



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EFEITOS DO PRECONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DANO
MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO: ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO PLACEBO CONTROLADO**

Candidato: Eduardo Pizzo Junior

Orientadora: Profa. Dra. Franciele Marques Vanderlei

Presidente Prudente – SP

2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

EDUARDO PIZZO JUNIOR

**EFEITOS DO PRECONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DANO
MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO: ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO PLACEBO CONTROLADO**

Dissertação de mestrado apresentada para a Faculdade de Ciências e Tecnologia para a defesa de mestrado do programa de Pós-Graduação de Ciências do Movimento com área de concentração em Intervenção pelo movimento na saúde e no desempenho

Orientadora: Profa. Dra. Franciele Marques Vanderlei

Presidente Prudente – SP

2023

P695e	<p>Pizzo Junior, Eduardo</p> <p>Efeitos do condicionamento isquêmico no dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: ensaio clínico randomizado placebo controlado / Eduardo Pizzo Junior. -- Presidente Prudente, 2023</p> <p>75 f.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente</p> <p>Orientadora: Franciele Marques Vanderlei</p> <p>1. Fisioterapia esportiva. 2. Força muscular. 3. Exercícios físicos. I. Título.</p>
-------	--


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

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE EDUARDO PIZZO JUNIOR, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA.

Aos 04 dias do mês de abril do ano de 2023, às 09:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de EDUARDO PIZZO JUNIOR, intitulada **EFEITOS DO PRECONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO PLACEBO CONTROLADO**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. FRANCIELE MARQUES VANDERLEI (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - Pós-doutorado, Prof. Dr. ÍTALO RIBEIRO LEMES (Participação Virtual) do(a) Departamento de Clínica Médica / Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), Profª Drª ARYANE FLAUZINO MACHADO (Participação Virtual) do(a) Fisioterapia / Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP, Prof. Dr. MIKHAIL SANTOS CERQUEIRA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Fisioterapia / Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente 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. ÍTALO RIBEIRO LEMES

Documento assinado digitalmente
 ÍTALO RIBEIRO LEMES
Data: 15/04/2023 23:29:56-0300
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais Maria Helena e Eduardo que jamais deixaram de acreditar em mim e no que eu sou capaz. E a minha orientadora Franciele que sempre confiou em mim, mesmo quando eu não confiava.

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus e aos meus pais por tornarem tudo isso possível, sem vocês não conseguiria. Obrigado por todo apoio e amor que vocês têm por mim, por confiarem no meu potencial e acreditarem que sou capaz mesmo quando eu não acredito. Mãe, você é uma guerreira, tenho muito orgulho da senhora. Agradeço também a minha família por todo suporte. Agradeço a Dona Geralda também, por todo o cuidado e carinho comigo ao longo desses anos que estou em prudente, a senhora é uma vó pra mim.

Gostaria de agradecer a minha orientadora Profa. Dra. Franciele Marques Vanderlei por ter me acolhido no fim da minha graduação quando estava meio perdido e por ter me dado todo o suporte necessário até o presente momento. Fran, a senhora é como se fosse uma mãe pra mim, obrigado por tudo, pelos puxões de orelha quando necessário, pelos momentos de conversa, mas principalmente por confiar em mim e no meu potencial.

Gostaria de agradecer a banca da minha qualificação e da minha defesa Profa. Aryane, Prof. Ítalo e Prof. Mikhail por todos os apontamentos realizados que contribuíram muito para a realização desse trabalho e ajudarem a contribuir em uma melhor qualidade científica, ajudando na futura publicação do estudo. Gostaria de agradecer também a Fundação de Amparo a pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio dado na realização da presente pesquisa, a partir do processo (2020/04222-1).

Gostaria de agradecer a todos os meus voluntários, vou listar os 80 nomes, pois todos foram importantes, devido ao momento conturbado em que minhas coletas foram realizadas e a dificuldade em encontrar pessoas que pudessem contribuir para o estudo. Obrigado Felipe Coutinho, Lucca, Carlos, Maycon, Xandão, Aranha, Nicolas, Destro,

Gabriel Martins, Toninho, Arthur, Gabriel Justo, Gui Soares, Leonardo Novais, Bryan, William, Isaque, Murilo, Estevão, Yoshi, Julio, Michael, Igor Fernandes, Gui Marcondes, Caju, Julio Oliveira, Pedro, Gabriel Pelegrini, Kauan, Léozera, Augusto, Gleison, Alemão, Alan, Silas, Gui Tacao, Pagani, Abner, Joia, 2K, Buara, Breno, Mateus Pedroso, Vini, Ariel, Hygor, Bozena, Téó, Watanabe, Yago, Hashimoto, Theo, Renan, Japão, Fio, Rafael, Ianni, Alex, Augusto Correa, Gustavo Sobrinho, Brunno Brandão, Gui Brandão, Lemos, Alian, João, Henry, Ricardinho, Hugo, Hungria, Puro, Felipe Bezerra, Miguel, Léo, Wallace, Kim, Vinicius Afonso, Rafa, Bertacco, G2 e Victor sem vocês não seria possível à realização desse projeto, muito obrigado pela ajuda de todos, sou muito grato a vocês.

Obrigado a todos que me ajudaram a realizar o estudo, que estiveram presentes me ajudando nas coletas, obrigado por toda ajuda, seriedade e por deixarem o ambiente mais leve. Agradeço muito a vocês Gabi Delgado, Igor, Fer Santana, Gabriel Pellegrini, Kauan, Gabriel Martins, Nicolas, Lysi, Taise, Fer, Carlos, Nicolas e Michael. Obrigado a todos os integrantes do LAFIDE que me auxiliaram em algum momento e por dividirem muitos momentos comigo.

Não poderia deixar de agradecer minhas crias Pagani, Renan e principalmente Ju e Alemão, vocês me ajudaram muito, sou muito grato a vocês. Obrigado por toda confiança que tiveram em mim, por todo o carinho e todos os momentos de fofoca, brincadeiras e de descontração nas coletas, tornando o ambiente mais leve, entretanto ser perder a seriedade da coleta e fazendo tudo da melhor forma possível, eu sabia que podia contar com vocês para o que precisasse, sabia que se precisasse faltar estariam ali para cumprir o papel de vocês e o meu caso necessário. Como já disse sou muito grato.

Obrigado a todas as tias da limpeza, tanto do CEA FIR quanto do bloco 3, por serem sempre muito atenciosas e solícitas comigo. Obrigado Fernando, por sempre me

esperar pra fechar a clínica pra eu não precisar entregar a chave e por sempre tentar resolver os problemas que estavam ao seu alcance. Não posso esquecer de falar do Amilton, pessoa que estava presente sempre nas nossas pausas para o café e nos nossos almoços, sempre fazendo coisas gostosas pra gente comer e sempre conversando sobre tudo. Não poderia esquecer de agradecer ao Prof Alessandro Moura Zagatto, o qual emprestou seu laboratório de pesquisa e seu lactímetro em Bauru para que eu conseguisse realizar as análises sanguíneas. Vale ressaltar todo o apoio que ele e seus orientandos Paloma, Yago e Rodrigo tiveram em relação a mim. Esses momentos que passei ai com vocês foi muito importante para a minha trajetória no âmbito científico, aprendi muito com vocês.

Também gostaria de agradecer aos meus colegas de atlética e aos meus amigos Murilo, Nath, Regorio, Da Hora, Leal, Helo, Tamara, Vitor, Karina, Kauan, Charles, Vini, João, Paola e Rafa, alguns perdi um pouco de contato durante esses três anos enquanto outros me aproximei mais, embora tenha essas divergências, saibam que vocês foram muito importantes para mim.

Por fim não poderia deixar de lembrar do meu grupinho fofoqueiro, sim, estou falando de vocês, Fer, Fla, Lysi, Isaque, Ju, Buara e Michael. Obrigado por tudo nesses últimos anos, a gente se aproximou muito, obrigado por todo o apoio e suporte que me deram e me dão até hoje. Obrigado por dividirem comigo todas as fofocas, momentos de dor e de felicidade, vou levar vocês para sempre no meu coração, saibam que mesmo eu sendo uma pessoa fria como vocês costumam dizer gosto muito de vocês.

Obrigado a todos que passaram pela minha vida nesse período tão importante, agradeço a todos por tudo que fizeram por mim. Sou grato a todos vocês.

“São as nossas escolhas, mais do que as nossas
capacidades, que mostram quem realmente somos.”

J. K. Rowling

Sumário

Apresentação	13
Contextualização	13
Artigo I	17
Artigo II	47
Considerações Finais	74

Lista de Figuras

Artigo I

Figura 1. Fluxograma do desenho do estudo.

Figura 2. Design do estudo.

Figura 3. Protocolo PCI.

Artigo II

Figura 1. Delineamento do estudo.

Figura 2. Fluxograma.

Figura 3. Diferença intra e intergrupos de lactato e CK.

Figura 4. Diferenças intra e intergrupos de CVIM, percepção de recuperação (LIKERT) e dor localizada (EVA).

Lista de Tabelas

Artigo II

Tabela 1. Caracterização dos participantes.

Lista de Abreviaturas

Artigo I

AIS – Antero-inferior iliac spine

ASIS – Antero-superior iliac spine

BIA – Electrical bioimpedance

CEAFIR – Center for Studies and Assistance in Physiotherapy and Rehabilitation

CK – Creatine kinase

EE – Eccentric Exercise

EIMD – Exercise-induced muscle damage

IPC – Ischemic preconditioning

MVIC – maximal voluntary isometric contraction

RF – Femoral rectum

TOP – Total occlusion pressure

VAS – Visual analog scale

VL – Vastus lateral

Artigo II

CEAFIR – Centro de Estudos e Atendimento em Fisioterapia e Reabilitação

CK – Creatina quinase

CVIM – Contração voluntária isométrica máxima

DMIE – Dano muscular induzido pelo exercício

DMIT – Dano muscular de início tardio

EE – Exercício excêntrico

EVA – Escala visual analógica

IMC – Índice de massa corporal

LIKERT – escala de sensação subjetiva de recuperação

PCI – Precondicionamento isquêmico

PCI-POT – Precondicionamento com a pressão de oclusão total

PCI-40% - Precondicionamento com 40% a mais que a pressão de oclusão total

POT – Pressão de oclusão total

Apresentação

Essa dissertação está apresentada em consonância com as normas do modelo alternativo de dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências do Movimento – Interunidades (PPGCM) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. O conteúdo desse trabalho contempla o material originado a partir da pesquisa intitulada “Efeitos do condicionamento isquêmico no dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: ensaio clínico randomizado placebo controlado” realizado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente – SP, Brasil e financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Bolsa de Mestrado).

Desta forma o material está dividido nas seguintes sessões:

- Contextualização do tema pesquisado;
- Referências;
- Artigo I: Pizzo Junior E, Cavina APS, Lemos LK, Biral TM, Pastre CM, Vanderlei FM. “Effects of different ischemic preconditioning occlusion pressures on muscle damage induced by eccentric exercise: a study protocol for a randomized controlled placebo clinical trial” publicado na *Trials* (Fator de impacto: 2.728);
- Artigo II: Pizzo Junior E, Vendrame JW, Cavina APS, Teixeira Filho CAT, Biral TM, Vanderlei FM. “Diferentes pressões de condicionamento isquêmico não interferem na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: ensaio randomizado placebo controlado” à ser submetido na *Sports Medicine* (Fator de impacto: 11.928);
- Considerações finais.

Contextualização

O exercício excêntrico (EE) é muito utilizado para ganho de força e na reabilitação, já que produz uma maior quantidade de força ^(1,2). Quando o EE é utilizado em baixo volume e/ou baixa intensidade pode causar um efeito protetor à longo prazo devido às adaptações resultantes do próprio exercício, sendo elas mecânicas, neurais ou celulares, dessa forma, melhorando a recuperação muscular e reduzindo proteínas musculares no sangue ^(3,4,5).

Porém nem sempre ele será utilizado em baixa carga, dessa forma, quando utilizado em altas intensidades, novo estímulo ou por indivíduos destreinados ele pode causar o dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) ^(6,7,8). O dano causado nesses casos é prejudicial, já que pode acarretar diminuição de desempenho com diminuição de força muscular, elevação de proteínas musculares no sangue, além de dor muscular de início tardio (DMIT) ⁽⁷⁾.

O DMIE pode ser explicado pelo distúrbio da função muscular, sendo caracterizado em exercício de alta intensidade prolongados ou por hipóxia ou isquemia, dessa forma causando uma deficiência de adenosina trifosfato (ATP) devido à alta demanda exigida, acarretando em uma alta concentração de íons na célula ^(7,9). Outra explicação para o DMIE é a interrupção mecânica da célula que surge após o treinamento onde ocorre a ruptura de fibras musculares ou descontinuidade de tecido conjuntivo após o exercício e gera a DMIT ^(7,9).

Sendo assim, algumas técnicas que visam minimizar esse dano são utilizadas, dentre elas tem-se a massagem, a crioterapia, fotobiomodulação e roupas compressivas ⁽¹⁰⁻¹³⁾. Como alternativa, existem intervenções pré-exercício que podem ser utilizadas para atenuar o futuro dano muscular, dentre elas, tem-se o condicionamento isquêmico (PCI) ⁽¹⁴⁾.

O PCI é caracterizado pela aplicação de breves períodos de isquemia e reperfusão de um membro em períodos que antecedem o exercício por meio de insuflações e deflações de um manguito de pressão ^(15,16). Essa técnica pode minimizar os efeitos deletérios da isquemia-reperfusão, podendo acelerar a recuperação após o DMIE, pois causa danos contráteis e metabólicos semelhantes aos que ocorrem após o exercício, como aumento na concentração de cálcio intracelular e de proteínas musculares no sangue e marcadores de citocinas como lactato e creatina quinase (CK) ⁽¹⁷⁾.

Os períodos de isquemia seguidos de reperfusão do PCI estão associados a diversas alterações celulares e imunológicas que se assemelham as que acontecem no DMIE ⁽¹⁴⁾. Dessa forma, como possuem patogênese semelhante a sua aplicação antecedendo o EE pode minimizar a magnitude do dano muscular e respostas pré-inflamatórias subsequentes, dessa forma, estimulando diretamente os sistemas fisiológicos e melhorando a integridade tecidual ^(14,18).

Baseado no exposto a cima optou-se por realizar um estudo abrangendo quatro grupos (controle, placebo, PCI-POT, PCI-40%), que realizaram avaliações basais, as intervenções, protocolo de dano muscular através de um EE, e avaliação pós-exercício. Optou-se por realizar diferentes tipos de PCI, pois na literatura existem lacunas sobre a avaliação de diferentes pressões de oclusão. Dessa forma, essa dissertação aborda sobre os efeitos de diferentes pressões de PCI no DMIE excêntrico.

