

RHAÍ ANDRÉ ARRIEL E OLIVEIRA

**EFEITO DO PRÉ- E PÓS-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DESEMPENHO
E RECUPERAÇÃO DE CICLISTAS.**

**UBERABA
2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

Rhaí André Arriel e Oliveira

**EFEITO DO PRÉ- E PÓS-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DESEMPENHO
E RECUPERAÇÃO DE CICLISTAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, área de concentração “Educação Física, Esporte e Saúde” (Linha de Pesquisa: Desempenho Humano e Esporte) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para do título de mestre.

Orientador: Dr. Moacir Marocolo Júnior

UBERABA
2018

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

O51e Oliveira, Rhaí André Arriel e
Efeito do pré- e pós-condicionamento isquêmico no desempenho e recuperação de ciclistas / Rhaí André Arriel e Oliveira. -- 2018.
79 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Educação Física) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2018
Orientador: Prof. Dr. Moacir Marocolo Júnior

1. Isquemia. 2. Exercício. 3. Ciclismo. 4. Hiperemia. 5. Frequência cardíaca. I. Marocolo Júnior, Moacir. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616-005.4

Rhaí André Arriel e Oliveira

**EFEITO DO PRÉ- E PÓS-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO NO DESEMPENHO
E RECUPERAÇÃO DE CICLISTAS.**

Dissertação em forma de artigos apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, área de concentração “Educação Física, Esporte e Saúde” (Linha de Pesquisa: Desempenho Humano e Esporte) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para do título de mestre.

Aprovado em 19 de fevereiro de 2018

Banca Examinadora:

Dr. Moacir Marocolo Júnior – Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dr. Rodrigo Hohl
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Octávio Barbosa Neto
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dedico esse trabalho a minha querida mãe, irmão e minha namorada, pelo apoio, carinho e atenção durante esses dois anos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a esse ser maior que nos ensina a conduzir a vida com fé e esperança.

Agradeço a minha mãe Eliane e meu irmão Matheus, por sempre estarem a meu lado ajudando e aconselhando em todos os momentos. A minha namorada Jéssica pela paciência e companheirismo e principalmente pelo grande incentivo a cursar o mestrado. E a toda minha família. A esses a minha eterna gratidão por fazerem com amor e respeito.

Aos companheiros de turma incluindo os professores, novos amigos que ajudaram compartilhando com seus conhecimentos, sabedorias e também as “resenhas”. Aos funcionários do PPGEF. Pessoas muito atenciosas. Em especial ao professor e orientador Moacir Marocolo, que mesmo não me conhecendo, me deu a oportunidade de aprimorar meus conhecimentos, ajudando muito durante esses dois anos. Acreditem, atrás do cara “louco” existe uma pessoa humilde e de grande sabedoria. Ao professor Gustavo Mota pela amizade e auxílio. Aos meus velhos amigos do NEPEF – UFLA, onde tudo começou. Agradeço também ao meu colega e amigo Hiago pela ajuda na elaboração e execução do projeto. A academia performance LTDA, a todos os ciclistas, amigos e meu primo Thiago por participarem e ajudarem na produção deste estudo. Também agradeço a CAPES pela bolsa de estudos. Enfim, este trabalho é o resultado do esforço de cada um de vocês. O meu muito obrigado.

“Ninguém é tão sábio que não possa aprender, e nem tão “burro” que não possa ensinar”.

RESUMO

Apesar das evidências positivas do uso do pré-condicionamento isquêmico (do termo em inglês *ischemic preconditioning* (IPC) na melhora do desempenho do exercício físico, ainda muitos estudos apresentam resultados inconsistentes, e um dos motivos pode ser o desconhecimento de um protocolo adequado para o potencial efeito da manobra. O método de isquemia/reperfusão (IR) eleva o fluxo sanguíneo após a aplicação, inibi a geração de espécies reativas de oxigênio e reduz as concentrações de creatina quinase e lactato desidrogenase. Assim, foram realizados dois estudos: o primeiro com o objetivo de avaliar diferentes tempos de IR do IPC sob o desempenho de ciclistas treinados; e o segundo estudo objetivou avaliar o efeito da isquemia pós-exercício (IPE) no processo de recuperação do desempenho em ciclistas treinados. No primeiro estudo, 35 ciclistas ($27,7 \pm 4,2$ anos) compareceram três vezes ao laboratório em dias diferentes com intervalos de 72 horas e 48 horas respectivamente, e separados dentro de cinco grupos (Dois IPC (2 ciclos x 5-min oclusão/ 5-min reperfusão ou 5 ciclos x 2-min oclusão/ 2-min reperfusão), dois placebos (PLA) (2 ciclos x 5-min oclusão simulada/ 5-min reperfusão e 5 ciclos x 2-min oclusão simulada/ 2-min reperfusão) e um grupo controle). A manobra de IPC foi aplicada na última visita antes do teste incremental no cicloergômetro. Já no segundo estudo, 28 ciclistas treinados ($27,1 \pm 1,4$ anos) participaram do experimento sob quatro dias diferentes e separados dentro de quatro grupos (dois grupos IPE (2 ciclos x 5-min oclusão/ 5-min reperfusão ou 5 ciclos x 2-min oclusão/ 2-min reperfusão) e dois placebos (PLA) (2 ciclos x 5-min oclusão simulada/ 5-min reperfusão e 5 ciclos x 2-min oclusão simulada/ 2-min reperfusão). Neste, a aplicação da IR aconteceu logo após o teste incremental. No primeiro estudo apenas o grupo IPC 2 ciclos x 5-min oclusão/ 5-min reperfusão melhorou o desempenho no teste incremental e apresentou alterações no comportamento da frequência cardíaca. Já no segundo estudo a aplicação da IPE foi efetiva na recuperação do desempenho 24 horas após um teste de ciclismo até a exaustão. Concluímos que tanto o IPC quanto a IPE promoverem efeitos sob o desempenho no teste incremental e recuperação do desempenho respectivamente. Porém, um limiar de tempo de IR do IPC deve ser considerado.

Palavras-chave: Exercício físico. Ciclismo. Isquemia. Hiperemia. Frequência cardíaca.

ABSTRACT

Despite the positive evidences of the ischemic preconditioning (IPC) in improving the exercise performance, many studies still showed inconsistent results, due to the lack of knowledge about an adequate protocol for the potential maneuver effect. The ischemia/reperfusion (IR) method increases the blood flow after application, it inhibits the reactive oxygen species (ROS) generation and decrease creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase concentrations, which may assist in the post-exercise performance recovery process. Thus, two studies were carried out: the first aimed to evaluate different IR of IPC time on trained cyclists performance; The second study aimed to evaluate the acute effect of ischemia post-exercise (IPE) on performance recovery process in trained cyclists. The first study was carried out with thirty-five cyclists (27.7 ± 4.2 years old). They visited the laboratory three times on different days with intervals of 72 hours and 48 hours respectively, and they were separated into five similar groups (two IPC (2 cycles x 5-min occlusion/5-min reperfusion and 5 cycles x 2-min occlusion/2-min reperfusion), two SHAM (2 cycles x simulated occlusion/5-min reperfusion and 5 cycles x 2-min simulated occlusion/2-min reperfusion) and one control group). The IPC maneuver was applied before the incremental test using the cycle ergometer. In the second study, twenty-eight trained cyclists (27.1 ± 1.4 years old) participated in the experiment under four different days and they were separated into four similar groups (two IPE groups (2 cycles x 5-min occlusion/5-min reperfusion and 5 cycles x 2-min occlusion/ 2-min reperfusion), two SHAM (2 cycles x simulated occlusion/ 5-min reperfusion and 5 cycles x 2-min simulated occlusion/ 2-min reperfusion). In this study the IR application was carried out after the incremental test. In the first study only the IPC group that performed 2 cycles x 5-min occlusion/ 5-min reperfusion improved its incremental test performance and presented changes in heart rate behavior. In the second study, the IPE application was efficient in maintaining performance 24 hours after a cycling exercise until exhaustion. Thus, we conclude that both IPC and IPE were able to promote effects on incremental test performance and performance recovery respectively. However, an IPC time threshold should be considered.

