, C. J. et al. Postexercise cooling impairs muscle protein synthesis rates in recreational athletes. **The Journal of physiology**, v. 598, n. 4, p. 755–772, 2020.

FUJITA, S. et al. Effect of insulin on human skeletal muscle protein synthesis is modulated by insulin-induced changes in muscle blood flow and amino acid availability. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 291, n. 4, p. E745–E754, 2006.

FYFE, J. J. et al. Cold water immersion attenuates anabolic signalling and skeletal muscle fiber hypertrophy, but not strength gain, following whole-body resistance training. **Journal of applied physiology**, v. 127, n. 5, p. 1403-1418, 2019.

GABRIELSEN, A.; JOHANSEN, L. B.; NORSK, P. Central cardiovascular pressures during graded water immersion in humans. **Journal of applied physiology**, v. 75, n. 2, p. 581–585, 1993.

GALIUTO, L.; REVIEW, M. The Use of Cryotherapy in Acute Sports Injuries. **Ann Sports Med Res**, v. 3, n. 2, p. 1060, 2016.

GRANATA, C.; JAMNICK, N. A.; BISHOP, D. J. Training-Induced Changes in Mitochondrial Content and Respiratory Function in Human Skeletal Muscle. **Sports Medicine**, v. 48, n. 8, p. 1809-1828, 2018.

GREGSON, W. et al. Influence of Cold Water Immersion on Limb and Cutaneous Blood Flow at Rest. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 39, n. 6, p. 1316–1323, 2011.

HADDAD, H. AL et al. Effect of daily cold water immersion on heart rate variability and subjective ratings of well-being in highly trained swimmers. **International journal of sports physiology and performance**, v. 7, n. 1, p. 33–38, 2012.

HADDIX, T. L. et al. Hypothermia inhibits human E-selectin transcription. **The Journal of surgical research**, v. 64, n. 2, p. 176–183, 1996.

HALSON, S. L. et al. Does hydrotherapy help or hinder adaptation to training in competitive cyclists? **Medicine and science in sports and exercise**, v. 46, n. 8, p. 1631–1639, 2014.

HARRIES, S. K.; LUBANS, D. R.; CALLISTER, R. Systematic review and meta-analysis of linear and undulating periodized resistance training programs on muscular strength. **Journal of strength and conditioning research**, v. 29, n. 4, p. 1113–25, 2015.

HAWLEY, J. A. et al. Maximizing Cellular Adaptation to Endurance Exercise in Skeletal Muscle. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 5, p. 962-976, 2018.

HOWLEY, E. T.; BASSETT, D. R.; WELCH, H. G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 27, n. 9, p. 1292-301, 1995.

HOHENAUER, E. et al. The effect of post-exercise cryotherapy on recovery characteristics: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, e0139028, 2015.

IHSAN, M. et al. Influence of Postexercise Cooling on Muscle Oxygenation and Blood Volume Changes. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 45, n. 5, p. 876–882, 2013.

IHSAN, M. et al. Postexercise Muscle Cooling Enhances Gene Expression of PGC-1α. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 46, n. 10, p. 1900–1907, 2014.

IHSAN, M. et al. Regular postexercise cooling enhances mitochondrial biogenesis through

AMPK and p38 MAPK in human skeletal muscle. **American journal of physiology**, v. 309, n. 3, p. R286-94, 2015.

IHSAN, M. et al. What are the Physiological Mechanisms for Post-Exercise Cold Water Immersion in the Recovery from Prolonged Endurance and Intermittent Exercise? **Sports Medicine**, v. 46, n. 8, p. 1095–1109, 2016.

IHSAN, M. et al. Warming to the ice bath: Don't go cool on cold water immersion just yet! **Temperature**, v. 7, n. 3, p. 223–225, 2020.

ISHIKAWA, M. et al. effects of moderate hypothermia on leukocyte- endothelium interaction in the rat pial microvasculature after transient middle cerebral artery occlusion. **Stroke**, v. 30, n. 8, p. 1679–1686, 1999.

JACOBS, R. A. et al. Determinants of time trial performance and maximal incremental exercise in highly trained endurance athletes. **Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 5, p. 1422–1430, 2011.

JOANISSE, S. et al. Evidence for the contribution of muscle stem cells to nonhypertrophic skeletal muscle remodeling in humans. **FASEB journal**, v. 27, n. 11, p. 4596–4605, 2013.

JOHANSEN, L. B. et al. Contribution of abdomen and legs to central blood volume expansion in humans during immersion. **Journal of applied physiology**, v. 83, n. 3, p. 695–699, 1997.