Referências

1. Suchomel TJ, Nimphius S, Bellon CR, Stone MH. The importance of muscular strength: training considerations. *Sports Med.* 2018;48(4):765-85.
2. Douglas J, Pearson S, Ross A, McGuigan M. Chronic adaptations to eccentric training: a systematic review. *Sports Med.* 2017;47(5):917-41.
3. Hody S, Croisier JL, Bury T, Rogister B, Leprince P. Eccentric muscle contractions: risks and benefits. *Front Physiol.* 2019;10:536.
4. McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2003;13(2):88-97.
5. Hyldahl RD, Chen TC, Nosaka K. Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. *Exerc Sport Sci Rev.* 2017;45(1):24-33.
6. Behrens M, Mau-Moeller A, Bruhn S. Effect of exercise-induced muscle damage on neuromuscular function of the quadriceps muscle. *Int J Sports Med.* 2012;33(8):600-6.
7. Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.* 1989;7(4):207-34.
8. Baumert P, Lake MJ, Stewart CE, Drust B, Erskine RM. Genetic variation and exercise induced muscle damage implications for athletic performance, injury and ageing. *Eur J Appl Physiol.* 2016;116(9):1595-625.
9. Armstrong RB. Muscle damage and endurance events. *Sports Med.* 1986;3(5):370-81.
10. Bishop PA, Jones E, Woods AK. Recovery from training: a brief review. *J Strength Cond. Res.* 2008; 22(3):1015-24.

11. Machado AF, Micheletti JK, Lopes JSS, Vanderlei FM, Leal-Junior ECP, Netto Junior J, Pastre CM. Phototherapy on management of creatine kinase activity in general versus localized exercise: a systematic review and meta-analysis. *Clin J Sport Med.* 2020; 30(3):267-274.
12. Machado AF, Ferreira PH, Micheletti JK, Almeida AC, Lemes IR, Vanderlei FM, Netto Junior J, Pastre CM. Can water temperature and immersion time influence the effect of cold water immersion on muscle soreness? A systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2016;46(4):503-14.
13. Howatson G, Van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 2008;38(6):483-503.
14. Franz A, Behringer M, Nosaka K, Buhren BA, Schrumpf H, Mayer C, et al. Mechanisms underpinning protection against eccentric exercise-induced muscle damage by ischemic preconditioning. *Med Hypotheses.* 2017;98:21-7.
15. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-36.
16. Slys JT, Burr JF. Impact of 8 weeks of repeated ischemic preconditioning on running performance. *Eur J Appl Physiol.* 2019;119(6):1431-7.
17. Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Therapeutic interventions against reperfusion injury in skeletal muscle. *J Surg Res.* 2011;171(1):175-82.
18. Franz A, Behringer M, Harmsen JF, Mayer C, Krauspe R, Zilkens C, et al. Ischemic preconditioning blunts muscle damage responses induced by eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2018;50(1):109-15.

Artigo I

Pizzo Junior et al. *Trials* (2021) 22:326
<https://doi.org/10.1186/s13063-021-05285-7>

Trials

STUDY PROTOCOL

Open Access

Effects of different ischemic preconditioning occlusion pressures on muscle damage induced by eccentric exercise: a study protocol for a randomized controlled placebo clinical trial



Eduardo Pizzo Junior^{1*} , Allysiê Priscilla de Souza Cavina¹, Leonardo Kesrouani Lemos¹, Taise Mendes Biral¹, Carlos Marcelo Pastre² and Franciele Marques Vanderlei²

Abstract

Introduction: due to its greater generation of muscle strength and less metabolic demand, eccentric exercise has been widely used in rehabilitation and for improving physical fitness. However, eccentric exercise can induce muscle damage by providing structural changes and reduced muscle function, so even with the protection caused by the repeated bout effect from eccentric exercise, it is necessary to seek alternatives to reduce this damage caused by stress. Thus, ischemic preconditioning could represent an aid to reduce the damage muscle or increase the protective effect caused by eccentric exercise. **Objectives:** to compare the effects of ischemic preconditioning, using different occlusion pressures, on acute and delayed responses to perceptual outcomes, markers of muscle damage and performance in post-eccentric exercise recovery. **Methods:** a randomized controlled placebo clinical trial will be carried out with 80 healthy men aged 18 to 35 years who will be randomly divided into four groups: ischemic preconditioning using total occlusion pressure, ischemic preconditioning with

40% more than total occlusion pressure, placebo (10 mmHg), and control. The ischemic preconditioning protocol will consist of four cycles of ischemia and reperfusion of five minutes each. All groups will perform an eccentric exercise protocol, and assessments will be carried out before, immediately after, and 24, 48, 72, and 96 hours after the end of the eccentric exercise to evaluate creatine kinase, blood lactate, perception of recovery using the Likert scale, being sequentially evaluated, pain by the visual analog scale, pain threshold using a pressure algometer, muscle thickness by ultrasound, muscle tone, stiffness and elasticity by myotonometry, vectors of cell integrity through electrical bioimpedance, and maximal voluntary isometric contraction using the isokinetic dynamometer. The trial was registered at ClinicalTrials.gov (NCT04420819).

Discussion: the present study aims to present an alternative technique to reduce muscle damage caused by eccentric exercise, which is easy to apply and low cost. If the benefits are proven, ischemic preconditioning could be used in any clinical practice that aims to minimize the damage caused by exercise, presenting an advance in the prescription of eccentric exercise and directly impacting on the results of post-exercise recovery.

Keywords: Ischemic Preconditioning, Exercise, Musculoskeletal Pain, Creatine Kinase, Muscle Fatigue, Stress, Physiological, Randomized controlled trial.

Trial registration number: ClinicalTrials.gov, (NCT04420819). Registered on 19 May 2020; Last Update 24 March 2021.

Introduction

Resistance training is the most commonly used training method for maintaining and improving strength and muscle mass ⁽¹⁾, being characterized by concentric or eccentric muscle contractions ^(2, 3). Evidence indicates that eccentric training programs

have been widely used in musculoskeletal rehabilitation or for improving physical fitness^(4, 5). The lower metabolic demand make eccentric exercise (EE) an alternative to obtain better hypertrophic adaptations when compared to concentric exercise, promoting a greater amount of strength^(2, 6, 7).

Thus, this exercise presents an interesting alternative for clinical use and should be encouraged in the rehabilitation process, to improve performance and prevent injuries. However, it must be considered that EE produces marked acute responses, structural damage, and reduced muscle function⁽⁸⁾. Due to the high force exerted on these deformable units, deformation occurs, which causes muscle stiffness, and may influence the risk of injuries⁽⁹⁾.

Exercise-induced muscle damage (EIMD) is characterized by morphological alterations, decreased performance with reduced range of motion and strength, edema, delayed-onset muscle pain, and muscle proteins in the blood, especially creatine kinase (CK).

The literature has pointed out that EE itself has a protective effect against muscle damage, however, there are also strategies to assist recovery, such as massage, photobiomodulation, cryotherapy and compressive clothing⁽¹⁰⁻¹⁵⁾. Some pre-exercise strategies are also used as a way to minimize these damages, especially ischemic preconditioning (IPC)⁽¹⁶⁾, which is characterized by the application of short periods of circulatory occlusion (ischemia) and reperfusion of a limb in the minutes or hours preceding the exercise, through insufflations and deflations of a pressure cuff^(17, 18).

The IPC was first presented by Murry *et al.*⁽¹⁷⁾ and applied to the musculoskeletal system by Takarada *et al.*⁽¹⁹⁾ and consists of three to four cycles of ischemia and reperfusion with five minutes of ischemia and reperfusion varying from three to five minutes^(17, 19). Patterson *et al.* demonstrated that this strategy can be

administered from one to two times a day, applying three to five cycles of ischemia and reperfusion, with five minutes of ischemia and reperfusion varying from three to five minutes⁽²⁰⁾.

This strategy has been considered attractive, because in addition to being low-cost and non-invasive, it has easy clinical applicability and provides an ergogenic aid to improve physical performance⁽¹⁸⁾. Recent studies have emphasized the effectiveness of IPC in assisting post-exercise recovery⁽²¹⁾, which can reduce the damage caused by ischemia-reperfusion injury after EIMD. These ischemia-reperfusion injury cause metabolic and contractile damage similar to those presented in the EIMD, thus causing an increase in the concentrations of intracellular calcium, and in the appearance of muscle proteins in the blood and cytokine markers such as lactate and CK^(22, 23).

Thus, its application before exercise can reduce the magnitude of muscle damage and subsequent pre-inflammatory responses, directly stimulating the body's physiological defense system and improving tissue integrity^(16, 24). Therefore, some form of post-exercise recovery measurement is required, which can be acquired through a Likert recovery perception scale that ranges from 0 to 10⁽²⁵⁾.

However, studies have been trying to determine the best prescription parameters for this strategy. Cocking et al.⁽²⁶⁾ and Lindsay et al.⁽²⁷⁾ analyzed the IPC response dose. The first study⁽²⁶⁾ investigated whether different IPC protocols improve muscle endurance, with a four-cycle and an eight-cycle protocol. The results showed that the four-cycle protocol demonstrated an improvement in resistance performance compared to the eight-cycle protocol. The second study⁽²⁷⁾, on the other hand, examined whether IPC applied different numbers of times per day improves performance, however, daily frequency was not a determining factor for improving performance^(26, 27). Another factor that hypothetically can determine the results of IPC is the pressure of

occlusion generated in the period of ischemia, however, no studies were found that analyzed these effects in the recovery period after an EIMD.

Based on the above, it is hypothesized that IPC will provide a protective effect against eccentric EIMD, reducing muscle pain and improving clinical indicators, without, however, impairing muscle function. In addition, these responses are expected to be more evident in the higher occlusion pressure since there is a greater increase in blood flow and high levels of post-ischemic adenosine. In addition, factors related to the IPC response dose may influence responses in post-exercise recovery. Therefore, the aim of the present study is to compare the effects of IPC, using different occlusion pressures, on acute and delayed responses to perceptual outcomes, markers of muscle damage and performance in post-eccentric exercise recovery.

Methods

Study design

This is a single-blind, placebo-controlled, clinical trial, with four parallel groups conducted at the Center for Studies and Care in Physiotherapy and Rehabilitation at Universidade Estadual Paulista (FCT/UNESP), Presidente Prudente, SP, Brazil. The trial was registered at ClinicalTrials.gov (NCT04420819) and approved by the Research Ethics Committee of FCT / UNESP, Presidente Prudente, SP, Brazil (CAAE: 30765020.3.0000.5402). Informed consent form are available from the corresponding author on request.

On the consent form, participants will be asked if they agree to use of their data should they choose to withdraw from the trial. Participants will also be asked for permission for the research team to share relevant data with people from the

Universities taking part in the research or from regulatory authorities, where relevant. This trial does involve collecting biological specimens for storage.

The study protocol follows the SPIRIT 2013 checklist (Standard Protocol Items: Recommendations for International Trials) ⁽²⁸⁾ (Supplementary File 1) and the TIDieR (Template for Intervention Description and Replication) ⁽²⁹⁾, so that the information and quality of reports of interventions are well described ⁽³⁰⁾.

Participants and population analysis

For this study, the sample will consist of 80 healthy male individuals, aged between 18 and 35 years. We chose to investigate only men due to the differences found in the level of muscle strength and power between the sexes ^(31, 32). These participants will be recruited, will be recruited from a database of the Sports Physiotherapy Laboratory of FCT/UNESP and the community, through dissemination posters on the institution's premises, social networks, and advertisements in the local media. These procedures are recommended by Treweek *et al.* ⁽³³⁾ as strategies to improve participant recruitment.

Individuals who exhibit one or more of the following characteristics will not be included: (1) the presence of any health condition that contraindicates or prevents EE; (2) diabetes and diagnosed arterial hypertension; (3) inflammatory, psychiatric, cardiovascular, and/or respiratory rheumatological disease; (4) being an alcoholic, using drugs, and/or being a smoker; (5) history of knee surgery (for example, meniscal repair and ligament reconstruction) or recent musculoskeletal injury to the lower limbs that may impair performance during tests or interventions (for example, muscle injury, tendinopathy, patellofemoral pain in the lower limbs, and/or back pain in the previous six months); (6) involvement in any type of training program during the study period;

(7) engaging in a lower limb strength training program during the three months prior to participating in the study; (8) use of ergogenic supplements to improve physical performance and/or muscle mass and/or vasoactive drugs; (9) having one or more risk factors predisposing to thromboembolism⁽³⁴⁾.

Participants will be excluded from the study if they: present any health problem that does not allow continuity, use medication, electrotherapy or other therapeutic means that may interfere with any result, perform unusual or strenuous physical activities during the evaluation period, or wish to leave the study.

Participants will be instructed in advance not to perform any physical activity or to use any therapeutic form of pain relief or performance improvement during the data collection. In addition, the participant may experience pain, dizziness and sweating common to the practice of exercise, if there are episodes of musculoskeletal injuries, individualized physiotherapeutic treatment will be offered.

The flowchart of the study design and the composition of the groups is illustrated in figure 1.