Keywords: Physical exercise. Cycling. Ischemia. Hyperemia. Heart rate.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

1- Desenho experimental.....	18
2- Tempo do teste incremental pré e pós intervenção e controle (A), e a mudança de tempo (B).....	21
3- Comportamento da frequência cardíaca durante (A) e imediatamente após (B) o término do teste incremental.....	22

Artigo 2

1- Desenho experimental	35
2- Creatina quinase no momento basal e 24-h pós manobra	38
3- Tempo para exaustão do teste incremental no momento basal e 24-h pós manobra.....	41

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

1- Características gerais dos participantes.....	17
2- Resultados do teste incremental.....	23

Artigo 2

1- Características gerais dos participantes.....	34
2- Resultados do teste incremental.....	40
3- Expectativa do desempenho 24-h pós manobra.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%:	Percentual
±:	Mais menos
≥:	Maior ou igual a
<:	Menor do que
>:	Maior do que
p:	Probabilidade
°C:	Grau Celsius
mmHg:	Milímetro de mercúrio
cm:	centímetros
min:	minutos
s:	segundos
Kg:	Kilograma
Bpm:	Batimentos por minuto
IPC:	Pré-condicionamento isquêmico
IPE:	Isquemia pós-exercício
PLA:	Placebo
CON:	Controle
n:	Tamanho da amostra
W:	Watts
W.Kg-1	Watts por kilograma
PSE:	Percepção subjetiva de esforço
PSR:	Percepção subjetiva de recuperação
CK:	Creatina quinase
DP:	Desvio padrão
FC:	Frequência Cardíaca
TE:	Tamanho do efeito
ANOVA one way:	Análise de variância para um fator
<i>et al:</i>	e colaboradores

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 ARTIGOS PRODUZIDOS	14
2.1 ARTIGO 1	14
2.2 ARTIGO 2	31
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	54
APÊNDICE B – ARTIGO FORMATADO AOS MOLDES DA REVISTA	58
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	78

1 INTRODUÇÃO

O ciclismo de alto rendimento envolve muitas sessões de treinamento de alto volume e intensidade, e com várias competições durante a temporada (IMPELLIZZERI; MARCORA, 2007; STAPELFELDT et al., 2004). Além de intenso, o ciclismo consiste de provas longas (115 a 240 minutos) que podem ocorrer em dois dias consecutivos ou até mesmo em oito dias como no caso das ultramaratonas (WIRNITZER; KORNEXL, 2008; YANTURALI et al., 2015). Durante essas competições, o estresse sob o corpo pode ser alto acumulando fadiga e afetando a velocidade de recuperação e desempenho esportivo após horas/dias (HALSON et al., 2002; HALSON; JEUKENDRUP, 2004).

Desta maneira, muitos pesquisadores têm explorado estratégias que possam contribuir para a melhora do desempenho do atleta no dia da competição, tais como: aquecimento (FRADKIN; ZAZRYN; SMOLIGA, 2010), potencialização pós ativação (CHORLEY; LAMB, 2017) e laserterapia (LANFERDINI et al., 2017); e ou entre elas no processo de recuperação tais como: recuperação ativa, massagem e crioterapia (BARNETT, 2006). Recentemente, algumas evidências suportam que a aplicação do pré-condicionamento isquêmico (do termo em inglês *ischemic preconditioning* (IPC) melhora o desempenho esportivo, principalmente os mais dependes do componente aeróbio (INCOGNITO; BURR; MILLAR, 2016; SALVADOR et al., 2016). Além disso, observou-se um poder efetivo na diminuição da dor perceptiva e de danos musculares após exercícios extenuantes (FRANZ et al., 2017).

O IPC é um método não invasivo caracterizado por repetidos períodos de oclusão vascular seguidos de liberação desse fluxo. Originalmente o IPC foi descrito para proteger as células cardíacas após um período de isquemia prolongada (MURRY; JENNINGS; REIMER, 1986). Mais tarde, observou-se benefícios na redução de lesões na musculatura esquelética (PANG et al., 1995) e preservação da função endotelial (CARROLL et al., 1997). Encorajados com os resultados em estudos clínicos, pesquisadores empregaram o IPC no meio esportivo, evidenciando melhoras do desempenho em exercícios de força (LIBONATI et al., 1998), corrida (BAILEY et al., 2012), ciclismo (CRISAFULLI et al., 2011) e natação (JEAN-ST-MICHEL et al., 2011). Os mecanismos responsáveis pelos efeitos dos ciclos de isquemia/reperfusão sob o desempenho esportivo ainda não são claros, mas especula-se em um efeito

sistêmico (COCKING et al., 2017), o que reforça as evidências de estímulo neural e/ou humoral. No entanto, apesar dos efeitos positivos, o IPC ainda apresentou resultados inconsistentes (MAROCOLO et al., 2016).

Segundo Marocolo et al. (2016), muitos estudos ainda não mostraram efeitos sob o desempenho esportivo, e os que mostraram, não apresentaram nenhuma alteração fisiológica. Além disso, Incognito; Burr; Millar, (2016) comentam que ainda não existe um protocolo definido e adequado ao modelo esportivo. Tradicionalmente os protocolos de IPC são 3 ciclos de 5 minutos de oclusão (3 x 5) e 4 ciclos de 5 minutos de oclusão (4 x 5). Ambos os protocolos mostraram benefícios (CRISAFULLI et al., 2011; BAILEY et al., 2012) e nenhum benefício (TOCCO et al., 2015; SEEGER et al., 2017) no desempenho. Estudos prévios mostraram que números excessivos de ciclos parece não levar a benefícios adicionais (COCKING et al., 2017; JOHNSEN et al., 2016), já protocolos curtos promovem estímulos suficientes (BEAVEN et al., 2012). Esses resultados indicam que o efeito do IPC pode ser dependente de um tempo específico de isquemia/reperfusão para um determinado exercício ou esporte, mas ainda não é claro se é o tempo da isquemia ou o número de ciclos a chave para o potencial efeito.