JONES, E. J. et al. Cross-sectional area and muscular strength: A brief review. **Sports Medicine**, v. 38, n. 12, p. 987-94, 2008.

JOO, C. H. et al. Passive and post-exercise cold-water immersion augments PGC-1α and VEGF expression in human skeletal muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 11–12, p. 2315–2326, 2016.

JUNG, S.; KIM, K. Exercise-induced PGC-1α transcriptional factors in skeletal muscle. **Integrative Medicine Research**, v. 3, n. 4, p. 155–160, 2014.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 4, p. 674-88, 2004.

KUIPERS, H. Training and overtraining: an introduction. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 30, n. 7, p. 1137–9, 1998.

KUROSAKA, M. et al. Effects of voluntary wheel running on satellite cells in the rat plantaris muscle. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 8, n. 1, p. 51, 2009.

KUROSAKA, M. et al. Satellite cell pool enhancement in rat plantaris muscle by endurance training depends on intensity rather than duration. **Acta physiologica**, v. 205, n. 1, p. 159–166, 2012.

L'HERMETTE, M. et al. Cold water immersion after a handball training session: the

relationship between physical data and sensorial experience. **Frontiers in sports and active living**, v. 2, n. 581705, 2020.

LE MEUR, Y.; HAUSSWIRTH, C.; MUJIKA, I. Tapering for competition: A review. **Science and Sports**, v. 27, n. 2, p. 77-87, 2012.

LEE, H. et al. Effects of cryotherapy after contusion using real-time intravital microscopy. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 37, n. 7, p. 1093–8, 2005.

LINTHORNE, N. P. Analysis of standing vertical jumps using a force platform. **Am. J. Phys.,** v. 69, n. 11, p.1198-1204, 2001.

LUNDBY, C.; JACOBS, R. A. Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. **Experimental Physiology**, v. 101, n. 1, p. 17–22, 2016.

MACEDO, C. S. G. et al. Cold water immersion of the ankle decreases neuromuscular response of lower limb after inversion movement. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 18, n. 1, p. 93–97, 2014.

MACHADO, A. F. et al. Can Water Temperature and Immersion Time Influence the Effect of Cold Water Immersion on Muscle Soreness? A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports medicine**, v. 46, n. 4, p. 503–14, 2016.

MACINNIS, M. J.; GIBALA, M. J. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. **J Physiol**, v. 595, n. 9, p. 2915–2930, 2017.

MALTA, E. S. et al. Photobiomodulation by Led Does Not Alter Muscle Recovery Indicators and Presents Similar Outcomes to Cold-Water Immersion and Active Recovery. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1948, 2019.

MAWHINNEY, C. et al. Influence of Cold-Water Immersion on Limb and Cutaneous Blood Flow after Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 45, n. 12, p. 2277–2285, 2013.

MAWHINNEY, C. et al. Influence of cold-water immersion on limb blood flow after resistance exercise. **European Journal of Sport Science**, v. 17, n. 5, p. 519–529, 2017.

MCHUGH, M. P. et al. Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. **Sports Medicine**, v. 27, n. 3, p. 157-70, 1999.

MEINILD LUNDBY, A. K. et al. Exercise training increases skeletal muscle mitochondrial volume density by enlargement of existing mitochondria and not de novo biogenesis. **Acta Physiologica**, v. 222, n. 1, p. e12905, 2018.

MEKJAVIC, I. B.; DOBNIKAR, U.; KOUNALAKIS, S. N. Cold-induced vasodilatation response in the fingers at 4 different water temperatures. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 38, n. 1, p. 14–20, 2013.

MENSE, S. Muscle pain: mechanisms and clinical significance. **Deutsches Arzteblatt international**, v. 105, n. 12, p. 214–219, 2008.

NOSAKA, K. et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 33, n. 9, p. 1490–1495, 2001.

OSILLA, E. V; MARSIDI, J. L.; SHARMA, S. Physiology, Temperature Regulation. Treasure Island: **StatPearls Publishing**, 2018.

OZYENER, F. et al. Influence of exercise intensity on the on- and off-transient kinetics of pulmonary oxygen uptake in humans. **The Journal of physiology**, v. 533, n. 3, p. 891–902, 2001.

PARK, K. S.; CHOI, J. K.; PARK, Y. S. Cardiovascular regulation during water immersion. **Applied human science : journal of physiological anthropology**, v. 18, n. 6, p. 233–241, 1999.

PAROUTY, J. et al. Effect of cold water immersion on 100-m sprint performance in well-trained swimmers. **European journal of applied physiology**, v. 109, n. 3, p. 483–490, 2010.

PARRA, J. et al. The distribution of rest periods affects performance and adaptations of energy metabolism induced by high-intensity training in human muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 169, n. 2, p. 157–165, 2000.