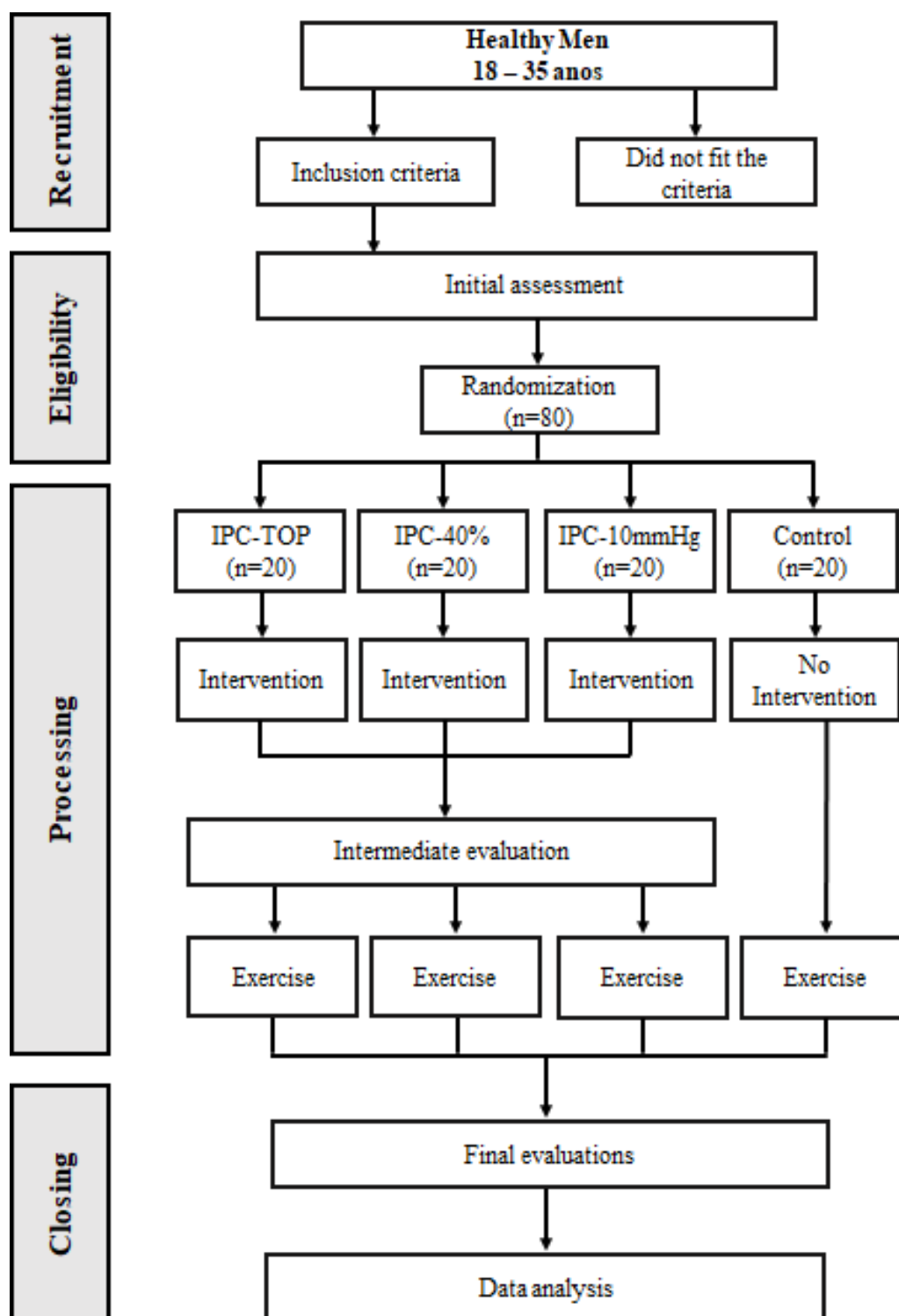


Figure 1. Flowchart of the study design.

Legend: IPC-TOP (ischemic preconditioning with total occlusion pressure); IPC-40% (ischemic preconditioning with 40% higher pressure is to be applied than the closure pressure); IPC-10mmHg (preconditioning with 10mmHg).

Randomization

The randomization sequence will be developed by a researcher who will not be involved in recruiting, evaluating, or training participants using software (Microsoft Office Excel 2007) and will be placed in sequential numbering in opaque and sealed envelopes. There will be blinding of the evaluators and statistical analysis procedures. The experimental protocol will be supervised by trained physiotherapists who are not involved in the randomization process or assessments. Due to the nature of the interventions, the participants who perform the exercise will not be blind to the allocation of the groups. There is a Trial Steering Committee that meets weekly to provide daily support for the study. Any changes to the protocol will be notified to the ethics committee and an update will be made to the clinical trial record.

Participants who meet the eligibility criteria will be randomly allocated and balanced in a 1:1:1:1 ratio to one of the four groups, namely:

1. IPC-total occlusion pressure (TOP) [IPC-TOP]: this group will carry out baseline assessments, perform IPC using exactly the TOP, then perform post-IPC assessments and start EE. Post-exercise assessments will take place immediately after the end of EE and will be repeated at 24h, 48h, 72h, and 96h. All steps take place immediately after the end of the previous step, with the exception of the 24h, 48h 72h and 96h steps.

2. IPC-40%: this group will perform baseline assessments, perform IPC using 40% higher pressure is to be applied than the closure pressure, then perform post-IPC assessments and start EE. Post-exercise assessments will take place immediately after completion of the EE and will be repeated at 24h, 48h, 72h, and 96h. All steps take place immediately after the end of the previous step, with the exception of the 24h, 48h 72h and 96h steps.

3. IPC-10mmHg: this group will carry out baseline assessments, perform the occlusion-perfusion intervention with 10mmHg restriction characterizing the placebo, and then perform post-IPC assessments and start EE. Post-exercise assessments will take place immediately after completion of the EE and will be repeated at 24h, 48h, 72h, and 96h. All steps take place immediately after the end of the previous step, with the exception of the 24h, 48h 72h and 96h steps.

4. CONTR: this group will carry out the baseline assessments, and immediately afterwards start the EE. Post-exercise assessments will take place immediately after the end of the EE and will be repeated at 24h, 48h, 72h, and 96h. All steps take place immediately after the end of the previous step, with the exception of the 24h, 48h 72h and 96h steps.

There will be no special criteria for discontinuing or modifying the allocated interventions.

Study design

Data collection will be carried out at the Center for Studies and Assistance in Physiotherapy and Rehabilitation (CEAFIR) of FCT/UNESP, respecting the time from 17h to 22h. All procedures will be performed under standard conditions (temperature: 21-23°C; relative humidity: 40-60%). Each participant will attend the clinic for five consecutive days. Initially, participants will be assessed for anthropometric characteristics, using a scale (Tanita BC 554, Iron Man/Inner, Arlington Heights Illinois, USA) and a stadiometer (Sany - American Medical do Brasil, São Paulo, Brazil) from which the body mass index (BMI) will be calculated.

After these initial procedures, the TOP evaluation will be carried out. After a 10-minute rest, baseline outcome assessments will be performed. Initially, CK and

blood lactate will be collected, followed by application of the scales of perception of recovery and muscle pain and the pain threshold. In the supine position, the participant will rest for 10 minutes before the ultrasound, myotonometry, and bioelectrical impedance (BIA) evaluations are performed. Subsequently, MVIC will be evaluated. Next, the participants will perform the previously randomized 40-minute IPC protocol. Evaluations will be carried out immediately after the IPC protocol of all analyzed outcomes except for ultrasound. The same order of execution of the evaluations will be maintained. Thereafter, EE will be initiated and immediately after the end of the EE, all outcomes will be collected again. Subsequent visits will be carried out 24, 48, 72, and 96 hours after the EE, in which the same outcomes mentioned above will be collected, maintaining the same order of execution of the evaluations. The study design is outlined in figure 2.

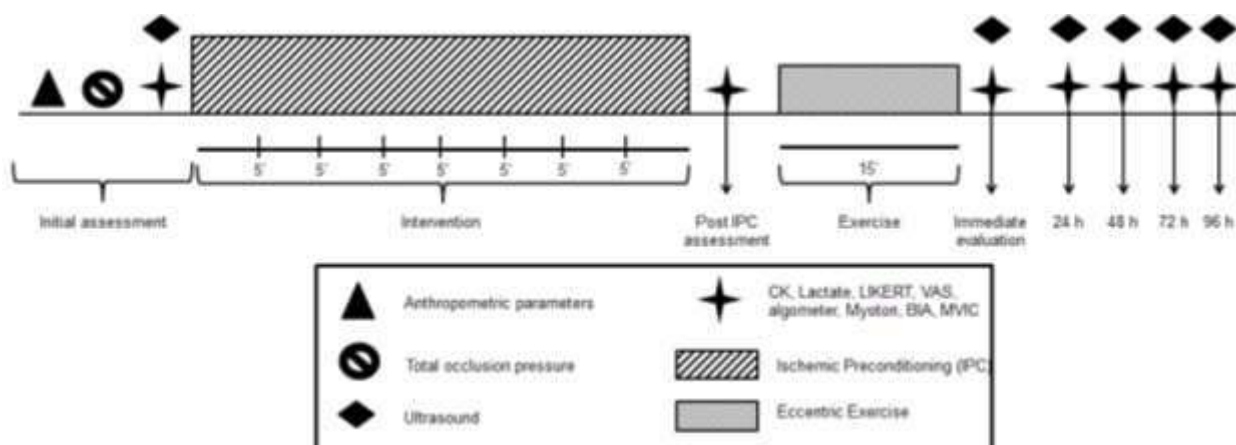


Figure 2. Study design.

Total occlusion pressure determination

After assessing the anthropometric parameters, the participants will be asked to lie down for ten minutes ⁽³⁵⁾. All participants will be instructed to avoid strenuous exercise and alcohol intake within 48 hours of the TOP assessment.

For the determination of TOP, a transducer with Doppler equipment (DV-2001; Medpej, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil) will be used, which will be positioned over the posterior tibial artery to capture the auscultatory pulse located at the average distance between the medial malleolus tibia and Achilles tendon. A blood pressure cuff will be attached to the participant's thigh close to the region of the inguinal crease of the dominant member ⁽³⁴⁾ and will then be inflated to the point where the auscultatory pulse of the tibial artery is interrupted. TOP will be defined as the pressure at the moment when the arterial pulse is abolished, indicated by the absence of an auscultatory signal.

The vascular occlusion will be performed using an adapted blood pressure cuff (nylon, velcro, 175 mm wide and 920 mm long, JPJ - Hospital Materials Industry, São Paulo, Brazil). We opted for a wider cuff, as it has been proven that the width of the cuff has great influence on the pressure required to achieve total blood flow restriction ⁽³⁶⁾.

Ischemic Preconditioning Protocol

The IPC protocol will be applied to the inguinal region of the dominant limb with the participants relaxed and comfortably positioned in the supine position. The same cuff used to determine TOP will be used and the protocol will consist of four cycles of total ischemia (TOP determined individually) of five minutes, followed immediately by four cycles of five minutes of vascular reperfusion (0 mmHg), totaling 40 minutes, as shown in figure 3.

To perform the IPC protocol, one of the study groups will use 40% more than the TOP, according to the study by Lopes et al. ⁽³⁷⁾, the pressure at which the blood flow stops passing to the tibial artery varies from 140 to 160 mmHg and most studies performing IPC use pressures between 200 to 220 mmHg, thus, the values are corresponding ⁽³⁷⁾. The other study group will use the exact TOP, since at this value there is an absence of blood flow.

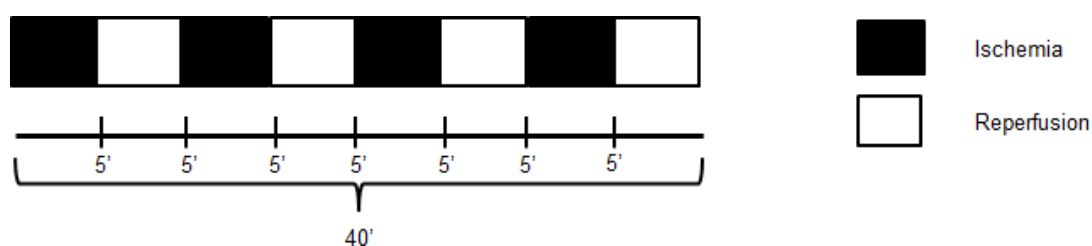


Figure 3. IPC protocol.

Placebo preconditioning

Placebo preconditioning will be performed on the dominant thigh with the same cuff, similar to the IPC protocol described above (Figure 3), but with four cycles of five minutes of placebo occlusion (10mmHg), alternating with four cycles of five minutes of reperfusion (0 mmHg) ^(38, 39).

It should be mentioned that in the three study groups, participants will be previously informed that the applied occlusion pressure will be sufficient to improve performance and avoid muscle damage. In addition, all procedures will be performed individually, to prevent participants from talking to each other about the compression generated by the cuff.

Eccentric Exercise Protocol

The EE will be performed on an isokinetic dynamometer (Biodex System 4 Pro, New York, New York, USA) for the knee extensor muscles of the dominant limb. Initially, five submaximal knee extension contractions will be performed for familiarization. Before each repetition, the dominant leg will be positioned at 30° of knee flexion. The participant will be instructed to perform a knee extension, while the dynamometer, with its resistance, returns the leg to 90° flexion, at a speed of 60°/s (1.04 rad/s) executing a range of movement of 60° (30-90° of knee flexion).

The protocol is based on the study by Machado et al. ⁽²⁵⁾, starting five minutes after familiarization and consisting of 5 sets of 15 maximum eccentric contractions of knee extension, with 30 seconds of rest between sets, totaling 75 repetitions. The speed and range of movement will be similar to the familiarization and verbal encouragement will be given throughout the protocol. According to the authors, this protocol is capable of promoting muscle damage ⁽²⁵⁾.

Primary and secondary outcomes and assessment points

Primary outcomes will be related to muscle damage and muscle function through the quantification of creatine kinase, blood lactate, MVIC, and muscle thickness. In addition, there will be four measures of secondary outcomes: assessment of pain and pain threshold, assessment of recovery perception, myotonometry (muscle tone, stiffness, and elasticity), and electrical bioimpedance (resistance, reactance, and phase angle). All outcomes will be collected at the initial assessment with the exception of the perception of recovery, and immediately and 24, 48, 72, and 96 hours after the end of the EE. Ultrasonography will not be performed immediately after the exercise.

Details of procedures

Creatine Kinase

Plasma CK concentration will be obtained by means of 32 μL of capillary blood collected from the digital pulp. This puncture will take place by means of a lancet with automatic trigger, after cleaning the location with 95% ethyl alcohol and drying with cotton. The blood sample will be drained into a heparinized capillary tube and then pipetted into a reactive CK strip for analysis on the Reflotron Plus System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) using the reflection photometry method at 37 ° C (test temperature). The test strips will be kept at a storage temperature of 2 to 8 ° C, according to the manufacturer's instructions. The Reflotron System method allows fast and reliable measurement of CK levels ⁽⁴⁰⁾.

Blood lactate concentration

To assess the participant's blood lactate concentration, 25 ml of blood will be collected from an ear lobe capillary. Heparinized capillaries and polyethylene Eppendorf tubes (1.5 ml) containing 50 μL of sodium fluoride (NaF - 1%) will be used. The analyses will be performed on a lactimeter (YSI, Yellow Springs - 1,500) ⁽⁴¹⁾ and the lactate values will be expressed in mmol/L. The lactate will be collected at the following moments: pre IPC protocol, pre EE, immediately after the end of EE, and in the 1st, 3rd, 5th, 7th, 9th, 11th, 13th, and 15th minutes, and 24 h, 48 h, 72 h, and 96 h after the intervention. The samples will be stored in a refrigerator with a temperature of 1° C to 7° C until their analysis.

Perception of recovery

The perception of recovery of the lower limb submitted to the EE protocol will be assessed using a 10-point Likert Scale, where 1 indicates “not recovered” and 10 “fully recovered”⁽²⁵⁾. The scale will be presented to the participants and, so that they are not influenced by the researcher, they will answer the question: "From 1 to 10 points, how do you rate the perception of recovery felt in your lower limb at this moment?"^(25, 42). This scale will be applied immediately after the end of the EE, and 24, 48, 72, and 96 hours after the intervention.

Muscle pain and pain threshold

Muscle pain will be measured using the visual analog scale (VAS). Participants will be asked to rate their exercise-induced leg pain, on the scale, which ranges from 0 “no pain” to 10 “extreme pain”⁽⁴³⁾.