A aplicação de isquemia/reperfusão causa um aumento do fluxo sanguíneo após a manobra (LIBONATI et al., 2001) associado a um elevado nível de óxido nítrico (RASSAF et al., 2014). Recentemente estudos tem evidenciado que a manutenção do fluxo sanguíneo pós-exercício pode ser responsável pelo efeito de uma recuperação mais rápida comparada a estratégia passiva ou que reduzem o fluxo sanguíneo (BORNE; HAUSSWIRTH; BIEUZEN, 2017). Esse elevado fluxo sanguíneo aumenta a entrega de glicose para o músculo e sua absorção (HENRIKSSON; KNOL, 2005), promovendo a síntese de glicogênio. Portanto, uma aplicação da manobra de isquemia/reperfusão após o exercício pode ser uma estratégia interessante para auxiliar no processo de recuperação.

Diferentemente do IPC, o efeito da restrição do fluxo sanguíneo pós-exercício (IPE) parece ser pouco investigado sob o âmbito esportivo. Atualmente estudos clínicos têm reportado que aplicação da manobra de isquemia/reperfusão inibiu a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (JIN et al., 2012), reduziu as concentrações de creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (ZHANG; MA; LIU, 2012). Marcadores que estão associados ao aumento de fadiga, dor muscular e queda

de desempenho em sessões de treinamento e competições subsequentes (BURT; TWIST, 2011; CÓRDOVA et al., 2015).

Diante do exposto, nota-se que o tempo adequado de isquemia/reperfusão para produzir um efeito de pré-condicionamento ainda não é clara, e que a aplicação da IPE pode ser uma estratégia efetiva para auxiliar no processo de recuperação do desempenho após exercícios extenuantes. Porém, os estudos ainda não são consistentes. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito de diferentes tempos de isquemia/reperfusão do IPC sob o desempenho e a efetividade da manobra de IPE sob a recuperação de ciclistas treinados.

2 ARTIGOS PRODUZIDOS

2.1 ARTIGO 1

O efeito do tempo e número de ciclos do pré-condicionamento isquêmico sob o desempenho e variáveis fisiológicas de ciclistas.

RESUMO

O pré-condicionamento isquêmico (do termo em inglês *ischemic preconditioning* (IPC)) é caracterizado por breves momentos de oclusão vascular seguido por reperfusão. A aplicação da manobra tem mostrado aumento do desempenho em esportes e exercícios físicos, mas o tempo de isquemia/reperfusão ainda é desconhecido, podendo ser uma das causas de resultados inconsistentes. Assim, o objetivo deste estudo foi testar um protocolo curto e analisar se é o número ou o tempo desses ciclos de IPC que induzem a melhora do desempenho de ciclistas. Trinta e cinco ($27,7 \pm 4,2$ anos) ciclistas treinados participaram deste estudo randomizado e simples cego (apenas os pesquisadores). Os participantes compareceram três vezes ao laboratório em dias diferentes com intervalo de 72 horas e 48 horas respectivamente, e separados dentro de cinco grupos similares (Dois IPC, dois placebos (PLA) e um grupo controle). A manobra de IPC foi aplicada unilateralmente e consistiu de: 2 ciclos de 5 minutos de oclusão/5-min reperfusão (Grupo IPC 2x5) e 5 ciclos de 2 minutos oclusão/2-min reperfusão (Grupo IPC 5x2). A pressão do manguito para a oclusão foi de 50 mmHg

acima da pressão arterial sistólica em ambos os protocolos de IPC. O protocolo PLA foi similar ao IPC (Grupo PLA 2x5 e grupo PLA 5x2) mas, a pressão de oclusão foi de apenas 20 mmHg. Os voluntários do grupo controle gastaram o mesmo tempo em repouso para imitarem os outros grupos. A manobra de IPC foi aplicada antes do teste incremental. Apenas o grupo IPC 2x5 melhorou o desempenho (33,3 segundos), diminuiu a média da frequência cardíaca durante o teste incremental e apresentou uma recuperação da frequência cardíaca mais rápida comparado ao basal. Nenhuma diferença entre os grupos foi encontrada nas variáveis. Conclui-se que o IPC foi capaz de melhorar o desempenho de ciclistas treinados, mas apenas o protocolo de IPC 2x5 foi efetivo.

Palavras-chave: Isquemia/reperfusão. Hiperemia. Frequência cardíaca.

INTRODUÇÃO

O pré-condicionamento isquêmico (IPC) é uma intervenção caracterizada por repetidos períodos de oclusão vascular seguido por reperfusão em certos órgãos, mostrando efetiva proteção das células do miocárdio após um insulto prolongado de isquemia (MURRY; JENNINGS; REIMER, 1986). Estudos demonstraram que o IPC foi capaz de reduzir danos no músculo esquelético (PANG et al., 1995), preservar a função endotelial (CARROLL et al., 1997) e aumentar a força muscular (LIBONATI et al., 1998). Considerando os efeitos benéficos desta intervenção em estudos clínicos, pesquisadores começaram a investigar o potencial efeito ergogênico do IPC sob o desempenho no exercício físico (HOWELL et al., 2001; MAROCOLO et al., 2015) e recuperação (BEAVEN et al., 2012). Os mecanismos responsáveis pelos efeitos dos ciclos de isquemia/reperfusão ainda não são claros, mas acredita-se que o efeito é sistêmico (COCKING et al., 2017; JEAN-ST-MICHEL et al., 2011). Assim, reforça a evidência de que o estímulo humoral e ou neural medeiam os benefícios do IPC (LIM; YELLON; HAUSENLOY, 2010).

A aplicação da manobra de IPC tem evidenciado melhora no desempenho em esportes e exercícios mais dependentes do metabolismo aeróbio e em situações reais de competição (ex: contra relógio) (INCOGNITO; BURR; MILLAR, 2016). Apesar desses efeitos positivos sob o desempenho no exercício físico, o IPC ainda não provou

ser uma estratégia consistente. De acordo com Marocolo et al. (2016a), alguns estudos ainda não mostram efeitos sob a performance, e os que mostram efeitos, não descrevem mudanças em parâmetros fisiológicos.

O IPC é sugerido para estimular suficientemente a liberação de substâncias que produzirão um efeito de pré-condicionamento. Contudo, um adequado tempo de isquemia/reperfusão ainda não é bem definido (INCOGNITO; BURR; MILLAR, 2016). Tradicionalmente, os protocolos mais utilizados em estudos que investigaram o efeito do IPC no desempenho são três ciclos de 5-min de oclusão, seguidos de 5-min de reperfusão (3 x 5) e quatro ciclos de 5-min de oclusão seguidos de 5-min de reperfusão (4 x 5). Ambos os protocolos mostraram benefícios (BAILEY et al., 2012; CRISAFULLI et al., 2011) e nenhum benefícios (SEEGER et al., 2017; TOCCO et al., 2015) no desempenho de exercício predominantemente aeróbio. Além disso, poucos estudos usaram outros protocolos (ex: 2 x 3; 8 x 5) (BEAVEN et al., 2012; COCKING et al., 2017) e apenas um usou um protocolo curto (BEAVEN et al., 2012). Estudo prévio comparando diferentes protocolos de IPC, não observou benefício adicional quando um número excessivo e um alto tempo de isquemia dos ciclos foram aplicados (COCKING et al., 2017). Porém, o aumento dos ciclos foi acompanhado pelo aumento do tempo total de isquemia. Assim, ainda permanece desconhecido se é o tempo de isquemia e ou o número de ciclos que pode ser a chave para o potencial efeito do IPC.