PEAKE, J. M. et al. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 3, p. 559–570, 2017.

PEAKE, J. M. et al. The effects of cold water immersion and active recovery on molecular factors that regulate growth and remodeling of skeletal muscle after resistance exercise. **Frontiers in physiology**, v. 11, n. 737, 2020.

PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the Immune System: Regulation, Integration, and Adaptation. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 1055–1081, 2000.

PEIFFER, J. J. et al. Effect of cold-water immersion duration on body temperature and muscle function. **Journal of Sports Sciences**, v. 27, n. 10, p. 987–993, 2009.

PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. v. 98, n. 4, p. 1154–1162, 2005.

QUOD, M. J.; MARTIN, D. T.; LAURSEN, P. B. Cooling athletes before competition in the heat: comparison of techniques and practical considerations. **Sports medicine**, v. 36, n. 8, p. 671–682, 2006.

REILLY, T.; EKBLOM, B. The use of recovery methods post-exercise. **Journal of Sports Sciences**, v. 23, n. 6, p. 619–627, 2005.

RITCHIE, D. et al. Quantification of Training and Competition Load Across a Season in an Elite Australian Football Club. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 11, n. 4, p. 474–479, 2016.

ROBERTS, L. A. 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. R389–R398, 2015a.

ROBERTS, L. A. et al. Post-exercise cold water immersion attenuates acute anabolic signalling and long-term adaptations in muscle to strength training. **The Journal of physiology**, v. 593, n. 18, p. 4285–4301, 2015b.

ROSS, M. et al. Precooling methods and their effects on athletic performance. **Sports Medicine**, v. 43, n. 3, p. 207–225, 2013.

ROSSITER, H.; KOWALCHUK, J.; WHIPP, B. A test to establish maximum O2 uptake despite no plateau in the O2 uptake response to ramp incremental exercise. **Journal of applied physiology**, v. 100, n. 3, p. 764–70, 2006.

RUSSELL, A. P. et al. Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 52, n. 12, p. 2874-81, 2003.

SHAFFER, F.; GINSBERG, J. P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. **Front Public Health**, v. 5, n. 258, 2017.

SIQUEIRA, A. F. et al. Multiple cold-water immersions attenuate muscle damage but not alter systemic inflammation and muscle function recovery: a parallel randomized controlled trial. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.

SLATTERY, K. M. et al. Physiological Determinants of Three-Kilometer Running Performance in Experienced Triathletes. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 20, n. 1, p. 47, 2006.

STANLEY, J. et al. The effect of post-exercise hydrotherapy on subsequent exercise performance and heart rate variability. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 3, p. 951–961, 2012.

STANLEY, J.; PEAKE, J. M.; BUCHHEIT, M. Consecutive days of cold water immersion: effects on cycling performance and heart rate variability. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 2, p. 371–384, 2012.

STEINAGEL, M. C. Cryotherapy in Sport Injury Management. **Journal of Athletic Training**, v. 31, n. 3, p. 277, 1996.

STEPHENS, J. M. et al. Effect of Body Composition on Physiological Responses to Cold-Water Immersion and the Recovery of Exercise Performance. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 13, n. 3, p. 382–389, 2018.

SUTTON, J. R. Limitations to Maximal Oxygen Uptake. **Sports Medicine**, v. 13, n. 2, p. 127–133, 1992.

TEN BROEK, R. W.; GREFTE, S.; VON DEN HOFF, J. W. Regulatory factors and cell populations involved in skeletal muscle regeneration. **Journal of Cellular Physiology**, v.

224, n. 1, p. 7–16, 2010.

TIPTON, K. D.; WOLFE, R. R. Exercise, protein metabolism, and muscle growth. International Journal of Sport Nutrition, v. 11, n. 1, p. 109-32, 2001.

TIPTON, M. J. et al. Cold water immersion: kill or cure? **Experimental Physiology**, v. 102, n. 11, p. 1335–1355, 2017.

TNØNESSEN, E. et al. The road to gold: Training and peaking characteristics in the year prior to a gold medal endurance performance. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

VAILE, J. et al. Effect of cold water immersion on repeat cycling performance and thermoregulation in the heat. **Journal of Sports Sciences**, v. 26, n. 5, p. 431–440, 2008a.

VAILE, J. et al. Effect of hydrotherapy on the signs and symptoms of delayed onset muscle soreness. **European Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 4, p. 447–455, 2008b.

VAILE, J. et al. Effect of cold water immersion on repeated cycling performance and limb blood flow. **British Journal of Sports Medicine**, v. 45, n. 10, p. 825–829, 2011.