To assess the pain threshold, a pressure algometer will be used, which is a reliable and validated instrument (FPX 50/220; Wagner instruments, Greenwich, Connecticut, USA)⁽⁴⁴⁾. The pressure algometer will be applied 4 cm above the base of the patella, 15 cm below the antero-superior iliac spine (ASIS), midpoint between the patella and the antero-inferior iliac spine (AIIS), and 2 cm medial and 2 cm lateral in relation to the midpoint. The pain threshold will be defined in kgf and will not exceed 2.55 kgf, as suggested by Jönhagen et al.⁽⁴⁵⁾.

Muscle thickness

The evaluation of the muscular structure will be carried out using ultrasound images of the participant's dominant lower limb, which will be captured using Siemens Sonoline Sienna equipment (Issaquah, WA, USA), together with a linear matrix

transducer (48 mm, 7, 5 MHz) to determine the thickness of the rectus femoris (RF) and vastus lateralis (VL) muscles. Anatomical reference points and skin marks will be drawn on transparent sheets to ensure similar positioning of the ultrasound transducer in the same location in the evaluations.

The images will be taken between the midpoint of the greater trochanter and the lateral condyle of the femur ⁽⁴⁶⁾. The ultrasound transducer will be covered with water-soluble transmission gel and positioned perpendicular to the skin over the RF and VL and oriented parallel to the muscle fascicles ⁽⁴⁶⁾. The alignment of the transducer will be considered adequate when several fascicles can be drawn without interruption through the image ⁽⁴⁶⁾.

Myotonometry

MyotonPRO (MyotonAS, Tallinn, Estonia) will be used to measure muscle tone, stiffness, and elasticity of the quadriceps femoris muscle ⁽⁴⁷⁾. The device will be positioned at 2/3 between the ASIS and the upper pole of the patella ⁽⁴⁸⁾, at the midpoint between them and 2 cm to the medial and 2 cm to the side, 15 cm from the AIIS and 4 cm from the base of the patella.

The device will be positioned perpendicular to the evaluated region, with light pressure. This preload is controlled and corresponds to 0.18 N of initial compression of the subcutaneous tissue, after which an additional impulse of 0.40 N will be released, with a duration of 15 ms. This impulse will induce oscillation in the tissue, which will be damped or deteriorated ⁽⁴⁹⁾.

Electrical Bioimpedance (BIA)

Electrical bioimpedance will be assessed using tetrapolar electrodes (BIA Analyzer, Nutritional Solutions Corporation, Harrisville, MI, USA, $f = 50$ kHz, and $800\mu\text{A}$)^(50, 51). Global and localized evaluations will be carried out. The global assessment will take place with the participant in the supine position; the electrodes will be positioned on the dominant hand (base of the 3rd metacarpal phalanx and between the styloid process of the radius and the head of the ulna) and on the dominant foot (at the base of the 3rd metacarpal phalanx and in the anterior region of the ankle, between the malleoli). The localized evaluation will be carried out to evaluate the quadriceps femoris muscles; the electrodes will be positioned five centimeters below the EIAS and above the base of the patella. The BIA components analyzed will be resistance R , reactance (X_c), and phase angle (phA)^(51, 52). The analysis of the tolerance ellipse will also be performed. The Bioscan program: BL-960141 (Biologica, Barcelona, Spain) will be used for the analyses^(50, 51).

Maximal Voluntary Isometric Contraction (MVIC)

For MVIC evaluation, the participant will be positioned with the dominant lower limb on the Biodex System Pro isokinetic dynamometer (Biodex Medical System, Shirley – NY, USA). According to the protocol suggested by Baroni et al.⁽⁵³⁾, prior to the evaluation, the volunteer will be submitted to a warm-up, which will consist of ten repetitions of concentric contractions of knee flexion-extension at $180^\circ/\text{s}$ throughout the range of motion.

Muscle function will be assessed by means of the highest torque value obtained between three repetitions of five seconds of maximum voluntary contraction at 60° of knee flexion (with 0° corresponding to the maximum extension). A two-minute interval

between repetitions will be administered in order to minimize the possible effects of fatigue. The participant will be instructed to give their maximum strength and will be verbally encouraged by the researcher in each maximum voluntary contraction.

Sample calculation

The sample calculation was performed based on the study by Bailey *et al.* ⁽⁵⁴⁾, using the CK variable, since this variable expresses the amount of muscle protein in the blood representative of indirect muscle damage. The G*Power 3.1.9.7 software was used. Considering the standard deviation in the CK concentration of 200 μL , using a two-tailed hypothesis test with 80% test power and 5% significance level, a sample size of 16 participants per group was stipulated. Predicting sample loss, 4 participants per group were added totaling 80 participants. To increase the participants' adherence to the intervention, telephone contact will be made daily to encourage them to remain in the study, and thus avoid losses. In case of discontinuity or withdrawal, the intention to treat will be used.

Statistical analysis

The normality of the data will be verified by the Kolmogorov Smirnov test. If normality is detected, the sample characterization variables will be presented as mean and standard deviation, if not, as median and interquartile range. To compare the characterization of the sample, one-way ANOVA with Tukey's post-test or Kruskal-Wallis with Dunn's post-test will be used depending on the normality of the data.

The comparisons of the outcomes between the four groups studied and the moments will be performed using the technique of analysis of variance for repeated measures model in the two-factor scheme, which will provide information on the effects

of time, group, and interaction. The repeated measurement data will be checked for sphericity violation using the Mauchly's test and the Greenhouse-Geisser correction will be used when the sphericity is violated. For moment analysis, Bonferroni's post-test for parametric distribution or Dunn's post-test for non-parametric distribution will be used and the analysis between the groups will be performed using One-Way ANOVA or the Kruskal Wallis test.

In addition, the effects of the groups studied will be verified for all the outcomes assessed by calculating the effect size (ES) using Cohen's d, considered as “null” (<0.2), “small” (≥ 0.2), “moderate” (≥ 0.6), “large” (≥ 1.2), or “very large” (≥ 2.0)⁽⁵⁵⁾.

An intention-to-treat analysis will be performed using the patient's most recent assessment in case of withdrawals or absence of data. The level of significance will be $p < 0.05$ for all tests. The statistical program SPSS (version 24.0) (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) will be used for the analyses.

The external evaluator will enter the data into the database for screening, randomisation, and statistical analysis purposes. Double data entry in electronic format will be used. Data integrity will be monitored by regularly scrutinizing data files for omissions and errors. Participants will be given an anonymous study ID to protect confidentiality, and only study investigators will have access to the final trial data set. The spreadsheets containing the raw numeric data of the data generated in this study will be stored in its entirety initially on two external hard drives and two online clouds. Any data required to support the protocol can be supplied on request.

Discussion

Potential impact and significance of the study

This IPC protocol follows the application time pattern found in the literature, however, with different occlusion pressures. Thus, the study findings could bring a new strategy to reduce muscle damage caused by exercise, based on the dose response. Thus, if the hypothesis of the present study is proven, physically active people could benefit from the technique, since it is easily accessible and applicable, in addition to being low cost.

It is also worth noting that the study aims to analyze the participants' perceptions of the different IPC protocols, especially pain and recovery. Thus, these results may add elements that favor the use of IPC protocols and guarantee the adherence of this pre-exercise strategy.

Strengths and weaknesses of the study

A strong point of the study is the comparison between two different IPC protocols with a placebo group and a control group, thus making it possible to observe the true results found from each intervention. The fact that the technique uses only a pressure cuff makes it easy to apply and access, so that it can be implemented in prevention and rehabilitation centers. Another positive point of the study is the monitoring of the effects of the technique for up to 96 hours after the intervention, in addition to the high methodological quality of the study characterized by prospective registration, randomization, blinding, and intention to treat approach. However, a limitation of the study is the fact that the therapist and participants are not blind. Finally some participants may be injured due to the strenuous protocol of eccentric exercise performed.

Contribution and clinical applicability

As already described, the technique is easy to apply, low cost, and non-invasive. It can be applied in different environments of prevention, rehabilitation, and functional recovery. The data obtained in the present study could be used for better application of the technique in physiotherapy, especially in sports clinical practice, considering the periods of training and, especially, competition, providing protection from EIMD.

It is also worth noting that this study includes the items on the checklist for protocol studies in order to minimize bias, and was prospectively recorded. The outcomes will be disseminated through publications in scientific journals and presentations at congresses in the area.

Acknowledgements

EPJ was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, protocol [2020/04222-1](#)). FAPESP is responsible for the EPJ master's scholarship. The other activities, such as data collection, management, analysis and interpretation of data and writing of the report, are the responsibility of the authors. All published material will mention the funding of this funding agency.

Authors' contributions

EPJ and FMV are responsible for the study design. EPJ, APSC, LKL, TMB, CMP and FMV commented on the various versions of this study protocol. EPJ, APSC, LKL and TMB will be involved in recruiting and collecting data. All authors approved the final manuscript.

Ethics approval and consent to participate

Ethical approval has been granted by the Human Ethics Committee of the São Paulo State University (CAAE: 30765020.3.0000.5402). A statement confirming informed consent will be obtained from all study participants

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The spreadsheets containing the raw numeric data will be stored on two external hard drives and two "clouds". After analyzing the data, scientific articles related to the study will be made, and after publication, the data will remain preserved and will also be shared and made available in its entirety for a period of 5 years. The datasets analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding

EPJ was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, protocol [2020/04222-1](#)).

References

1. Walker S, Blazevich AJ, Haff GG, Tufano JJ, Newton RU, Häkkinen K. Greater strength gains after training with accentuated eccentric than traditional isoinertial loads in already strength trained men. *Front Physiol.* 2016;7(149):1-12.
2. American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(3):687-708.
3. Franchi MV, Atherton PJ, Reeves ND, Flück M, Williams J, Mitchell WK, Selby A, Beltran Valls RM, Narici MV. Architectural, functional and molecular responses to concentric and eccentric loading in human skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf).* 2014;210(3):642-54.
4. Suchomel TJ, Nimphius S, Bellon CR, Stone MH. The importance of muscular strength: training considerations. *Sports Med.* 2018;48(4):765-85.
5. Douglas J, Pearson S, Ross A, McGuigan M. Chronic adaptations to eccentric training: a systematic review. *Sports Med.* 2017;47(5):917-41.
6. Komi PV, Kaneko M, Aura O. EMG activity of the leg extensor muscles with special reference to mechanical efficiency in concentric and eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 1987;8(Suppl 1):22-9.
7. Julian V, Thivel D, Costes F, Touron J, Boirie Y, Pereira B, et al. Eccentric training improves body composition by inducing mechanical and metabolic adaptations: a promising approach for overweight and obese individuals. *Front Physiol.* 2018;9:1013.
8. Baroni B, Pinto R, Herzog W, Vaz M. Eccentric resistance training of the knee extensor muscle: training programs and neuromuscular adaptations. *Isokinet Exerc Sci.* 2015;23(3):183-98.

9. Rodriguez ECP, Watsford ML, Bower RG, Murphy AJ. The relationship between lower body stiffness and injury incidence in female netballers. *Sports Biomech.* 2017;16(3):361-373.
10. Bishop PA, Jones E, Woods AK. Recovery from training: a brief review. *J Strength Cond. Res.* 2008;22(3):1015-24.
11. Machado AF, Micheletti JK, Lopes JSS, Vanderlei FM, Leal-Junior ECP, Netto Junior J, et al. Phototherapy on management of creatine kinase activity in general versus localized exercise: a systematic review and meta-analysis. *Clin J Sport Med.* 2020;30(3):267-274.
12. Machado AF, Ferreira PH, Micheletti JK, Almeida AC, Lemes IR, Vanderlei FM, 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 Med.* 2016;46(4):503-14.
13. Howatson G, Van Someren KA. The prevention and treatment of exercise induced muscle damage. *Sports Med.* 2008;38(6):483-503.
14. McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2003;13(2):88-97.
15. Hyldahl RD, Chen TC, Nosaka K. Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. *Exerc Sport Sci Rev.* 2017;45(1):24-33.
16. Franz A, Behringer M, Nosaka K, Buhren BA, Schrupf H, Mayer C, et al. Mechanisms underpinning protection against eccentric exercise-induced muscle damage by ischemic preconditioning. *Med Hypotheses.* 2017;98:21-7.
17. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-36.

18. Slysz JT, Burr JF. Impact of 8 weeks of repeated ischemic preconditioning on running performance. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119(6):1431-7.
19. Takarada Y, Takazawa H, Ishii N. Applications of vascular occlusion diminish disuse atrophy of knee extensor muscles. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(12):2035-9.
20. Patterson SD, Hughes L, Warmington S, Burr J, Scott BR, Owens J, et al. Blood flow restriction exercise: considerations of methodology, application, and safety. *Front Physiol*. 2019;10:533.
21. Beaven CM, Cook CJ, Kilduff L, Drawer S, Gill N. Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2012;37(6):1132-9.
22. Page W, Swan R, Patterson SD. The effect of intermittent lower limb occlusion on recovery following exercise-induced muscle damage: a randomized controlled trial. *J Sci Med Sport*. 2017;20(8):729-33.
23. Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Therapeutic interventions against reperfusion injury in skeletal muscle. *J Surg Res*. 2011;171(1):175-82.
24. Franz A, Behringer M, Harmsen JF, Mayer C, Krauspe R, Zilkens C, et al. Ischemic preconditioning blunts muscle damage responses induced by eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2018;50(1):109-15.
25. Machado AF, Almeida AC, Micheletti JK, Vanderlei FM, Tribst MF, Netto Junior J, Pastre CM. Dosages of cold-water immersion post exercise on functional and clinical responses: a randomized controlled trial. *Scand J Med Sci Sports*. 2017;27(11):1356-63.
26. Cocking S, Wilson MG, Nichols D, Cable NT, Green DJ, Thijssen DHJ, et al. Is there an optimal ischaemic preconditioning dose to improve cycling performance? *Int J Sports Physiol Perform*. 2018;13(3):274-282.