Portanto, o desconhecimento dos efeitos de diferentes tempos de IR do IPC pode ser uma das razões de resultados inconsistentes sob o desempenho no exercício, uma vez que os estudos apenas reproduziram e poucos investigaram diferentes protocolos. Assim, o objetivo deste estudo foi testar um protocolo curto e analisar se é o número ou o tempo de cada ciclo que induz a melhora do desempenho no ciclismo. Nós hipotetizamos que o protocolo de IPC vai melhorar o desempenho no ciclismo e a manobra com menor número de ciclos induz maior efeito na performance.

MATERIAL E MÉTODOS

Participantes

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética local (N.2.250.458) para experimentos humanos e realizado de acordo com a declaração de Helsinki. Trinta e

cinco ciclistas saudáveis participaram voluntariamente do presente estudo (tabela 1). Todos deveriam apresentar experiência de pelo menos um ano no ciclismo, mínima frequência de treinamento de duas vezes na semana com duração de 30 minutos/sessão, e potência máxima de pelo menos 250 W (JEUKENDRUP; CRAIG; HAWLEY, 2000). Os critérios de exclusão foram: i) apresentar alguma doença cardiovascular ou metabólica; ii) uso de suplementação de cafeína; iii) uso de drogas exógenas, esteroides anabolizantes e androgênicos ou qualquer potencial substância que possa promover a melhoria do desempenho do exercício; iv) histórico de tabagismo; e v) lesões musculares, ósseas ou articulares que podem prejudicar a execução do exercício proposto. Estas informações foram identificadas através de auto relatos dos participantes. Antes dos testes, os sujeitos foram informados sobre os riscos e procedimentos, dando seus consentimentos.

Tabela 1 - Características gerais dos participantes.

Características	IPC 2x5 (n=7)	PLA 2x5 (n=7)	IPC 5x2 (n=7)	PLA 5x2 (n=7)	CON (n=7)	p
Idade (anos)	27,9 ± 4,2	27,6 ± 4,4	28 ± 2,3	25 ± 4,5	29,6 ± 4,9	0,376
Estatura (cm)	175,6 ± 2,8	176,9 ± 4,7	175,4 ± 2,6	175,9 ± 5,6	175 ± 6,1	0,951
Massa corporal (Kg)	77,8 ± 7,5	80,4 ± 10,7	74,2 ± 5,7	76 ± 8,7	83,3 ± 13,1	0,423
Gordura corporal (%)	16,6 ± 3,3	16,2 ± 5,3	13,1 ± 3,9	14,2 ± 4,1	17,4 ± 3,5	0,268
PO _{pico} (W)	315 ± 44,5	315,6 ± 32,2	304 ± 47,7	328 ± 55,6	321,4 ± 60,2	0,923
PO _{pico} (W.Kg ⁻¹)	4,0 ± 0,3	4,0 ± 0,8	4,1 ± 0,7	4,3 ± 0,5	4,0 ± 0,7	0,777
Histórico de treinamento						
Experiência (anos)	3,1 ± 1,5	3,2 ± 1,7	3,7 ± 2,4	3,3 ± 1,7	3,0 ± 1,3	0,929
Horas/semana	4,9 ± 1,1	5,1 ± 2,3	5,5 ± 2,7	4,7 ± 1,7	4,6 ± 1,4	0,913

Legenda: IPC, Pré-condicionamento isquêmico; PLA, placebo; COM, controle; PO, potência; n, tamanho da amostra. Valores são em média ± DP.

Desenho Experimental

Este estudo é randomizado, simples cego (apenas os pesquisadores) controlado com placebo. Os voluntários foram alocados em um de cinco diferentes grupos através dos resultados da potência pico (W.Kg⁻¹) contrabalançada obtidas do teste incremental. Todos os testes foram realizados em laboratório sob ambientes similares de temperatura (22,1 ± 1,6° C) e humidade relativa do ar (76,5 ± 8,8%). Os ciclistas foram ao laboratório três vezes em dias diferentes, porém no mesmo período

e horário do dia para evitar influências circadianas (FERNANDES et al., 2014). Na primeira visita, os ciclistas foram orientados a não desempenharem exercício de intensidade moderada ou intenso 48 horas antes do primeiro dia de teste e para manterem seus hábitos alimentares. Além disso, foram realizadas a familiarização com o centro de testes e obtida as medidas antropométricas.

A segunda visita aconteceu após 72 horas da primeira. Nesta, foi averiguado o nível de recuperação dos ciclistas e logo após desempenhado o teste incremental até a exaustão voluntária. Para a terceira e última visita, um intervalo de 48 horas foi respeitado com a intenção de eliminar qualquer resquício do primeiro teste incremental (CRUZ et al., 2015). Novamente o nível de recuperação foi averiguado, mas antes de desempenharem o teste incremental, foi aplicado o procedimento de IPC ou PLA e avaliado a percepção de dor das manobras. Para equilibrar o nível de informação, foi informado aos participantes que ambas as manobras (IPC ou PLA) promoveriam melhora do desempenho (MAROCOLO et al., 2016b). A organização do estudo está apresentada na figura 1.

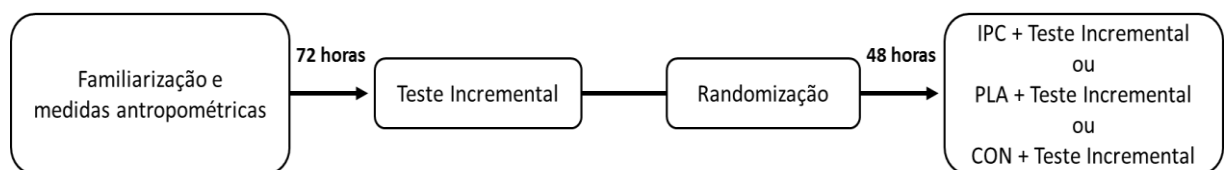


Figura 1 - Desenho experimental. Legenda: IPC, Pré-condicionamento isquêmico; PLA, Placebo; COM, Controle.

Intervenção do pré-condicionamento isquêmico

Os protocolos de IPC consistiram de a) dois ciclos de cinco minutos de oclusão/5-min de reperfusão e b) cinco ciclos de dois minutos de oclusão vascular/2-min de reperfusão. A pressão do manguito foi de 50 mm Hg acima da pressão arterial sistólica no momento de oclusão, seguidos por 0 mmHg na reperfusão em ambos os protocolos. As fases de oclusão e reperfusão foram conduzidas alternadamente entre as coxas, sendo que os sujeitos permaneceram na posição supinada. Para a oclusão vascular, um manguito de pressão arterial tradicional (77 x 21,5 cm com extensão de 55 cm) foi aplicado em torno da região subinguinal da parte superior da coxa. A intervenção placebo foi similar a intervenção IPC mas com a pressão de 20 mmHg

durante a “fase de oclusão” (BAILEY et al., 2012; PAIXÃO; DA MOTA; MAROCOLO, 2014). Durante as fases de inflação e deflação o fluxo sanguíneo foi constantemente checado por auscultação da artéria anterior tibial (MAROCOLO et al., 2016b). A duração total de todas as intervenções (IPC e PLA) foi de 20 minutos. Os voluntários do grupo controle gastaram o mesmo tempo descansando para padronizar o procedimento com relação aos outros grupos.