VERSEY, N. G.; HALSON, S. L.; DAWSON, B. T. Water Immersion Recovery for Athletes: Effect on Exercise Performance and Practical Recommendations. **Sports Medicine 2013 43:11**, v. 43, n. 11, p. 1101–1130, 2013.

VIEIRA RAMOS, G. et al. Cryotherapy reduces inflammatory response without altering muscle regeneration process and extracellular matrix remodeling of rat muscle. **Scientific Reports**, v. 6, n. 18525, 2016.

VINCENT, M. J.; TIPTON, M. J. The effects of cold immersion and hand protection on grip strength. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 59, n. 8, p. 738–741, 1988.

VOGEL, C.; MARCOTTE, E. M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 4, p. 227–232, 2012.

WHITE, G. E.; RHIND, S. G.; WELLS, G. D. The effect of various cold-water immersion protocols on exercise-induced inflammatory response and functional recovery from high-intensity sprint exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 11, p. 2353–2367, 2014.

WILCOCK, I. M.; CRONIN, J. B.; HING, W. A. Water immersion: does it enhance recovery from exercise? **International journal of sports physiology and performance**, v. 1, n. 3, p. 195–206, 2006.

WILSON, J. M. et al. The effects of endurance, strength, and power training on muscle fiber type shifting. **Journal of strength and conditioning research**, v. 26, n. 6, p. 1724–1729, 2012.

YAMANE, M. et al. Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory

adaptation. **European journal of applied physiology**, v. 96, n. 5, p. 572–580, 2006.

YAMANE, M.; OHNISHI, N.; MATSUMOTO, T. Does Regular Post-exercise Cold Application Attenuate Trained Muscle Adaptation? **International journal of sports medicine**, v. 36, n. 8, p. 647–653, 2015.

YANG, Y. et al. Cold water immersion recovery strategy increases blood pressure levels after high-intensity intermittent exercise. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 59, n. 11, p. 1925–1933, 2019.

9. ANEXOS

9.1. Anexo I – termos de consentimento

UNESP - FACULDADE DE CIÊNCIAS CAMPUS BAURU - JÚLIO DE MESQUITA FILHO

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA IMERSÃO EM ÁGUA FRIA APÓS SESSÕES DE TREINAMENTO INTERVALADO DECRESCENTE SOBRE ADAPTAÇÕES INTRAMUSCULARES, REPARO MUSCULAR E DESEMPENHO EM CORRIDA

Pesquisador: Elvis de Souza Malta

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 82797718.8.0000.5398

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.538.336

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa de doutorado que analisará o efeito da imersão em água fria após sessões de treinamento intervalado decrescente sobre adaptações intramusculares, reparo muscular e desempenho em corrida.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos da pesquisa são: avaliar o efeito da IAF (imersão em água fria) associada ao treinamento intervalado decrescente, sobre adaptações intramusculares, reparo tecidual e desempenho em corrida. Avaliar o efeito agudo da IAF sobre o conteúdo intramuscular de HGF após uma sessão de treinamento intervalado decrescente em corrida. Avaliar o efeito crônico de 5 semanas de imersão em água fria após sessões de treinamento intervalado decrescente sobre o conteúdo intramuscular de fatores de regulação miogênica (MyoD e Miogenina), marcador de atividade de células satélite (Galectina), consumo máximo de oxigênio e no desempenho em corrida até exaustão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido os riscos e desconfortos são os mesmos que uma pessoa que pratica atividade física teria, como por exemplo: leve mal-estar decorrente do esforço, arritmias cardíacas leves e desconfortos musculares durante a pesquisa e em dias seguintes (dor tardia). Esclarece ainda que todos os procedimentos serão acompanhados por

Endereço: Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, nº 14-01
Bairro: CENTRO **CEP:** 17.033-360
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3103-9400 **Fax:** (14)3103-9400 **E-mail:** cepesquisa@fc.unesp.br

profissionais e que no caso de ocorrência, estarão aptos à execução de técnicas de socorros urgência e transporte para unidade de socorro mais próxima. Desta forma, considera-se o projeto com risco mínimo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Participarão da coleta de dados 20 voluntários que serão subdivididos em 2 grupos de 10 voluntários, do sexo masculino, moderadamente ativos, saudáveis, com idade entre 18 e 35 anos, sem lesão nos músculos, tendão ou em qualquer tecido conjuntivo nos últimos 6 meses.