27. Lindsay A, Petersen C, Ferguson H, Blackwell G, Rickerby S. Lack of a dose response from 7 days of ischemic preconditioning in moderately trained cyclists. *Sports Med Int Open*. 2018;2(4):E91-7.
28. Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, Laupacis A, Gotzsche PC, Krleza-Jeric K, et al. SPIRIT 2013 Statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Ann Intern Med*. 2013;158(3):200-7.
29. Yamato T, Maher C, Saragiotto B, Moseley A, Hoffmann T, Elkins M, et al. The TIDieR checklist will benefit the physical therapy profession. *Braz J Phys Ther*. 2016;20(3):191-3.
30. Yamato TP, Maher CG, Saragiotto BT, Moseley AM, Hoffmann TC, Elkins MR, et al. The TIDieR checklist will benefit the physiotherapy profession. *Physiother Can*. 2016;68(4):311-2.
31. Bailey CA, Sato K, Burnett A, Stone MH. Force-production asymmetry in male and female athletes of differing strength levels. *Int J Sports Physiol Perform*. 2015;10(4):504-8.
32. Bartolomei S, Grillone G, Di Michele R, Cortesi M. A comparison between male and female athletes in relative strength and power performances. *J Funct Morphol Kinesiol*. 2021;6(1):17.
33. Treweek S, Lockhart P, Pitkethly M, Cook JA, Kjeldstrom M, Johansen M, et al. Methods to improve recruitment to randomised controlled trials: Cochrane systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2013;3:e002360.
34. Dankel SJ, Buckner SL, Counts BR, Jessee MB, Mouser JG, Mattocks KT, et al. The acute muscular response to two distinct blood flow restriction protocols. *Physiol Int*. 2017;104(1):64-76.

35. Hughes L, Jeffries O, Waldron M, Rosenblatt B, Gissane C, Paton B. Influence and reliability of lower-limb arterial occlusion pressure at different body positions. *PeerJ*. 2018;6:e4697.
36. Crenshaw AG, Hargens AR, Gershuni DH, Rydevik B. Wide tourniquet cuffs more effective at lower inflation pressures. *Acta Orthop. Scand*. 1988;59(4):447-51.
37. Lopes TR, Sabino-Carvalho JL, Ferreira THN, Succi JE, Silva AC, Silva BM. Effect of ischemic preconditioning on the recovery of cardiac autonomic control from repeated sprint exercise. *Front Physiol*. 2018;9:1465.
38. Barbosa TC, Machado AC, Braz ID, Fernandez IA, Vianna LC, Nobrega AC, et al. Remote ischemic preconditioning delays fatigue development during handgrip exercise. *Scand. J Med Sci. Sports*. 2015;25(3):356-64.
39. Seeger JPH, Timmers S, Ploegmakers DJM, Cable NT, Hopman MTE, Thijssen DHJ. Is delayed ischemic preconditioning as effective on running performance during a 5km time trial as acute IPC? *J Sci Med Sport*. 2016;20(2):208-12.
40. Hørder M, Jørgensen PJ, Hafkenschied JC, Carstensen CA, Bachmann C, Bauer K, et al. Creatine kinase determination: a european of creatine kinase determination in serum, plasma and whole blood with the reflotron system. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1991;29(10):691-6.
41. Bastos FN, Vanderlei LC, Nakamura FY, Bertollo M, Godoy MF, Hoshi RA, et al. Effects of cold water immersion and active recovery on postexercise heart rate variability. *Int J Sports Med*. 2012;33(11):873-9.
42. Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM. Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med*. 2008;27(1):1-s18.
43. Ferreira-Valente MA, Pais-Ribeiro JL, Jensen MP. Validity of four pain intensity rating scales. *Pain*. 2011;152(10):2399-404.

44. Kinser AM, Sands WA, Stone MH. Reliability and validity of a pressure algometer. *J Strength Cond Res.* 2009;23(1):312-4.
45. Jönhagen S, Ackermann P, Saartok T. Forward lunge: a training study of eccentric exercises of the lower limbs. *J Strength Cond Res.* 2009;23(3):972-8.
46. Baroni BM, Geremia JM, Rodrigues R, De Azevedo Franke R, Karamanidis K, Vaz MA. Muscle architecture adaptations to knee extensor eccentric training: rectus femoris vs. vastus lateralis. *Muscle Nerve.* 2013;48(4):498-506.
47. Ho CS, Lee MC, Chang CY, Chen WC, Huang WC. Beneficial effects of a negative ion patch on eccentric exercise-induced muscle damage, inflammation, and exercise performance in badminton athletes. *Chin J Physiol.* 2020;63(1):35-42.
48. Aird L, Samuel D, Stokes M. Quadriceps muscle tone, elasticity and stiffness in older males: reliability and symmetry using the MyotonPRO. *Arch Gerontol Geriatr.* 2012;55(2):31-9.
49. Feng YN, Li YP, Liu CL, Zhang ZJ. Assessing the elastic properties of skeletal muscle and tendon using shearwave ultrasound elastography and MyotonPRO. *Sci Rep.* 2018;8(1):17064.
50. Nescolarde L, Piccoli A, Román A, Núñez A, Morales R, Tamayo J, et al. Bioelectrical impedance vector analysis in haemodialysis patients: Relation between oedema and mortality. *Physiol Meas.* 2004;25(5):1271-80.
51. Piccoli A, Rossi B, Pillon L, Bucciante G. A new method for monitoring body fluid variation by BIA: The RXc graph. *Kidney Int.* 1994;46(2):534-9.
52. Norman K, Stobäus N, Pirlich M, Bosy-Westphal A. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis--clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clin Nutr.* 2012;31(6):854-61.

53. Baroni BM, Leal Junior EC, De Marchi T, Lopes AL, Salvador M, Vaz MA. Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2010;110(4):789-96.
54. Bailey DM, Erith SJ, Griffin PJ, Dowson A, Brewer DS, Gant N, Williams C. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. *J Sports Sci* 2007;25(11): 1163–1170:
55. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences.* 2nd ed. New York: Routledge, 1988.

Artigo II

Diferentes pressões de condicionamento isquêmico não influenciam na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: ensaio randomizado placebo controlado

Eduardo Pizzo Junior ^{1*}, Julia Waszczuk Vendrame ², Allysiê Priscilla de Souza Cavina ³, Carlos Alberto Toledo Teixeira Filho ¹, Taíse Mendes Biral ¹, Franciele Marques Vanderlei ⁴

¹ Aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento da Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

² Aluno de Graduação em Fisioterapia da Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

³ Aluno do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁴ Docente da Graduação em Fisioterapia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento da Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil.

*** Autor Correspondente:**

Eduardo Pizzo Junior

Rua Mário Boscoli, 95, apt 11

CEP: 19060-540- Presidente Prudente, São Paulo, Brazil.

E-mail: eduardopizzojr@hotmail.com

Resumo

Objetivo: analisar e comparar, as repostas agudas e em até 96 horas da aplicação de diferentes pressões de oclusão de condicionamento isquêmico (PCI) sobre desfechos clínicos (percepção de dor e de recuperação), celulares (CK e lactato) e físicos (contração voluntária isométrica máxima [CVIM]). **Métodos:** ensaio clínico randomizado placebo controlado com 80 homens saudáveis de 18 a 35 anos, divididos aleatoriamente em quatro grupos: controle, placebo (10 mmHg), PCI utilizando a pressão de oclusão total (POT), PCI com 40% a mais que a POT. O protocolo de intervenção foi constituído de quatro ciclos de isquemia e reperfusão de cinco minutos cada. Todos os grupos realizaram avaliações iniciais, protocolo de dano muscular excêntrico, avaliações imediatamente após o término do dano excêntrico, 24, 48, 72 e 96 horas após o dano, sendo avaliados sequencialmente a creatina quinase (CK), lactato sanguíneo, dor pela escala visual análoga (EVA), percepção de recuperação (LIKERT) e contração voluntária isométrica máxima (CVIM) pelo dinamômetro isocinético. Foi utilizado o método estatístico descritivo e modelo misto linear generalizado com significância de $p < 0,05$. **Resultados:** não houve diferença entre grupos e interação grupos vs. momentos. Quando analisados EVA localizada e LIKERT apenas o grupo placebo se recuperou em 72h. Para EVA global todos os grupos com exceção do PCI-40% se recuperaram em 24h. Em relação ao CVIM apenas o PCI-40% se recuperou em 48h, já para lactato os grupos PCI-40% e placebo se recuperaram antes dos demais grupos sendo em 13 minutos. Para a CK o grupo PCI-POT apresentou diferença em 24h, enquanto os demais grupos apresentaram a partir de 72h, com exceção do PCI-40%, o qual foi em 48h. **Conclusão:** o PCI com diferentes pressões de oclusão não apresenta efeito protetivo quando comparado aos grupos controle e placebo.

Palavras-chave: dispositivos de oclusão vascular; força muscular; creatina quinase; recuperação da função fisiológica; atividade física.

Introdução

O exercício excêntrico (EE) é caracterizado pelo alongamento das fibras musculares durante a contração, produzindo uma maior quantidade de força a partir de um menor recrutamento de unidades motoras ⁽¹⁻⁶⁾. Sabe-se que quando utilizado em baixa intensidade e/ou baixo volume pode ter um efeito protetivo contra o dano muscular a partir de adaptações causadas pelo “efeito da carga repetida” ^(4,7,8). Essas adaptações musculares podem ser neurais, mecânicas ou celulares; minimizar marcadores sanguíneos de dano muscular e edema, melhorando a recuperação muscular e amplitude de movimento ^(4,7). Entretanto, quando utilizado por indivíduos destreinados, ou quando são realizados novos estímulos, principalmente os extenuantes, pode causar o dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) ⁽⁹⁻¹²⁾.

O DMIE é caracterizado por dor muscular de início tardio (DMIT), diminuição de desempenho com redução de força, elevação nos níveis de proteínas musculares no sangue, em especial a creatina quinase (CK), além do lactato sanguíneo também ser um indicador de dano muscular, mas não um agente primário de sua causa ⁽¹⁰⁻¹²⁾. Quando realizados exercícios de altas intensidades prolongados ou eventos metabólicos (hipóxia ou isquemia) acarretam em alta concentração de íons na célula, além da DMIT, a qual é decorrente da ruptura de fibras musculares, sendo assim são caracterizados a interrupção mecânica da célula e o distúrbio da função metabólica, mecanismos utilizados para explicar o DMIE ^(11, 13).

Considerando que o EE de alta intensidade pode causar dano muscular, o qual pode ser prejudicial, estratégias para minimizá-lo são necessárias, sendo assim, alguns métodos terapêuticos podem ser utilizados após o exercício como crioterapia, massagem, e roupas compressivas ⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Como alternativa, existe o condicionamento isquêmico (PCI) o qual é uma técnica utilizada pré-exercício que pode minimizar o

dano muscular ⁽¹⁸⁾, sendo caracterizado por ciclos de oclusão circulatória (isquemia) e reperfusão de um membro, por meio de insuflações e deflações de um manguito de pressão ^(19,20).

O PCI é um método de fácil aplicação, baixo custo e não invasivo. Além disso, pode diminuir os efeitos deletérios da isquemia-reperfusão, o que pode acelerar a recuperação após o DMIE, pois causa danos metabólicos e contráteis semelhantes aos do EE, causando aumento na concentração de cálcio intracelular e nas proteínas no sangue e marcadores de citocinas como lactato e CK ^(18,21). Como o PCI e o DMIE excêntrico tem patogênese semelhante, a aplicação da técnica antecedendo o EE pode reduzir o dano muscular e suas respostas pré-inflamatórias subsequentes, dessa forma, estimulando o sistema de defesa fisiológica do organismo e melhorando a integridade dos tecidos ^(18,22).

Existem poucos estudos que analisam a dose respostas do PCI, sendo os encontrados avaliando apenas variáveis relacionadas a desempenho, como os estudos de Cocking *et al* e Lindsay *et al*, e não tendo diferentes pressões de oclusões. Dessa forma, não existindo estudos que investiguem diferentes aplicações de PCI em marcadores de dano muscular, surgindo assim, uma lacuna na literatura sobre suas diferentes aplicações como efeito protetivo na atenuação de possíveis danos musculares.

Portanto, o objetivo do estudo foi analisar e comparar o efeito de diferentes pressões de oclusão de PCI no DMIE excêntrico. Além de analisar e comparar, as repostas agudas e em até 96 horas da aplicação de diferentes pressões de oclusão de PCI sobre desfechos clínicos (percepção de dor e de recuperação), celulares (CK e lactato) e físicos (contração voluntária isométrica máxima [CVIM]). Hipotetiza-se que o PCI apresente um efeito protetor contra o dano muscular excêntrico causando melhora nos desfechos clínicos e celulares, além de recuperação da função muscular especialmente

em pressões de oclusão mais altas, já que ocorre maior aumento do fluxo sanguíneo e altos níveis de adenosina pós-isquemia.

Métodos

Participantes e aprovação ética

Homens saudáveis, com idade entre 18 e 35 anos foram recrutados para este estudo por meio de panfletos, mídia online, convite pessoal, telefone, mensagens em aplicativos eletrônicos e banco de dados cadastrado no laboratório de pesquisa.

O tamanho da amostra foi estimado com base nos resultados da variável CK no estudo de Bailey *et al.* ⁽²⁵⁾. O software G*Power 3.1.9.7 foi utilizado considerando o desvio padrão na concentração de CK de 200 μ L, utilizando-se um teste de hipótese bicaudal com poder de teste de 80% e nível de significância de 5%. Estipulou-se um tamanho amostral de 20 participantes por grupo incluindo uma perda amostral de 20%, totalizando 80 participantes.

Os participantes que (1) não apresentassem qualquer condição de saúde que contraindicasse ou impedisse o exercício excêntrico; (2) não tivessem diabetes e hipertensão arterial diagnosticada; (3) não tivessem diagnóstico de nenhuma doença reumatológica, inflamatória, psiquiátrica, cardiovascular e/ou respiratórias; (4) não fossem etilista, consumissem drogas e/ou tabagista; (5) não apresentassem história de cirurgia no joelho ou lesão musculoesquelética de membros inferiores recente que pudesse prejudicar seu desempenho durante testes ou intervenções; (6) não tivessem um ou mais fatores de risco predisponentes para tromboembolismo ⁽²⁶⁾, foram incluídos no estudo.

Seriam excluídos aqueles que desejassem desistir do estudo, apresentassem episódio de lesão musculoesquelética durante o exercício que impedisse sua continuação, que não compreendesse adequadamente a execução do exercício

excêntrico ou que utilizassem de qualquer forma terapêutica de alívio da dor durante a realização do estudo. No entanto, no presente estudo, não houve exclusões.

Os participantes foram orientados a abster-se de atividades físicas extenuantes, não consumirem álcool, evitar a ingestão de alimentos estimulantes e o uso de qualquer forma terapêutica de melhoria de desempenho durante o período do estudo. O comitê de ética em pesquisa local aprovou todos os procedimentos experimentais de acordo com a Declaração de Helsinki (No:30765020.3.0000.5402). O estudo foi registrado prospectivamente (Clinicaltrial.gov; NCT04420819).

Design experimental

Trata-se de um estudo de 4 braços, randomizado, placebo controlado e simples cego realizado no Centro de Estudos e Atendimento em Fisioterapia e Reabilitação (CEAFIR), Presidente Prudente, SP, Brasil.