Mensuração da Dor

A dor das manobras de IPC e PLA foram avaliadas através de uma escala visual analógica (EVA) (LALONDE; CURNIER, 2015). Ao final das manobras, os sujeitos foram orientados a apontar na EVA qual ponto refletia a sua dor. A EVA continha números com valores de 0 – 10 e marcações. 0 é nenhuma dor; 1-2 dor leve; 3-7 dor moderada; e 8-10 dor intensa.

Teste Incremental

Todos os testes incrementais foram realizados no mesmo cicloergômetro (Monark 839 E, Sweden). Os próprios ciclistas ajustaram a posição do banco e guidão, e as configurações foram individualmente mantidas durante todos os testes. Antes do teste incremental, o nível de recuperação foi avaliado através da escala de percepção subjetiva de recuperação (LAURENT et al., 2011) e em seguida os ciclistas realizaram quatro minutos de aquecimento a 40 W. A potência inicial do teste foi de 40 W, com aumentos de 20 W/min até a exaustão voluntária. Uma cadência constante de 80 a 90 rpm foi mantida. A potência e a frequência cardíaca (FC) (Polar®, RS800CX, Finland) foram monitoradas e gravadas durante o teste, e nos últimos 10 segundos de cada estágio, a percepção subjetiva de esforço (PSE) (usando a escala de Borg (1982) adaptada ao exercício de ciclismo por Robertson et al. (2004) foi anotada. Quando o sujeito desistia de continuar o teste, a recuperação da FC foi imediatamente gravada durante cinco minutos na posição de decúbito dorsal. O teste foi considerado máximo quando os voluntários foram incapazes de manter a cadência de pelo menos 80 rpm e atingirem no mínimo 95% da FC máxima predita (220-idade) (HOFMANN; POKAN, 2010).

Análise Estatística

Os dados estão apresentados em média e desvio padrão. As características dos ciclistas e o desempenho do primeiro teste incremental foram comparadas através do teste de análise de variância *One-way Anova*, garantindo a similaridade dos cinco grupos. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro wilk e o teste *t de student pareado* foi conduzido para analisar diferenças intragrupo para todas as variáveis. *Anova one-way* foi conduzido para analisar diferenças intergrupo no momento pré e pós aplicação das manobras, seguido por teste *post-hoc de Bonferroni*. O teste *t de student independente* comparou a dor da intervenção IPC e PLA. O tamanho do efeito (TE) (Cohen *d*) foi calculado e a magnitude foi classificada como pequena (0,2), moderada (0,6) e grande (1,2) (HOPKINS et al., 2009). Nível de significância adotado foi de 0,05. O programa estatístico usado para analisar os dados foi o *GraphPad* (PRISM®, 6.0, San Diego, USA).

RESULTADOS

Todos os ciclistas completaram os testes propostos. A tabela 1 mostra a similaridade entre os grupos no momento pré IPC ($p > 0,05$). Todos os grupos em ambos os momentos pré e pós manobra, estavam no mesmo estado de recuperação segundo a PSR ($p > 0,05$) (tabela 2).

O grupo que realizou a manobra de IPC 2 x 5 melhorou ($p < 0,05$) seu desempenho em 33,3 segundos comparado ao tempo pré (figura 2A). O tamanho do efeito foi pequeno (TE = 0,28). Por outro lado, nenhum dos outros grupos (IPC 5x2; PLA 2x5; PLA 5x2 e CON) apresentaram melhoras ($p > 0,05$) (figura 2B). Não foram encontradas diferenças no tempo de exaustão entre grupos no momento pré ($p > 0,05$) e pós ($p > 0,05$) manobra de IPC. A mudança de tempo (Delta do tempo de exaustão = tempo de exaustão pós – tempo de exaustão pré manobra) (figura 2B) foi similar entre os grupos ($p > 0,05$).

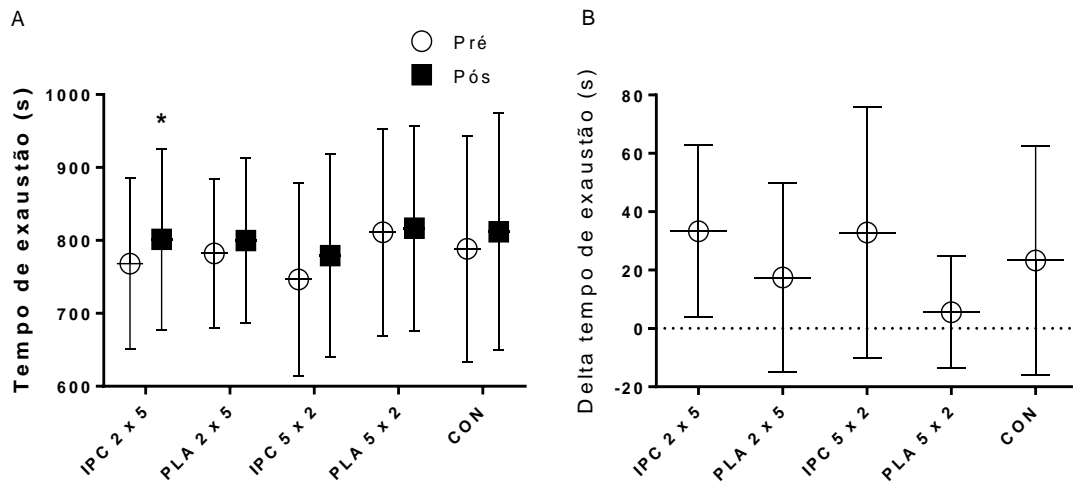


Figura 2 - Tempo do teste incremental pré e pós intervenção e controle (A), e a mudança de tempo (B). Legenda: IPC, pré-condicionamento isquêmico; PLA, placebo; CON, controle. Valores são em média \pm DP. * $p < 0,05$ comparado ao tempo pré.

Nenhuma mudança foi encontrada na FC máxima após a aplicação de IPC. Já a FC média, apresentou um decréscimo no grupo IPC 2 x 5 ($p < 0,05$; TE = 1,08) comparada ao momento pré (tabela 2). Além disso, durante alguns estágios do teste incremental, houve também uma atenuação no comportamento da FC ($p < 0,05$) (figura 3A) e uma recuperação da FC mais rápida ($p < 0,05$) em alguns momentos (figura 3B) em relação a situação pré.

O IPC não foi associado com alterações na potência pico ($p > 0,05$) em ciclistas (tabela 2). A percepção de dor durante a manobra de IPC ($4,7 \pm 1,7$ scores) foi moderada mas suportável, e obteve valor maior ($p < 0,05$) comparado a manobra PLA ($0,7 \pm 1,5$ scores).