Os voluntários não poderão estar utilizando medicamentos, suplementos alimentares ou qualquer outro tipo de ergogênico nas últimas duas semanas antes do início do estudo. Também, serão excluídos os participantes que faltarem repetidamente e que se lesionarem durante as avaliações. Para isso será realizado um Questionário de Triagem para Biópsia Muscular. O projeto de pesquisa, assim como os demais documentos apresentado, atende às exigências acadêmicas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentado está adequado e apresenta ao participante da pesquisa seus objetivos, a possibilidade de participar ou não, podendo este desistir a qualquer momento, estando este de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto e Termos de Consentimento Livre e Esclarecido adequados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto considerado aprovado por estar em conformidade com os parâmetros legais, metodológicos e éticos analisados pelo colegiado deste CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1061805.pdf	23/01/2018 21:48:16		Aceito
Outros	carta_anuencia_medico.pdf	23/01/2018 21:46:46	Elvis de Souza Malta	Aceito

UNESP - FACULDADE DE CIÊNCIAS CAMPUS BAURU - JÚLIO DE MESQUITA FILHO

Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	11/01/2018 08:46:15	Elvis de Souza Malta	Aceito
Outros	Questionario_Triagem_Biopsia.pdf	10/01/2018 13:50:39	Elvis de Souza Malta	Aceito
Outros	Carta_anuencia_local.pdf	10/01/2018 13:49:33	Elvis de Souza Malta	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	10/01/2018 13:47:00	Elvis de Souza Malta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	10/01/2018 13:45:46	Elvis de Souza Malta	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

BAURU, 12 de Março de 2018

Assinado por:
Mário Lázaro Camargo
(Coordenador)

Endereço: Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, nº 14-01
Bairro: CENTRO **CEP:** 17.033-360
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3103-9400 **Fax:** (14)3103-9400 **E-mail:** cepesquisa@fc.unesp.br

9.2. Anexo II – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/12).

O Sr. está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “Efeito da imersão em água fria após sessões de treinamento intervalado decrescente sobre adaptações intramusculares, reparo muscular e desempenho em corrida” que tem como responsável o pesquisador Elvis de Souza Malta, Doutorando na área de Educação Física, orientado/supervisionado pelo Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto e que está sendo desenvolvida junto ao Laboratório de fisiologia e desempenho esportivo (LAFIDE) localizado nas dependências da Universidade estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Câmpus Bauru - SP. O projeto tem como objetivo investigar o impacto a curto e longo prazo da imersão em água fria associada ao treinamento de alta intensidade sobre o reparo muscular, nas adaptações geradas pelo treinamento e no desempenho em corrida. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável em caso de qualquer dúvida.

Os requisitos para participar do estudo é ser fisicamente ativo, não fazer uso regular de bebidas alcoólicas e/ou tabagismo, não estar fazendo uso de suplementos alimentares proteicos e não apresentar problemas de saúde como insuficiências cardiorrespiratórias ou limitações músculo-esqueléticas. A pesquisa será constituída de 3 partes: 1ª parte – Familiarização com as avaliações e ao treinamento, 2ª parte – Avaliação inicial e período de treinamento associado a imersão em água fria e 3ª parte – Avaliações finais.

Na primeira parte, em 4 visitas ao laboratório, o Sr. será familiarizado com os equipamentos e procedimentos que serão realizados nas avaliações e no treinamento de alta intensidade. No início da segunda parte, serão realizadas as avaliações físicas que serão compostas por 2 dias de testes. No primeiro dia o Sr. irá realizar um teste na esteira ergométrica no qual a cada dois minutos a velocidade irá aumentar 1 km/h até o momento que o Sr. não conseguir mais correr. O segundo dia de avaliação irá ocorrer, ao menos, 48 horas após o primeiro e o Sr. irá realizar três séries de saltos verticais com descanso de 1 minuto entre cada salto e um teste em esteira ergométrica no qual a velocidade permanecerá constante em uma velocidade alta e de acordo com os resultados encontrados no primeiro dia de testes, e a corrida deverá ser sustentada pelo maior tempo que conseguir.

Os testes do primeiro e terceiro dia de avaliação serão realizados juntamente com o uso de equipamento que mede os gases da respiração, e ao final desses testes será realizada uma

punção do lóbulo da orelha com uma pequena lâmina estéril e descartável para coleta de quantidade mínima de sangue (aproximadamente 1 gota). Ambos os procedimentos são rotineiros no laboratório, porém podem gerar um ligeiro desconforto para pessoas não familiarizadas.