O delineamento seguiu o mesmo protocolo apresentado por Pizzo Junior *et al* ⁽²⁷⁾. Cada participante compareceu por cinco dias consecutivos ao laboratório. Inicialmente os participantes foram avaliados quanto às características antropométricas, utilizando uma balança (Tanita BC 554, Iron Man/Inner, Arlington Heights Illinois, EUA) e um estadiômetro (Sany - American Medical do Brasil, São Paulo, Brasil) e, posteriormente, foi calculado o índice de massa corporal (IMC).

Após esses procedimentos iniciais foi aplicada a escala de dor muscular (EVA) e a de sensação subjetiva de recuperação (LIKERT). Em decúbito dorsal o participante repousou por 10 minutos e realizou a avaliação da pressão de oclusão total (POT). Posteriormente foram coletados CK e lactato sanguíneo, em seguida foi realizada a avaliação da CVIM. Na sequência os participantes realizaram o protocolo de intervenção previamente randomizado com duração de 40 minutos. Posteriormente, foi

dados iniciais ao exercício excêntrico e imediatamente após o término do mesmo foram coletados novamente todos os desfechos. As visitas subsequentes foram realizadas 24, 48, 72 e 96 horas após o exercício excêntrico, em que foram coletados os mesmos desfechos citados acima sendo mantida a mesma ordem de execução das avaliações.

Além disso, as avaliações foram realizadas sempre no mesmo horário do dia para minimizar a interferência do ciclo circadiano. Todas as medidas e intervenções foram realizadas no membro dominante (o utilizado para chutar uma bola). A Figura 1 ilustra o desenho do estudo.

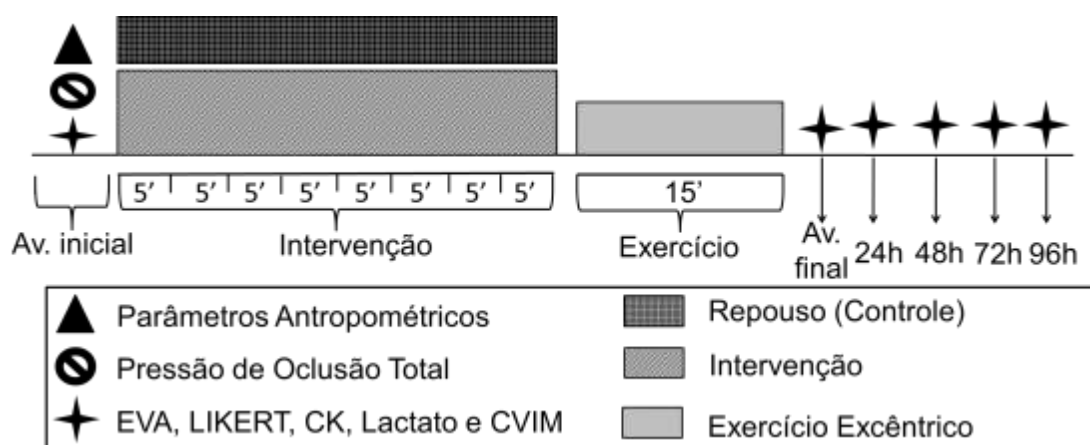


Figura 1. Delineamento do estudo (Fonte: Próprio autor).

Procedimentos de randomização e cegamentos

Os participantes foram aleatoriamente designados para i) controle, o qual ficou em repouso durante o período da intervenção; ii) placebo, que utilizou 10 mmHg; iii) PCI utilizando a pressão de oclusão total (PCI-POT); e iv) PCI com 40% a mais que a pressão de oclusão total (PCI-40%). A randomização foi realizada por meio de uma sequência numérica aleatória gerada no site www.randomization.com. A alocação dos participantes foi oculta em envelopes opacos numerados sequencialmente e lacrados, preparados antes do início do estudo por um pesquisador não envolvido no estudo. Os

avaliadores dos resultados não estavam cientes da alocação, enquanto o terapeuta e os participantes não estavam cegos para a randomização, ocorrendo devido à natureza do estudo a qual não permite que ambos sejam cegos.

Protocolo de dano muscular excêntrico

O exercício excêntrico foi realizado no dinamômetro isocinético (Biodex System 4 Pro, Nova York, Nova York, EUA) para os músculos extensores do joelho do membro dominante. O protocolo baseou-se no estudo de Machado *et al.* ⁽²⁸⁾. Inicialmente foram realizadas cinco contrações submáximas de extensão do joelho para a familiarização do participante à uma velocidade de 60°/s (1,04 rad/s) e uma amplitude de movimento de 60°. Após cinco minutos o protocolo de dano muscular foi iniciado, sendo composto por 5 séries de 15 contrações excêntricas máxima de extensão de joelho, tendo 30 segundos de descanso entre as séries, totalizando 75 repetições. A velocidade e amplitude de movimento ocorreram semelhantes à familiarização e houve incentivo verbal durante todo o protocolo. Baseado no cálculo do estudo de Paulsen *et al* é possível observar que o protocolo de EE causou um dano de magnitude moderada.

Determinação da pressão de oclusão total

O POT foi determinado usando um Doppler vascular (DF-7000V; Medpej, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Todos os participantes foram instruídos a evitar exercícios extenuantes e ingestão de álcool nas 48 horas anteriores à avaliação do POT. Os participantes foram colocados em decúbito dorsal por 10 minutos em sala climatizada e silenciosa. Logo após, o transdutor Doppler foi posicionado na artéria tibial posterior (distância média entre o maléolo medial da tíbia e o tendão de Aquiles), enquanto o manguito (manguito adaptado, velcro; 12,5 cm de largura e 84 cm de

comprimento e câmara inflável de 7 cm de largura e 52 cm de comprimento, Cardiomed, Curitiba, Paraná, Brasil) foi posicionado ao redor da região subinguinal na porção medial da coxa, cobrindo a artéria femoral ⁽³⁰⁾. O manguito foi inflado manualmente com base em um protocolo, sendo inflado a 50 mmHg (mantido por 30s) e depois desinflado completamente (segurando por 10s). Na segunda etapa, o manguito foi insuflado a 90 mmHg (a pressão anterior acrescida de 40 mmHg), mantido por 30s, seguido novamente por um período de repouso de 10s (manguito desinsuflado). Em seguida, essa sequência foi repetida (acrescentando 40 mmHg a cada nova etapa) até que o fluxo sanguíneo não fosse mais detectado. A partir do momento da oclusão total, o manguito permanecia insuflado por 30s e depois desinsuflado lentamente até que houvesse fluxo sanguíneo ⁽³¹⁾, e a POT foi definido como a pressão mínima necessária para abolir o pulso arterial.

Protocolos de PCI e placebo

Aplicou-se o protocolo de PCI na região inguinal do membro dominante com os participantes relaxados e confortavelmente posicionados em decúbito dorsal. O protocolo foi composto por quatro ciclos de isquemia total (POT determinada individualmente) de cinco minutos, seguidos imediatamente por quatro ciclos de cinco minutos de reperfusão vascular (0 mmHg), totalizando 40 minutos. Utilizou-se o mesmo manguito usado para determinar a POT.

Para a realização do protocolo de PCI, um dos grupos do estudo utilizou 40% a mais da POT, pois de acordo com o estudo de Lopes *et al.* ⁽³²⁾, a pressão em que o fluxo sanguíneo deixa de passar para a artéria tibial varia de 140 a 160 mmHg e a maioria dos estudos em que é realizado o PCI utiliza a pressão entre 200 a 220 mmHg, dessa forma,

os valores são correspondentes ⁽³²⁾. O outro grupo do estudo utilizou a POT exata, já que com esse valor ocorre à ausência de fluxo sanguíneo.

O condicionamento placebo também foi realizado na coxa dominante com o mesmo manguito, mas com quatro ciclos de cinco minutos de oclusão de placebo (10 mmHg) alternado com quatro ciclos de cinco minutos de reperfusão (0 mmHg) ^(33,34).

Vale destacar que nos três grupos de estudo, os participantes foram previamente informados que a pressão de oclusão aplicada seria suficiente para melhorar o desempenho e evitar danos musculares. Além disso, todos os procedimentos foram realizados de maneira individualizada.

Desfechos primários

Os desfechos primários foram a atividade da CK e de lactato sanguíneo e a CVIM avaliados no baseline, imediatamente, 24, 48, 72 e 96 h após o término do exercício excêntrico. Além disso, o lactato também foi coletado nos 1°, 3°, 5°, 7°, 9°, 11°, 13° e 15° minutos após o exercício excêntrico.

A atividade da CK foi obtida por meio de 32 µL de sangue capilar coletado da polpa digital. A amostra sanguínea foi drenada para um tubo capilar heparinizado e então pipetada para uma tira reativa de CK para sua análise no *Reflotron Plus System* (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha) através do método de fotometria de reflexão a 37°C (temperatura de teste) ⁽³⁵⁾.

Para avaliar a concentração de lactato sanguíneo foram coletados 25 ml de sangue com um capilar do lóbulo da orelha. Utilizou-se capilares heparinizados e tubos de polietileno tipo eppendorf (1,5 ml) contendo 50 µL de fluoreto de sódio (NaF – 1%). As análises foram realizadas em um lactímetro (YSI, Yellow Springs – 2.900) ⁽³⁶⁾ com valores de lactato expressos em mmol/L.

A CVIM foi avaliada com um dinamômetro isocinético *Biodex System Pro* (Biodex Medical System, Shirley–NY, USA) a 60° de flexão de joelho (com 0° correspondendo à máxima extensão) de acordo com o protocolo sugerido por Baroni *et al.* ⁽³⁷⁾. A CVIM foi determinada pelo maior valor de torque de três repetições máximas de cinco segundos com intervalo de dois minutos entre elas ⁽³⁷⁾.

Desfechos secundários

Os desfechos secundários foram a percepção subjetiva de dor e de recuperação avaliadas no baseline, imediatamente, 24, 48, 72 e 96 h após o término do exercício excêntrico.

Para mensurar a dor muscular, os participantes avaliaram a percepção subjetiva de dor na perna induzida pelo exercício, utilizando a escala visual analógica (EVA) ⁽³⁸⁾. A percepção de recuperação do membro inferior submetido ao protocolo de dano muscular excêntrico foi avaliada por meio de uma Escala Likert de 10 pontos, onde 1 indica “não recuperado” e 10 “totalmente recuperado” ⁽²⁸⁾. Sendo perguntado “Quão recuperado você se sente para fazer o exercício agora, de novo?”.

Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de *Kolmogorov Smirnov*, as variáveis de caracterização da amostra foram apresentadas em média, desvio-padrão, mediana e intervalo interquartil.

As comparações dos desfechos entre os quatro grupos estudados e os momentos foi realizada por meio da técnica de modelo misto linear generalizado, com função de ligação normal ou gama dependendo da distribuição dos dados e matriz de correlação AR(1), com pós teste de *Bonferroni*; fornecendo informações sobre os efeitos

de tempo, grupo e interação.. Foi considerado nível de significância de $p < 0,05$ para todos os testes e utilizado o programa estatístico SPSS (versão 24.0) (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). O indivíduo que rodou a análise estatística foi cego.

Resultados

Os participantes foram recrutados entre janeiro e dezembro de 2021. As características dos participantes são apresentadas na Tabela 1. As variáveis demográficas eram semelhantes no início do estudo. Foram avaliados para elegibilidade 80 participantes, sendo que não houve nenhuma exclusão ao longo do estudo. O fluxograma detalhado é mostrado na Figura 2.

Tabela 1. Caracterização dos participantes.

Variáveis	Controle (n = 20)	Placebo (n = 20)	PCI-POT (n = 20)	PCI-40% (n = 20)
Idade (anos)	21,65 ± 2,70 [18,00 – 29,00]	21,65 ± 2,30 [18,00 – 27,00]	22,70 ± 2,89 [19,00 – 31,00]	22,40 ± 3,49 [18,00 – 32,00]
Estatura (m)	1,74 ± 0,05 [1,61 – 1,87]	1,74 ± 0,07 [1,63 – 1,91]	1,76 ± 0,07 [1,64 – 1,86]	1,75 ± 0,08 [1,62 – 1,90]
Peso (Kg)	76,89 ± 11,88 [60,60 – 106,60]	71,81 ± 13,74 [53,70 – 102,20]	75,33 ± 11,09 [59,00 – 99,30]	76,11 ± 13,84 [54,70 – 113,90]
IMC (Kg.m ²)	25,35 ± 3,27 [20,13 – 33,16]	23,58 ± 3,89 [17,94 – 30,52]	24,42 ± 3,32 [19,44 – 34,77]	24,92 ± 4,16 [17,60 – 36,77]
POT (mmHg)	158,60 ± 18,88 [149,77 – 167,43]	157,05 ± 22,08 [146,72 – 167,38]	159,05 ± 23,45 [148,07 – 170,03]	152,00 ± 26,34 [139,67 – 164,33]

Valores apresentados como média ± DP [intervalo de confiança de 95%].

Legenda: DP: desvio padrão; POT: Pressão de Oclusão Total; PCI-40%: grupo no qual é realizada a intervenção com 40% a mais que a POT determinada na avaliação; Controle: grupo no qual é realizado repouso durante o período de intervenção; PCI-10mmHg: grupo no qual é realizado o condicionamento isquêmico (PCI) com 10mmHg; PCI-POT: grupo no qual o voluntário realiza os ciclos de isquemia e reperfusão com 100% da POT; IMC: índice de massa corporal; m: metros; Kg: quilogramas; Kg.m²:

quilogramas por metros quadrado.