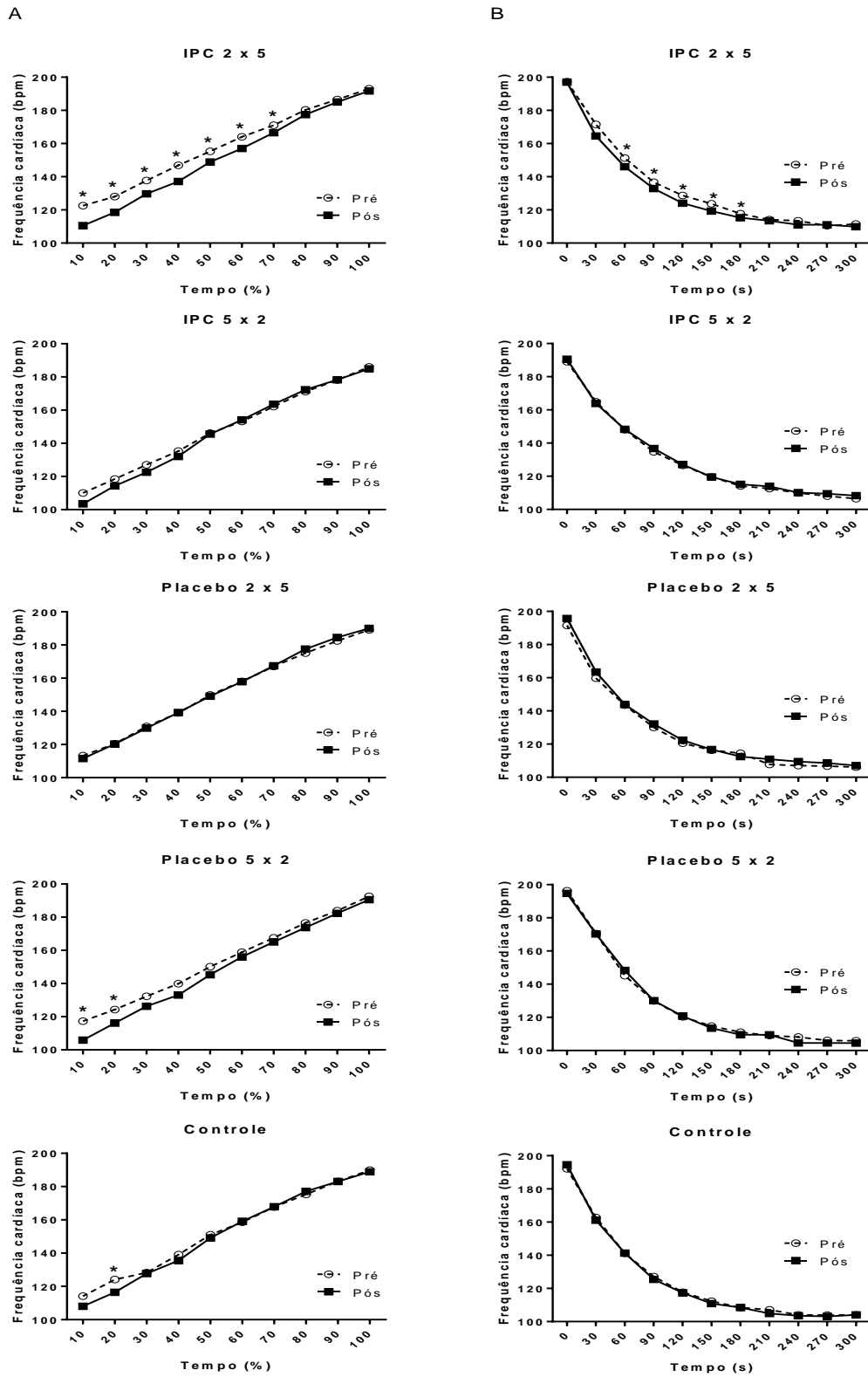


Tabela 2 - Resultados do teste incremental.

Variáveis	IPC (2x5)		IPC (5x2)		PLA (2x5)		PLA (5x2)		CON	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
FC _{Média} (bpm)	157 ± 6	150 ± 7*	148 ± 9	145 ± 10	150 ± 11	151 ± 11	152 ± 13	147 ± 11	151 ± 11	149 ± 14
FC _{Max} (bpm)	197 ± 7	197 ± 9	189 ± 7	190 ± 7	191 ± 8	195 ± 8	196 ± 7	195 ± 8	192 ± 12	195 ± 12
PO _{Pico} (W)	315 ± 44	320 ± 43	304 ± 48	316 ± 46	316 ± 32	325 ± 34	328 ± 56	330 ± 49	321 ± 60	334 ± 66
PO _{Pico} (W.Kg ⁻¹)	4,0 ± 0,3	4,1 ± 0,3	4,1 ± 0,7	4,3 ± 0,7	4,0 ± 0,8	4,1 ± 0,9	4,3 ± 0,5	4,4 ± 0,5	4,0 ± 0,7	4,0 ± 0,7
PSR	7,2 ± 1,6	7,0 ± 1,7	8,6 ± 1,0	8,0 ± 2,8	8,1 ± 1,2	8,3 ± 1,1	8,9 ± 1,5	8,1 ± 3,0	8,6 ± 1,6	8,0 ± 1,9
PSE _{Max}	9,6 ± 0,5	9,9 ± 0,4	9,3 ± 1,5	9,6 ± 1,1	9,6 ± 0,5	9,6 ± 0,8	9,4 ± 1,1	9,7 ± 0,5	10,0 ± 0,0	9,7 ± 0,8

Legenda: IPC, pré-condicionamento isquêmico; PLA, placebo; COM, controle; FC, frequência cardíaca; PO, potência; PSR, Percepção subjetiva de recuperação; PSE, percepção subjetiva de esforço. Valores são em média ± DP. *p < 0,05 comparado ao pré.

DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto de dois protocolos de IPC sob o desempenho de ciclistas em teste incremental e analisar o efeito do número e tempo dos ciclos de oclusão. Nossos achados mostram que apenas o protocolo com maior tempo dos ciclos de oclusão (2 ciclos x 5-min) foi capaz de melhorar o desempenho do teste incremental (33,3 s), concordando com a nossa hipótese. Além disso, houve uma atenuação da FC durante o teste incremental e uma recuperação da FC mais rápida, sugerindo um efeito benéfico após a aplicação da manobra.

Comparação dos Protocolos de IPC

Pela primeira vez, exploramos o efeito de diferentes ciclos de IPC com o mesmo tempo de isquemia total sob desempenho de ciclistas em um teste incremental, e protocolos mais curtos comparados aos tradicionais. De acordo com alguns estudos, o tempo e o número de ciclos de isquemia/reperfusão podem influenciar as respostas do IPC (COCKING et al., 2017; JOHNSEN et al., 2016). Neste nosso estudo de modelos curtos, o tempo de isquemia (IPC 2x5) foi mais importante que a quantidade de ciclos (IPC 5x2) para produzir um efeito de pré-condicionamento, confirmando a ideia de Ghosh; Standen; Galiñanes (2000).

Beaven et al. (2012) também encontraram efeitos benéficos sob a recuperação do desempenho esportivo após a aplicação de um protocolo curto de IPC (2 ciclos x 3 minutos de oclusão) corroborando com nossos resultados. No entanto, não foi encontrado efeito de cardioproteção em um estudo clínico, quando aplicado um protocolo de 2 ciclos x 5 minutos de oclusão (JOHNSEN et al., 2016). Essa contradição leva a crer a uma hipótese, de que existe um “limiar de tempo” diferente para produzir efeitos sob cardioproteção e desempenho esportivo. Portanto, continuar a reproduzir protocolos clínicos para buscar efeitos sob o desempenho esportivo pode ser um equívoco.