Ainda na segunda parte, após as avaliações iniciais, serão realizadas as sessões de treinamento em uma pista de 400 metros dentro das dependências da universidade. O treinamento será composto por 5 corridas nas distâncias de 500, 400, 300, 200 e 100 metros em velocidade relativa ao resultado das suas avaliações prévias e interpassadas por intervalos de recuperação ativa com duração de 9, 7, 5 e 3 minutos, respectivamente. O período de treinamento terá duração de cinco semanas (2 a 3 sessões por semana). Antes de iniciarem as sessões de treinamento haverá um sorteio, ao qual será decidido se o Sr. fará parte do grupo controle ou do grupo experimental. Caso seja designado como grupo controle o Sr. não realizará nenhum procedimento após as sessões de treinamento até o fim do estudo, por outro lado, caso seja designado como grupo experimental o Sr. realizará sessões de imersão em água fria (aproximadamente 10° C) até a cintura por 10 min após as sessões de treinamento. O grupo que o Sr. sortear não poderá ser mudado durante o estudo. A imersão em água fria não oferecerá nenhum risco a sua integridade física, a não ser um pequeno desconforto gerado pelo frio nos primeiros minutos da imersão.

Na terceira parte, o Sr. será submetido as sessões de avaliações finais nos mesmos moldes das avaliações iniciais.

Previamente a segunda parte, após a primeira sessão de treinamento (ainda na segunda parte) e antes da terceira parte serão realizadas as biópsias musculares que é uma técnica laboratorial e não cirúrgica, e será realizada por um médico competente (Dra. Daniela Morares de Franco Seda, CRM-SP 130526), que irá utilizar materiais estéreis. Nesse procedimento será aplicado abaixo da pele um anestésico local (lidocaína) e após a anestesia será feita uma pequena incisão de aproximadamente 0,5 cm na parte lateral da perna, para que seja possível inserir uma agulha específica (agulha de Bergstrom) e a retirada de uma pequena quantidade de músculo (aproximadamente 100 miligramas). Em seguida será feito um pequeno curativo com esparadrapo estéril específico e compressão do local com bandagem durante 24 horas, não havendo a necessidade de ponto cirúrgico (sutura). Nesse procedimento, são raríssimos os casos de complicações como infecções ou queloide, e há somente sensação de desconforto no momento do procedimento, sendo bastante incomum a ocorrência de dor e sangramento abundante. O local da biópsia pode ficar sensível ou dolorido durante 24 – 48 horas e podem ocorrer hematomas e pequenos sangramentos durante esse período. Ainda, você deverá

responder um questionário específico (em anexo), para que seja certificado que você não possui reação adversa ao anestésico a ser utilizado ou mesmo sobre o processo de cicatrização. Certifique-se de discutir todas as suas dúvidas com o médico.

São benefícios da participação no estudo, a possibilidade de realizar um teste para verificar sua capacidade pulmonar e cardíaca, obter índices para prescrição de exercício individualizada que poderá contribuir para a melhora da sua condição cardiopulmonar e condicionamento físico. Além disso, poderá conhecer sua capacidade de exercício em corrida, treinar de forma orientada durante o período da pesquisa e conhecer as adaptações físicas após o treinamento. Você será notificado dos aspectos mais importantes do estudo após sua conclusão e poderá inteirar-se do estado geral de sua saúde e condição física.

É importante deixar claro que o Sr. tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o Sr. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do pesquisador do projeto e sobre seus direitos aos representantes do Comitê de Ética. A participação nesta pesquisa não traz complicações legais e os riscos e desconfortos são os mesmos que uma pessoa que pratica atividade física teria, tais como leve mal-estar decorrente do esforço, arritmias cardíacas leves e desconfortos musculares durante a pesquisa e em dias seguintes (dor tardia). Entretanto, todos os procedimentos serão acompanhados por profissionais, que no caso de alguma ocorrência estarão aptos à execução de técnicas de socorros urgência e transporte para unidade de socorro mais próxima.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade. Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais sendo que somente o pesquisador e o orientador terão conhecimento dos dados. Todo material biológico coletado (sangue e tecido) será utilizado exclusivamente para a presente pesquisa e então devidamente descartado em local apropriado e inutilizado a partir de incineração por empresa especializada prestadora de serviços para UNESP/Bauru, de forma que **NÃO** será integrado a um banco de material biológico e **NÃO** será utilizado para outro fim.

Ainda, como o estudo será realizado no LAFIDE/UNESP, iremos proporcionar um transporte para seu deslocamento até aqui, caso o Sr. não seja estudante da Unesp ou participante de projetos de extensão do Departamento de Educação Física. Ainda, o Sr. poderá ser ressarcido, caso necessário, de gastos com transporte até o laboratório.

Após estes esclarecimentos, convido-o a participar dessa pesquisa e solicito o seu consentimento de forma livre para participar da mesma, assinando este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que será elaborado em duas vias, as quais uma ficará de posse do pesquisador responsável e a outra em sua posse.