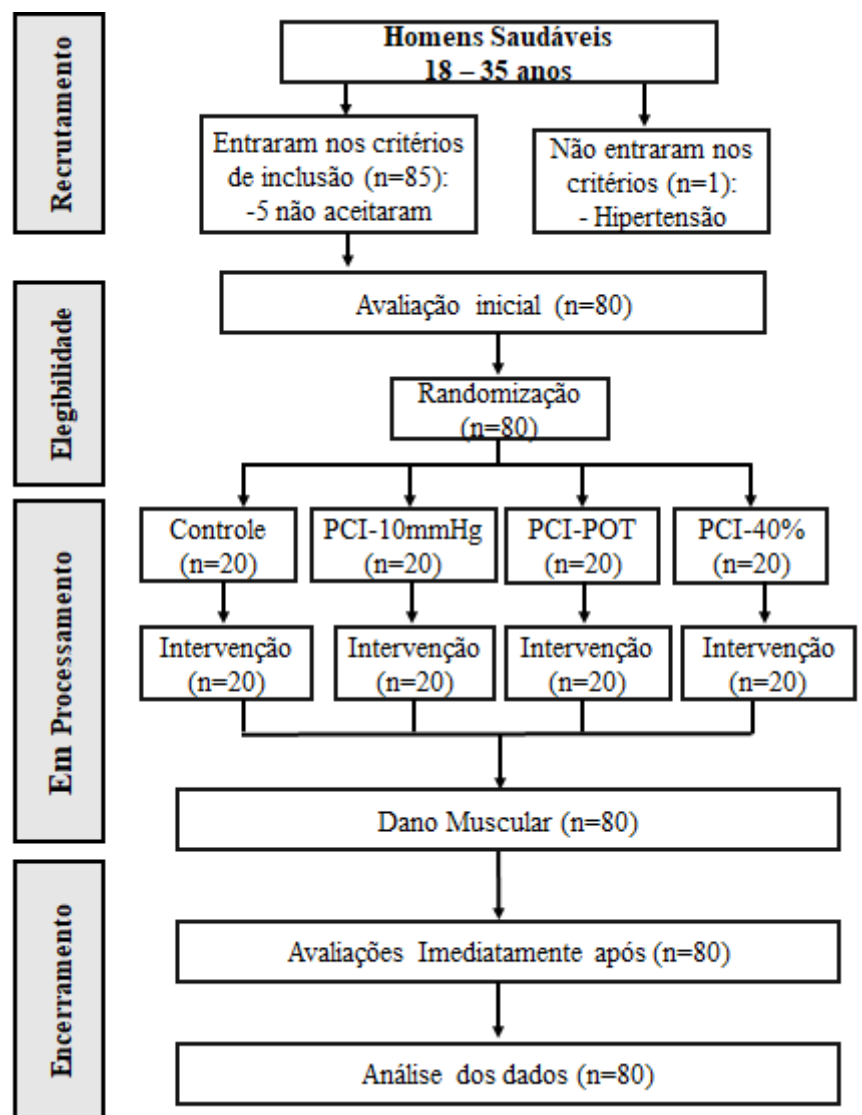


Figura 2. Fluxograma. (Fonte: próprio autor).

A Figura 3 apresenta a comparação entre os grupos e momentos para atividade de CK concentração de lactato sanguíneo. Para ambos os desfechos não foi observada diferença significativa entre grupos e interação momentos vs. grupos. Para a atividade da CK todos os grupos apresentaram um aumento significativo em relação ao baseline após 72 horas do dano excêntrico e com 96h ainda não se recuperou. Para a concentração de lactato sanguíneo todos os grupos apresentaram diferença em relação ao baseline de imediatamente após até 15 minutos.

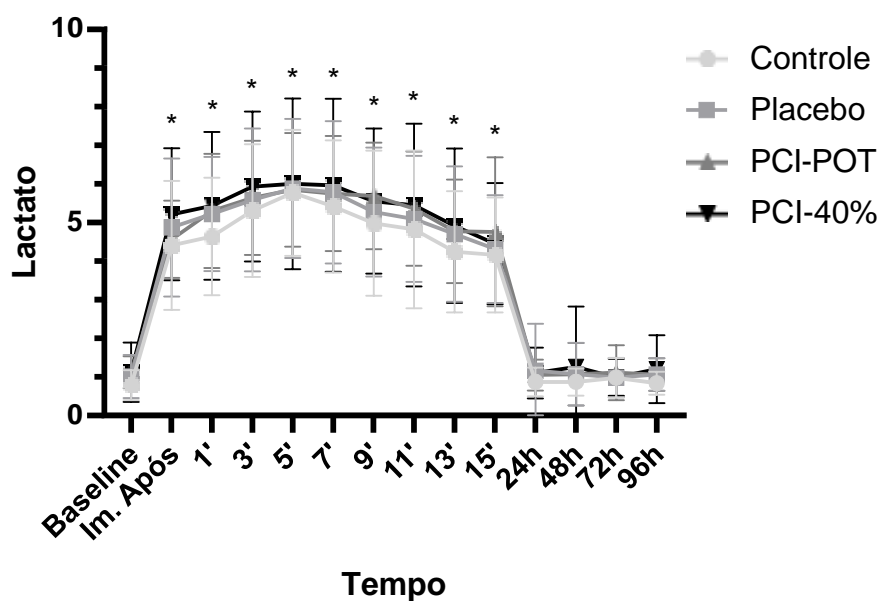
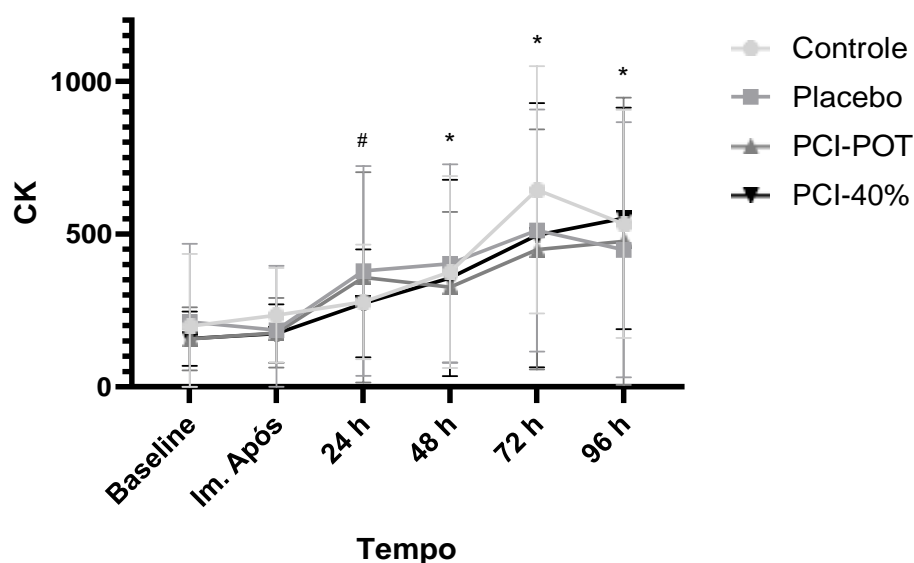


Figura 3. Diferenças intra e intergrupos de lactato e CK.

Legenda: *: diferença em relação ao baseline para todos os grupos; #: diferença em relação ao baseline para os grupos controle e placebo;

Já na Figura 4 tem-se as comparações entre os grupos e momentos de CVIM e percepção de dor e recuperação. Não houve diferenças entre os grupos e interação grupos vs. momentos ($p > 0,05$). Para força muscular é possível observar que o grupo PCI-40% se recuperou em 48 horas, enquanto os grupos placebo e PCI-POT se recuperaram em 96 horas, já o grupo controle não se recuperou em até 96 horas. Vale ressaltar que foi encontrada magnitude de dano moderada, com a maior porcentagem de diferença sendo encontrada em imediatamente após o exercício para o grupo controle. Em relação à percepção de dor e de recuperação, todos os grupos apresentaram diferença em relação ao baseline e se recuperaram em 96 horas.

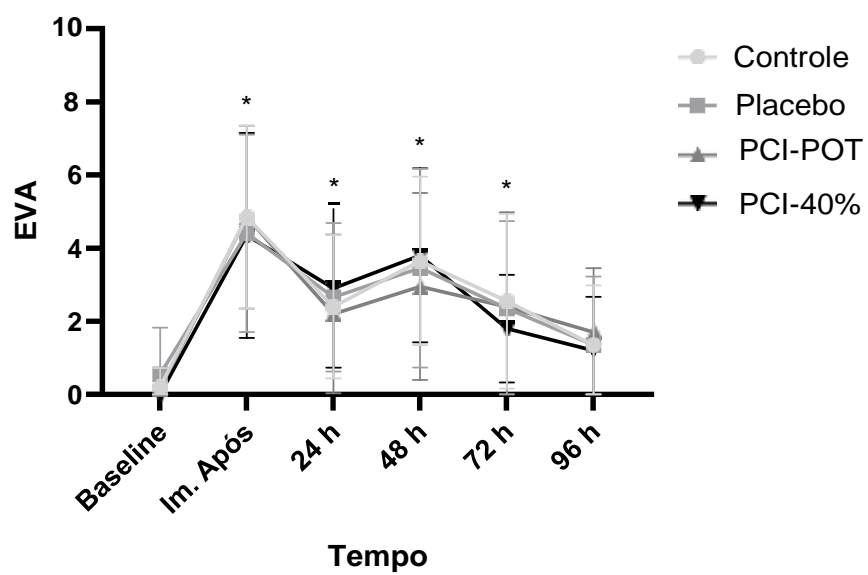
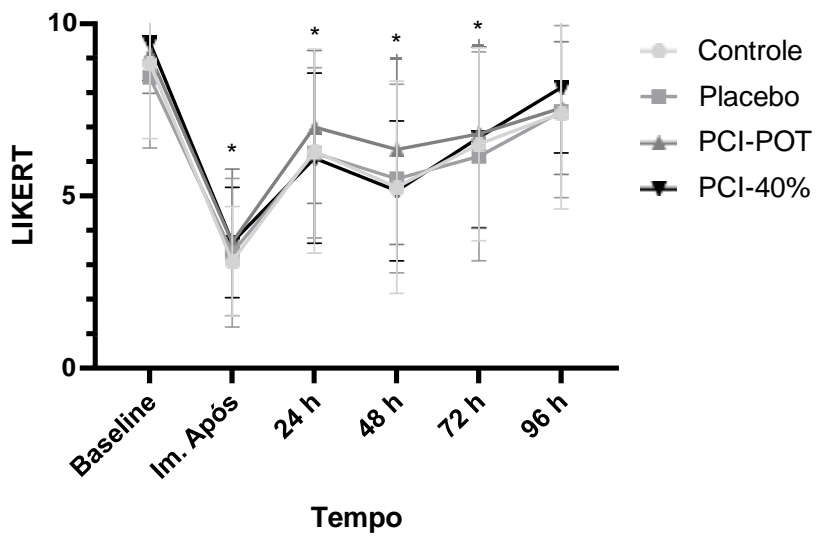
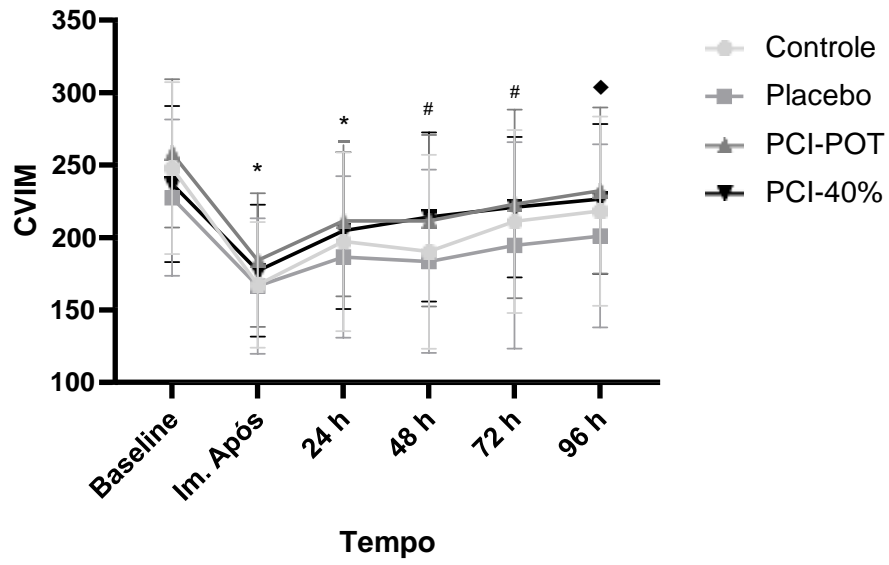


Figura 4. Diferenças intra e intergrupos de CVIM, percepção de recuperação (LIKERT) e dor localizada (EVA).

Legenda: *: diferença em relação ao baseline para todos os grupos; #: diferença em relação ao baseline para os grupos controle, placebo e PCI-POT; ◆: diferença em relação ao baseline para o grupo controle.

Discussão

O objetivo do presente estudo foi analisar e comparar o efeito de diferentes pressões de oclusão de PCI no DMIE excêntrico. Além de analisar e comparar, as repostas agudas e em até 96 horas da aplicação de diferentes pressões de oclusão de PCI sobre desfechos clínicos (percepção de dor e de recuperação) e celulares (CK e lactato) e; verificar se promove efeitos deletérios na função muscular (CVIM). Hipotetizava-se que o PCI apresente um efeito protetor contra o dano muscular excêntrico causando melhora nos desfechos clínicos e celulares, além de recuperação da função muscular especialmente em pressões de oclusão mais altas, já que ocorre maior aumento do fluxo sanguíneo e altos níveis de adenosina pós-isquemia.

Entretanto, os resultados obtidos não confirmaram as hipóteses. Os resultados mostraram que não há diferença entre os grupos estudados, e, portanto, o PCI não promove efeito protetor contra o DMIE excêntrico. No entanto, foram observadas diferença entre os momentos analisados em que o grupo placebo apresentou uma recuperação mais rápida nas percepções de recuperação e de dor, além da atividade de CK e da concentração de lactato sanguíneo e o grupo PCI-40% apresentou recuperação mais rápida para CVIM e concentração de lactato sanguíneo. O grupo PCI-POT

apresentou pico de atividade de CK em 24h após o exercício, sendo o único a apresentar diferença nesse momento, entretanto, só voltou a apresentar essa diferença em 72 e 96 horas, as mesmas diferenças que foram encontradas para o grupo controle.

O dano muscular é caracterizado por aumento nas concentrações intracelulares de cálcio ⁽³⁹⁾ e uma aumento no aparecimento de proteínas musculares no sangue e de citocinas como a concentração de CK, lactato e interleucina-6 ⁽²¹⁾. Breves períodos de PCI geram mediadores vasoativos, os quais são iniciadores que ativam uma cascata de transdução de sinais, podendo envolver a CK e outras proteínas, gerando uma ativação de fatores de transcrição, regulação positiva de genes e síntese de proteínas efetoras, as quais concedem citoproteção durante um segundo estresse isquêmico ⁽²¹⁾.

No presente estudo verificou-se que o PCI realizado com pressão de oclusão mais alta pode melhorar a função do músculo esquelético. Um possível mecanismo pelo qual o PCI poderia atenuar o declínio da força muscular é uma mudança no metabolismo do Ca²⁺. Franz *et al.* demonstraram aumentos agudos na rigidez muscular após PCI, sugestivo de uma potencialização pós-exercício, induzida pela responsividade modificada do Ca²⁺ e rigidez das propriedades contráteis do músculo ⁽²²⁾.

. Segundo Patterson *et al.* isso pode ser considerado relevante durante os períodos de competição ou temporadas, que são caracterizados por horários próximos de partidas e treinos, e, portanto, requerem intervenções que otimizem a recuperação do jogador ⁽⁴⁰⁾.

No entanto, a literatura sobre os efeitos do PCI na força muscular ainda é contraditória. O estudo de Cerqueira *et al.* ⁽⁴¹⁾ não demonstrou diferenças. Já o estudo de Patterson *et al.* ⁽⁴⁰⁾ também apresentou que o grupo placebo recupera os valores de CVIM mais rápido que o grupo PCI agudo, aplicado apenas uma vez, e que o grupo PCI repetido, o qual é aplicado três vezes na semana.