A maioria dos estudos que investigaram o efeito do IPC no desempenho esportivo, reproduziram os protocolos. Entretanto, resultados controversos foram encontrados (MAROCOLO et al., 2016a). Embora o protocolo utilizado neste estudo tenha sido efetivo, é importante notar que em outros exercícios ou esportes com

diferentes predominâncias metabólicas, o mesmo pode não ser sensível. Desta forma, hipotetizamos que o tempo de IR dos protocolos de IPC pode ser específico para cada modalidade de exercício ou esporte. Portanto, devemos ter cuidado em interpretar os resultados com o protocolo de maior número de ciclos (IPC 5 x 2 min).

Efeito do IPC sob o desempenho no teste incremental

Apesar das especulações sobre o IPC, na verdade, poucos estudos mostraram melhoras no desempenho quando aplicado, e aqueles que mostraram não apresentaram mudanças fisiológicas significativas (MAROCOLO et al., 2016a). Desta maneira, no atual estudo, avaliamos o comportamento da frequência cardíaca durante o teste incremental e imediatamente após. Conforme observado nos resultados, o grupo que realizou a manobra de IPC composto por 2 ciclos de 5 minutos de oclusão (IPC 2x5) melhorou o desempenho e mostrou uma atenuação da FC média (tabela 2), e em vários momentos durante o teste incremental até completar 70% do total realizado. Neste ponto, a FC corresponde a 87% (171 ± 7 bpm) da FC máxima no momento pré, e 84% (166 ± 7 bpm) no momento pós (figura 3). Essa porcentagem no momento pré, está próxima ao ponto de deflexão da FC, o qual está associado ao limiar anaeróbio (BOURGOIS et al., 2004; PINTO et al., 2016) e que é altamente correlacionada com o desempenho no ciclismo de longa duração (IMPELLIZZERI et al., 2005). Portanto, especulamos que uma FC mais baixa neste nível submáximo como observado no momento pós, pode indicar que os ciclistas realizaram um menor esforço pela mesma carga de trabalho comparado a situação pré IPC. Assim, permitiria um pedalada com maior potência sem aumentar precipitadamente os metabólitos relacionados à fadiga (AMENT; VERKERKE, 2009).

A relação entre limiar anaeróbio e o exercício de ciclismo de longa duração está bem documentada (IMPELLIZZERI et al., 2005; MUJIK; PADILLA, 2001). Um limiar mais elevado indica maior capacidade aeróbia máxima, acompanhada de melhor desempenho (IMPELLIZZERI et al., 2005). Corroborando com nossos achados, Bailey et al. (2012) encontraram uma menor concentração de lactato no nível submáximo após a aplicação de IPC em corredores, e melhora no desempenho em um contra relógio de 5 km. Além disso, em um estudo mais recente, ciclistas apresentaram melhora da potência crítica em um teste *all-out* de 3 minutos após a aplicação do IPC

(GRIFFIN et al., 2017). Assim como em nosso estudo, essas mudanças em níveis submáximos indicam que a aplicação do IPC pode contribuir para a melhora do desempenho em teste incremental no ciclismo.

Outro marcador sensível as mudanças do nível de treinamento de *endurance* em ciclistas treinados é a recuperação da FC pós-exercício (BORRESEN; LAMBERT, 2008; DAANEN et al., 2012; LAMBERTS et al., 2009). Que seja de nosso conhecimento, é a primeira vez que um estudo investiga o efeito do IPC na recuperação da FC. Após o teste incremental, o grupo IPC 2x5 apresentou uma recuperação da FC mais rápida em alguns momentos após a aplicação do IPC (figura 2B) e principalmente nos primeiros 60 segundos. Ao término do exercício, a desaceleração da FC acontece através de uma interação coordenada da reativação parassimpática e retirada simpática (KANNANKERIL et al., 2004), sendo que nos primeiros 60 segundos o ramo parassimpático é considerado a principal influência (KANNANKERIL; GOLDBERGER, 2002). Evidências indicam que a aplicação da manobra de IPC foi acompanhada por aumentos na atividade parassimpática (ENKO et al., 2011). Portanto, sugerimos que após a aplicação do IPC houve uma reativação vagal mais efetiva, acelerando a recuperação da FC nos primeiros 60 segundos.

Os mecanismos responsáveis pelos efeitos dos ciclos de isquemia/reperfusão ainda não são claros, mas é especulado que estes são sistêmicos e não locais (JEAN-ST-MICHEL et al., 2011). Crisafulli et al. (2011) argumentam que o IPC reduz a sensibilidade do corpo aos sinais de fadiga e melhora o desempenho. Outros indicam uma maior extração de oxigênio durante o exercício no ponto de exaustão (KIDO et al., 2015). E por final, alguns estudos indicam que a adenosina, bradicinina, espécies reativas de oxigênio estão associadas ao IPC e são necessárias para iniciar o efeito bioquímico em cascata (COHEN; BAINES; DOWNEY, 2000; DOWNEY; DAVIS; COHEN, 2007). Apesar das especulações, nossos resultados apontam que a recuperação da FC mais rápida no primeiro minuto pós-exercício, pode indicar um estímulo neural após a aplicação da manobra. Como reportado no parágrafo anterior, a desaceleração da FC no primeiro minuto após o exercício é principalmente influenciada pela reativação parassimpática (KANNANKERIL; GOLDBERGER, 2002). Para confirmar esses achados, estudos clínicos mostraram que um dos efeitos envolvidos na cardioproteção mediado pelo IPC, foi uma ativação dos nervos parassimpáticos eferentes (DONATO et al., 2013; ENKO et al., 2011). Assim,

hipotetizamos que os estímulos da aplicação do IPC podem ser mediados por efeitos neurais.

CONCLUSÃO

Conclui-se à primeira vista, que o uso do IPC melhora o desempenho de ciclistas treinados. No entanto, parece que o tempo do ciclo de oclusão (2 ciclos x 5 min) é mais importante do que o número de ciclos (5 ciclos x 2 min) para um potencial efeito do IPC sob o desempenho em teste incremental no ciclismo. Sugerimos que, mesmo diminuindo o tempo total de oclusão em comparação com os protocolos tradicionais (3 ciclos x 5 min e 4 ciclos x 5 min), um tempo (2 ciclos x 5 min) mais curto foi eficaz para melhorar o desempenho de ciclistas. Além disso, é provável que a aceleração da recuperação da frequência cardíaca do grupo IPC 2x5 após a aplicação do IPC, pode ser mediada por uma ativação do nervo parassimpático mais rápida, indicando um estímulo neural. Entretanto, mais estudos são necessários.

REFERÊNCIAS

AMENT, W.; VERKERKE, G. J. Exercise and fatigue. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 39, n. 5, p. 389–422, 2009.

BAILEY, T. G. et al. Effect of ischemic preconditioning on lactate accumulation and running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 44, n. 11, p. 2084–2089, nov. 2012.

BEAVEN, C. M. et al. Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme**, v. 37, n. 6, p. 1132–1139, dez. 2012.

BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.