Título do Projeto: Efeito da imersão em água fria após sessões de treinamento intervalado decrescente sobre adaptações intramusculares, reparo muscular e desempenho.

Pesquisador Responsável: Elvis de Souza Malta. Cargo/Função: Doutorando. Instituição: Departamento de Educação Física – Faculdade de Ciências UNESP - Bauru, Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01 – Vargem Limpa - Telefone: (14) 98189 2043. E-mail: elvismalta@hotmail.com

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto

Instituição: Departamento de Educação Física – Faculdade de Ciências UNESP - Bauru, Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01 – Vargem Limpa - Telefone: (14) 3103-6082 / ramal: 7991. E-mail: azagatto@yahoo.com.br

Em caso de Dúvidas e denúncias sobre questões éticas, entre cm contato com Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da UNESP por e-mail: cepesquisa@fc.unesp.br, pelo telefone (14) 3103-6075 ou no endereço - Seção Técnica Acadêmica da Faculdade de Ciências da Unesp na Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, Bairro: Vargem Limpa. Bauru, SP.

Dados do participante da pesquisa:

Nome:_____

RG:_____ Data de Nascimento: _____/_____/_____

Endereço:_____

E-mail:_____

Telefone: (___) _____

Bauru, _____ de _____ de 20____.

_____

Assinatura do participante

_____ _____

Prof. Dr. Alessandro Moura Zagatto **Elvis de Souza Malta**

Orientador **Pesquisador Responsável**

9.3. Anexo III - Comprovante de publicação da Parte I

Sports Medicine
https://doi.org/10.1007/s40279-020-01362-0

SYSTEMATIC REVIEW

The Effects of Regular Cold-Water Immersion Use on Training-Induced Changes in Strength and Endurance Performance: A Systematic Review with Meta-Analysis

Elvis S. Malta[1] · Yago M. Dutra[1] · James R. Broatch[2,3] · David J. Bishop[2] · Alessandro M. Zagatto[1]

© Springer Nature Switzerland AG 2020

Abstract

Background Cold-water immersion (CWI) is one of the main recovery methods used in sports, and is commonly utilized as a means to expedite the recovery of performance during periods of exercise training. In recent decades, there have been indications that regular CWI use is potentially harmful to resistance training adaptations, and, conversely, potentially beneficial to endurance training adaptations. The current meta-analysis was conducted to assess the effects of the regular CWI use during exercise training on resistance (i.e., strength) and endurance (i.e., aerobic exercise) performance alterations.

Methods A computerized literature search was conducted, ending on November 25, 2019. The databases searched were MEDLINE, Cochrane Central Register of Controlled Trials, and SPORTDiscus. The selected studies investigated the effects of chronic CWI interventions associated with resistance and endurance training sessions on exercise performance improvements. The criteria for inclusion of studies were: (1) being a controlled investigation; (2) conducted with humans; (3) CWI performed at ≤ 15 °C; (4) being associated with a regular training program; and (5) having performed baseline and post-training assessments.

Results Eight articles were included before the review process. A harmful effect of CWI associated with resistance training was verified for *one-repetition maximum*, *maximum isometric strength,* and *strength endurance* performance (overall *standardized mean difference* [SMD] = − 0.60; Confidence interval of 95% [CI95%] = − 0.87, − 0.33; $p < 0.0001$), as well as for *Ballistic efforts* performance (overall SMD = − 0.61; CI95% = − 1.11, − 0.11; $p = 0.02$). On the other hand, selected studies verified no effect of CWI associated with endurance training on *time-trial* (mean power), *maximal aerobic power in graded exercise test* performance (overall SMD = − 0.07; CI95% = − 0.54, 0.53; $p = 0.71$), or *time-trial* performance (duration) (overall SMD = 0.00; CI95% = − 0.58, 0.58; $p = 1.00$).

Conclusions The regular use of CWI associated with exercise programs has a deleterious effect on resistance training adaptations but does not appear to affect aerobic exercise performance.

Trial Registration PROSPERO CRD42018098898.

Key Points

Regular use of cold-water immersion decreases strength performance parameters (i.e., one-repetition maximum, maximal isometric strength, strength endurance, and ballistic effort performance).

Cold-water immersion does not affect aerobic exercise performance (i.e., time-trial performance and maximal aerobic power).

Studies involving the regular use of cold-water immersion present moderate methodological quality.