Para a percepção de recuperação e o lactato sanguíneo também não foi observado diferença entre os grupos, assim como no estudo de Marocolo *et al.* ⁽⁴²⁾ que não verificaram diferença estatística entre os grupos PCI com 220 mmHg, placebo e controle, essa ausência de diferença entre grupos pode decorrer do fato de ser uma sensação subjetiva, estando ligada ao aspecto psicológico dos participantes, não sendo mensurada por uma ferramenta direta, a qual poderia apresentar resultados mais expressivos. Já o estudo de Bailey *et al.* ⁽⁴³⁾ apresentou que o grupo PCI com 220 mmHg obteve diferença em relação ao controle (20 mmHg) quando avaliado os níveis de lactato sanguíneo. Essas diferenças encontradas entre os estudos também podem ser explicadas pelo tipo de exercício proposto, já que a diminuição de lactato sanguíneo é mais encontrada em exercícios aeróbicos.

A dor muscular aumentou após o dano muscular excêntrico, mas não houve diferenças significativas entre os grupos estudados. Tal fato segue o padrão característico da DMIE em que a percepção do pico de dor ocorre entre 24 e 48 h após o exercício como resultado da síntese de prostaglandinas, que sensibilizam as terminações aferentes localizadas dentro das fibras musculares ⁽⁴⁴⁾. Reduções na dor pós-operatória de cirurgia ortopédica foram observadas após o uso do PCI ⁽⁴⁵⁾, no entanto, essa diminuição não foi observada no presente estudo.

Em relação a atividade de CK, Cerqueira *et al.* ⁽⁴¹⁾ encontraram que essa variável foi apenas significativamente maior no grupo placebo após 72 horas do exercício, isso ocorre pois a presença do pico de CK ocorre após 72h do exercício realizado. O presente estudo corrobora com esse achado, entretanto, também foi observada significância nos demais grupos e em outros momentos. Esses achados podem sugerir que o PCI não minimiza a elevação sérica de CK, entretanto, isso pode estar relacionado a variabilidade individual ⁽⁴⁶⁾, sendo assim, não tendo relações com

atividades funcionais ⁽⁴⁷⁾. Enquanto isso, Patterson *et al.* ⁽³⁸⁾ apoia os achados encontrados obtendo efeitos para o tempo, mas sem efeito para os grupos nem interação grupo *vs.* momento.

Contrariando nossas hipóteses iniciais, o presente estudo obteve como resultado que não há diferença na aplicação de diferentes pressões de PCI quando comparado ao grupo controle ou placebo. Sendo encontradas diferenças apenas entre o baseline e os momentos após a realização do protocolo de dano muscular, não havendo diferença entre grupos, nem interação grupo*momento. Vale ressaltar que o protocolo de EE causou uma magnitude moderada de dano muscular quando analisada a porcentagem de redução de força muscular. Um fator que pode ter influenciado a ausência de efeito protetivo é a realização da POT e do protocolo de PCI no mesmo dia.

A partir desses achados tem-se que as técnicas de PCI com diferentes pressões não apresentam efeito protetivo, entretanto, não apresentam efeitos deletérios. Sendo assim o PCI pode ser uma alternativa como técnica recuperativa, já que é de baixo custo, fácil aplicação e não invasivo, especialmente quando o objetivo for recuperação dos níveis de força muscular.

Os resultados encontrados demonstram a complexidade das manifestações de DMIE excêntrico pode apresentar, sendo multifatorial e apresentando uma complexidade elevada em analisar seus indicadores. Dessa forma, deve-se continuar a realização de pesquisas para investigar as respostas fisiológicas do PCI, com diferentes protocolos de execução e diferentes pressões das utilizadas. Sendo assim, será possível a exploração de diferentes desfechos para o entendimento da técnica, tornando possível a utilização da mesma na prática clínica para acelerar o processo de recuperação, como um novo elemento para a literatura de recuperação pré-exercício.

O estudo tem como vantagem o número amostral de 80 homens jovens, saudáveis, tornando-se um dos estudos com maior população quando comparado a outros que avaliam PCI. Além de que, trata-se de um estudo com a utilização do PCI como técnica recuperativa pré-exercício pouco utilizada na literatura até o momento, visto que é uma técnica muito utilizada no âmbito cardiovascular e para performance na área musculoesquelética. Outro ponto positivo do estudo são as diferentes pressões de oclusão utilizadas, podendo ser observada a dose-resposta da intervenção.

Como limitações tem-se a não realização da percepção de desconforto causada pelo manguito de pressão durante a aplicação da intervenção, além da realização do protocolo de intervenção apenas no membro dominante, não realizando assim uma avaliação intrapessoal, apenas interpessoal. Por fim, como limitação mais relevante tem-se a realização da avaliação da POT e da aplicação da intervenção no mesmo dia, sendo assim podendo gerar um efeito cumulativo da I-R, podendo interferir nos resultados encontrados.

Conclusão

Conclui-se que o PCI com diferentes pressões de oclusão não apresenta efeito protetivo quando comparado aos grupos controle e placebo.

Conflitos de interesse e financiamento

O estudo não apresenta conflitos de interesse. Agradecimento ao financiamento fornecido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo N° 2020/04222-1.

Referências

1. American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(3):687-708.
2. Franchi MV, Atherton PJ, Reeves ND, Flück M, Williams J, Mitchell WK, Selby A, Beltran Valls RM, Narici MV. Architectural, functional and molecular responses to concentric and eccentric loading in human skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf).* 2014;210(3):642-54.
3. Suchomel TJ, Nimphius S, Bellon CR, Stone MH. The importance of muscular strength: training considerations. *Sports Med.* 2018;48(4):765-85.
4. Hody S, Croisier JL, Bury T, Rogister B, Leprince P. Eccentric muscle contractions: risks and benefits. *Front Physiol.* 2019;10:536.
5. Douglas J, Pearson S, Ross A, McGuigan M. Chronic adaptations to eccentric training: a systematic review. *Sports Med.* 2017;47(5):917-41.
6. Douglas J, Pearson S, Ross A, McGuigan M. Eccentric exercise: physiological characteristics and acute responses. *Sports Med.* 2017;47(4):663-75.
7. McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2003;13(2):88-97.
8. Hyldahl RD, Chen TC, Nosaka K. Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. *Exerc Sport Sci Rev.* 2017;45(1):24-33.
9. Micheli ML, Pagani L, Marella M, Gulisano M, Piccoli A, Angelini F, et al. Bioimpedance and impedance vector patterns as predictors of league level in male soccer players. *Int J Sports Physiol Perform.* 2014;9(3):532-9.

10. Behrens M, Mau-Moeller A, Bruhn S. Effect of exercise-induced muscle damage on neuromuscular function of the quadriceps muscle. *Int J Sports Med.* 2012;33(8):600-6.
11. Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.* 1989;7(4):207-34.
12. Baumert P, Lake MJ, Stewart CE, Drust B, Erskine RM. Genetic variation and exercise induced muscle damage implications for athletic performance, injury and ageing. *Eur J Appl Physiol.* 2016;116(9):1595-625.
13. Armstrong RB. Muscle damage and endurance events. *Sports Med.* 1986;3(5):370-81.
14. Bishop PA, Jones E, Woods AK. Recovery from training: a brief review. *J Strength Cond. Res.* 2008; 22(3):1015-24.
15. Machado AF, Micheletti JK, Lopes JSS, Vanderlei FM, Leal-Junior ECP, Netto Junior J, Pastre CM. Phototherapy on management of creatine kinase activity in general versus localized exercise: a systematic review and meta-analysis. *Clin J Sport Med.* 2020; 30(3):267-274.
16. Machado AF, Ferreira PH, Micheletti JK, Almeida AC, Lemes IR, Vanderlei FM, Netto Junior J, Pastre CM. Can water temperature and immersion time influence the effect of cold water immersion on muscle soreness? A systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2016;46(4):503-14.
17. Howatson G, Van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 2008;38(6):483-503.
18. Franz A, Behringer M, Nosaka K, Buhren BA, Schrupf H, Mayer C, et al. Mechanisms underpinning protection against eccentric exercise-induced muscle damage by ischemic preconditioning. *Med Hypotheses.* 2017;98:21-7.

19. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
20. Slyszt JT, Burr JF. Impact of 8 weeks of repeated ischemic preconditioning on running performance. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119(6):1431-7.
21. Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Therapeutic interventions against reperfusion injury in skeletal muscle. *J Surg Res*. 2011;171(1):175-82.
22. Franz A, Behringer M, Harmsen JF, Mayer C, Krauspe R, Zilkens C, et al. Ischemic preconditioning blunts muscle damage responses induced by eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2018;50(1):109-15.
23. Cocking S, Wilson MG, Nichols D, Cable NT, Green DJ, Thijssen DHJ, et al. Is there an optimal ischaemic preconditioning dose to improve cycling performance? *Int J Sports Physiol Perform*. 2018;13(3):274-282.
24. Lindsay A, Petersen C, Ferguson H, Blackwell G, Rickerby S. Lack of a dose response from 7 days of ischemic preconditioning in moderately trained cyclists. *Sports Med Int Open*. 2018;2(4):E91-7.
25. Bailey DM, Erith SJ, Griffin PJ, Dowson A, Brewer DS, Gant N, Williams C. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. *J Sports Sci* 2007;25(11): 1163–1170.
26. Dankel SJ, Buckner SL, Counts BR, Jessee MB, Mouser JG, Mattocks KT, et al. The acute muscular response to two distinct blood flow restriction protocols. *Physiol. Int*. 2017;104(1):64-76.
27. Pizzo Junior E, Cavina APS, Lemos LK, Biral TM, Pastre CM, Vanderlei FM. Effects of different ischemic preconditioning occlusion pressures on muscle damage induced by eccentric exercise: a study protocol for a randomized controlled placebo clinical trial. *Trials*. 2021;22(1):326.

28. Machado AF, Almeida AC, Micheletti JK, Vanderlei FM, Tribst MF, Netto Junior J, Pastre CM. Dosages of cold-water immersion post exercise on functional and clinical responses: a randomized controlled trial. *Scand J Med Sci Sports*. 2017;27(11):1356-63.
29. Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, Peake JM. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev*. 2012;18:42-97.
30. Spitz RW, Bell ZW, Wong V, Viana RB, Chatakondi RN, Abe T, Loenneke J. The position of the cuff bladder has a large impact on the pressure needed for blood flow restriction. *Physiol Meas*. 2020;41(1):01NT01.
31. Morais ATB, Cerqueira MS, Moreira Sales R, Rocha T, Galvão de Moura Filho A. Upper limbs total occlusion pressure assessment: Doppler ultrasound reproducibility and determination of predictive variables. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2017;37(4):437-441.
32. Lopes TR, Sabino-Carvalho JL, Ferreira THN, Succi JE, Silva AC, Silva BM. Effect of ischemic preconditioning on the recovery of cardiac autonomic control from repeated sprint exercise. *Front Physiol*. 2018;9:1465.
33. Barbosa TC, Machado AC, Braz ID, Fernandez IA, Vianna LC, Nobrega AC, et al. Remote ischemic preconditioning delays fatigue development during handgrip exercise. *Scand. J Med Sci. Sports*. 2015;25(3):356-64.
34. Seeger JPH, Timmers S, Ploegmakers DJM, Cable NT, Hopman MTE, Thijssen DHJ. Is delayed ischemic preconditioning as effective on running performance during a 5km time trial as acute IPC? *J Sci Med Sport*. 2016;20(2):208-12.

35. Horder M, Hafkenschied JCM, Carstensen CA. Creatine kinase determination: a European of creatine kinase determination in serum, plasma and whole blood with the Reflotron System. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1991;29(10):691-6.
36. Bastos FN, Vanderlei LC, Nakamura FY, Bertollo M, Godoy MF, Hoshi RA, et al. Effects of cold water immersion and active recovery on postexercise heart rate variability. *Int J Sports Med.* 2012;33(11):873-9.
37. Baroni BM, Leal Junior EC, De Marchi T, Lopes AL, Salvador M, Vaz MA. Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2010;110(4):789-96.
38. Ferreira-Valente MA, Pais-Ribeiro JL, Jensen MP. Validity of four pain intensity rating scales. *Pain.* 2011;152(10):2399-404.
39. Warren GL, Lowe DA, Hayes DA et al. Redistribution of cell membrane probes following contraction-induced injury of mouse soleus muscle. *Cell Tissue Res* 1995; 282(2):311–320.
40. Patterson SD, Swan R, Page W, Marocolo M, Jeffries O, Waldron M. The effect of acute and repeated ischemic preconditioning on recovery following exercise-induced muscle damage. *J Sci Med Sport.* 2021;24(7):709-714.
41. Cerqueira MS, Kovacs D, de França IM, Pereira R, da Nobrega Neto SB, Nonato RDA, et al. Effects of Individualized Ischemic Preconditioning on Protection Against Eccentric Exercise-Induced Muscle Damage: A Randomized Controlled Trial. *Sports Health.* 2021;13(6):554-564.
42. Marocolo IC, da Mota GR, Londe AM, Patterson SD, Barbosa Neto O, Marocolo M. Acute Ischemic preconditioning does not influence high-intensity intermitente exercise performance. *PeerJ.* 2017;5:e4118.

43. Bailey TG, Jones H, Gregson W, Atkinson G, Cable NT, Thijssen DH. Effect of ischemic preconditioning on lactate accumulation and running performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;44(11):2084-9.
44. Armstrong RB. Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1984; 16(6):529–538.
45. Memtsoudis SG, Stundner O, Yoo D et al. Does limb preconditioning reduce pain after total knee arthroplasty? A randomized, double-blind study. *Clin Orthop Relat Res* 2014; 472(5):1467–1474.
46. Nosaka K, Clarkson P. Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. *Int J Sports Med.* 1996;17:120-127.
47. Russell M, Sparkes W, Northeast J, Cook CJ, Bracken RM, Kilduff LP. Relationships between match activities and peak power output and creatine kinase responses to professional reserve team soccer match-play. *Hum Mov Sci.* 2016;45:96-101.

Considerações Finais

A temática sobre PCI quando utilizada para minimizar os danos causados pelo EE demonstram que o mesmo não apresenta diferenças quando comparado a um grupo controle e a um grupo placebo. Entretanto, pode-se ressaltar que o PCI com 40% a mais que a POT apresenta uma recuperação mais rápida de força muscular, dessa forma, ele pode ser levado em considerações para pessoas que visam ter um acelerado retorno nos valores basais de força muscular.

Vale ressaltar que existem poucos estudos que abordam sobre efeitos de dose-resposta do PCI, dessa forma, podemos trazer como uma sugestão para futuros estudos a abordagem de diferentes aplicações de PCI, tanto relacionadas a pressão, quanto quantidade de aplicações e ciclos de isquemia e reperfusão.