✉ Alessandro M. Zagatto
azagatto@yahoo.com.br

[1] Laboratory of Physiology and Sport Performance-LAFIDE, Postgraduate Program in Movement Sciences, School of Sciences, Department of Physical Education, São Paulo State University-UNESP, Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, Vargem Limpa, Bauru, SP 17033-360, Brazil

[2] Institute for Health and Sport (iHeS), Victoria University, Footscray, VIC, Australia

[3] Australia Institute of Sport, Bruce, ACT, Australia

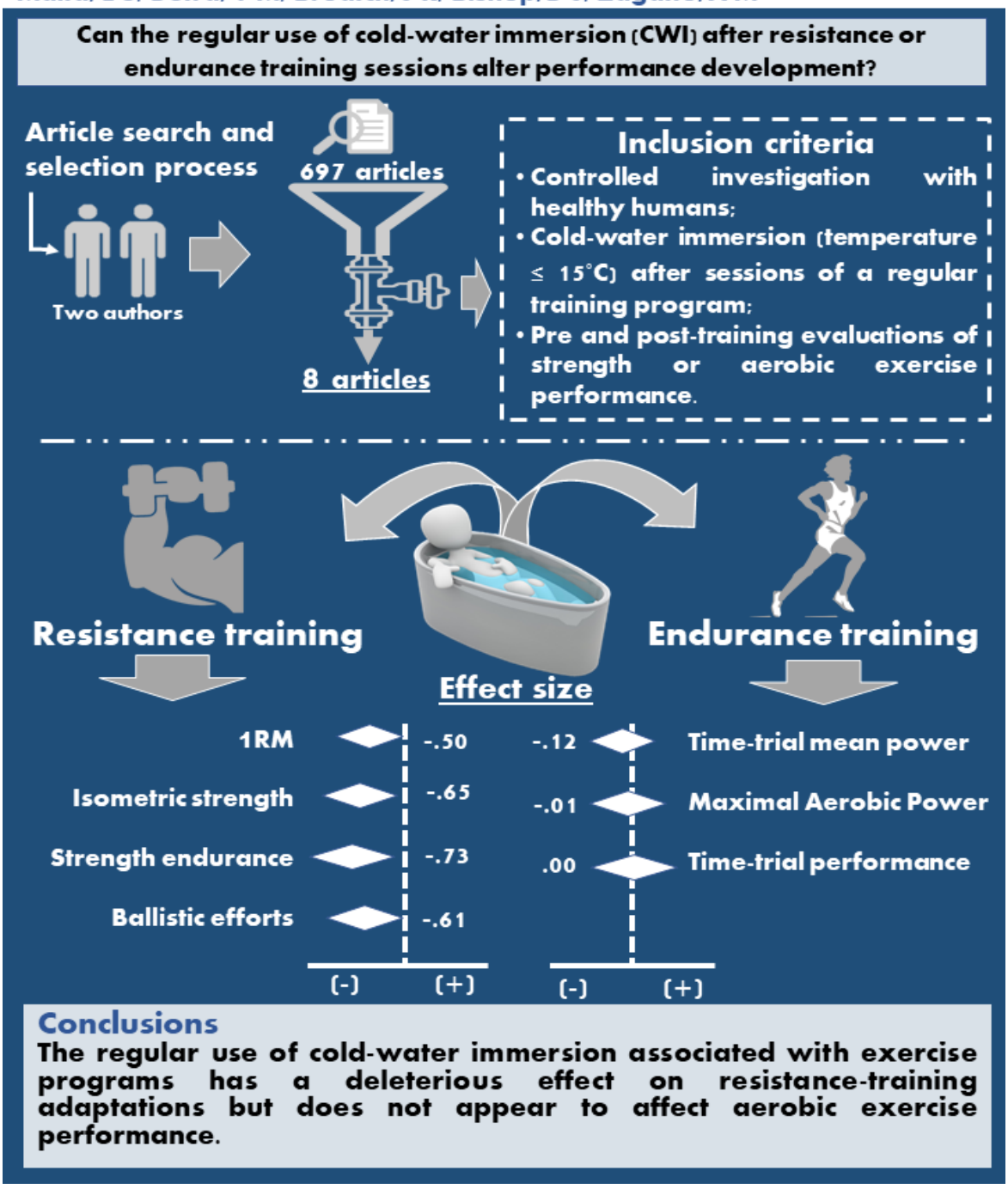
Published online: 04 November 2020

Link de acesso: https://link.springer.com/article/10.1007/s40279-020-01362-0

Sports Medicine

The effects of regular cold-water immersion use on training-induced changes in strength and endurance performance: a systematic review with meta-analysis

Malta, E S; Dutra, Y M; Broatch, J R; Bishop, D J; Zagatto, A M



Conclusions

The regular use of cold-water immersion associated with exercise programs has a deleterious effect on resistance-training adaptations but does not appear to affect aerobic exercise performance.