BORRESEN, J.; LAMBERT, M. I. Autonomic control of heart rate during and after exercise: measurements and implications for monitoring training status. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 38, n. 8, p. 633–646, 2008.

BOURGOIS, J. et al. Validity of the heart rate deflection point as a predictor of lactate threshold concepts during cycling. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 18, n. 3, p. 498–503, ago. 2004.

CARROLL, C. M. et al. Acute ischemic preconditioning of skeletal muscle prior to flap elevation augments muscle-flap survival. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 100, n. 1, p. 58–65, jul. 1997.

COCKING, S. et al. Is There an Optimal Ischaemic Preconditioning Dose to Improve Cycling Performance? **International Journal of Sports Physiology and Performance**, p. 1–25, 28 jun. 2017.

COHEN, M. V.; BAINES, C. P.; DOWNEY, J. M. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel. **Annual Review of Physiology**, v. 62, p. 79–109, 2000.

CRISAFULLI, A. et al. Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygen uptake in humans. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 111, n. 2, p. 530–536, ago. 2011.

CRUZ, R. S. DE O. et al. Effects of ischemic preconditioning on maximal constant-load cycling performance. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 119, n. 9, p. 961–967, 1 nov. 2015.

DAANEN, H. A. M. et al. A systematic review on heart-rate recovery to monitor changes in training status in athletes. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 7, n. 3, p. 251–260, set. 2012.

DONATO, M. et al. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. **Experimental Physiology**, v. 98, n. 2, p. 425–434, fev. 2013.

DOWNEY, J. M.; DAVIS, A. M.; COHEN, M. V. Signaling pathways in ischemic preconditioning. **Heart Failure Reviews**, v. 12, n. 3–4, p. 181–188, dez. 2007.

ENKO, K. et al. Intermittent arm ischemia induces vasodilatation of the contralateral upper limb. **The journal of physiological sciences: JPS**, v. 61, n. 6, p. 507–513, nov. 2011.

FERNANDES, A. L. et al. Effect of time of day on performance, hormonal and metabolic response during a 1000-M cycling time trial. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e109954, 2014.

GHOSH, S.; STANDEN, N. B.; GALIÑANES, M. Preconditioning the human myocardium by simulated ischemia: studies on the early and delayed protection. **Cardiovascular Research**, v. 45, n. 2, p. 339–350, 14 jan. 2000.

GRIFFIN, P. J. et al. Ischemic preconditioning enhances critical power during a 3 minute all-out cycling test. **Journal of Sports Sciences**, p. 1–6, 7 jul. 2017.

HOFMANN, P.; POKAN, R. Value of the application of the heart rate performance curve in sports. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 5, n. 4, p. 437–447, dez. 2010.

HOPKINS, W. G. et al. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 1, p. 3–13, jan. 2009.

HOWELL, A. K. et al. The effect of muscle hypoperfusion-hyperemia on repetitive vertical jump performance. **Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association**, v. 15, n. 4, p. 446–449, nov. 2001.

IMPELLIZZERI, F. M. et al. Correlations between physiological variables and performance in high level cross country off road cyclists. **British Journal of Sports Medicine**, v. 39, n. 10, p. 747–751, out. 2005.

INCOGNITO, A. V.; BURR, J. F.; MILLAR, P. J. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 46, n. 4, p. 531–544, abr. 2016.

JEAN-ST-MICHEL, E. et al. Remote preconditioning improves maximal performance in highly trained athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1280–1286, jul. 2011.

JEUKENDRUP, A. E.; CRAIG, N. P.; HAWLEY, J. A. The bioenergetics of World Class Cycling. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 3, n. 4, p. 414–433, dez. 2000.

JOHNSEN, J. et al. The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle duration and effector organ mass on efficacy of protection. **Basic Research in Cardiology**, v. 111, n. 2, p. 10, mar. 2016.

KANNANKERIL, P. J. et al. Parasympathetic effects on heart rate recovery after exercise. **Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research**, v. 52, n. 6, p. 394–401, set. 2004.

KANNANKERIL, P. J.; GOLDBERGER, J. J. Parasympathetic effects on cardiac electrophysiology during exercise and recovery. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 282, n. 6, p. H2091-2098, jun. 2002.

KIDO, K. et al. Ischemic preconditioning accelerates muscle deoxygenation dynamics and enhances exercise endurance during the work-to-work test. **Physiological Reports**, v. 3, n. 5, maio 2015.

LALONDE, F.; CURNIER, D. Y. Can anaerobic performance be improved by remote ischemic preconditioning? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 29, n. 1, p. 80–85, jan. 2015.

LAMBERTS, R. P. et al. Changes in heart rate recovery after high-intensity training in well-trained cyclists. **European Journal of Applied Physiology**, v. 105, n. 5, p. 705–713, mar. 2009.

LAURENT, C. M. et al. A practical approach to monitoring recovery: development of a perceived recovery status scale. **Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association**, v. 25, n. 3, p. 620–628, mar. 2011.

LIBONATI, J. R. et al. Brief periods of occlusion and reperfusion increase skeletal muscle force output in humans. **Cardiologia (Rome, Italy)**, v. 43, n. 12, p. 1355–1360, dez. 1998.

LIM, S. Y.; YELLON, D. M.; HAUSENLOY, D. J. The neural and humoral pathways in remote limb ischemic preconditioning. **Basic Research in Cardiology**, v. 105, n. 5, p. 651–655, set. 2010.

MAROCOLO, M. et al. Are the Beneficial Effects of Ischemic Preconditioning on Performance Partly a Placebo Effect? **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 10, p. 822–825, out. 2015.

MAROCOLO, M. et al. Myths and Facts About the Effects of Ischemic Preconditioning on Performance. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 87–96, fev. 2016a.

MAROCOLO, M. et al. Ischemic Preconditioning and Placebo Intervention Improves Resistance Exercise Performance. **Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association**, v. 30, n. 5, p. 1462–1469, maio 2016b.

MUJIKÁ, I.; PADILLA, S. Physiological and performance characteristics of male professional road cyclists. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 31, n. 7, p. 479–487, 2001.

MURRY, C. E.; JENNINGS, R. B.; REIMER, K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. **Circulation**, v. 74, n. 5, p. 1124–1136, nov. 1986.

PAIXÃO, R. C.; DA MOTA, G. R.; MAROCOLO, M. Acute effect of ischemic preconditioning is detrimental to anaerobic performance in cyclists. **International Journal of Sports Medicine**, v. 35, n. 11, p. 912–915, out. 2014.

PANG, C. Y. et al. Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. **Cardiovascular Research**, v. 29, n. 6, p. 782–788, jun. 1995.

PINTO, S. S. et al. Noninvasive Determination of Anaerobic Threshold Based on the Heart Rate Deflection Point in Water Cycling. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 30, n. 2, p. 518–524, fev. 2016.

ROBERTSON, R. J. et al. Validation of the adult OMNI scale of perceived exertion for cycle ergometer exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 1, p. 102–108, jan. 2004.

SEEGER, J. P. H. et al. Is delayed ischemic preconditioning as effective on running performance during a 5km time trial as acute IPC? **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 20, n. 2, p. 208–212, fev. 2017.

TOCCO, F. et al. Muscle ischemic preconditioning does not improve performance during self-paced exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 1, p. 9–15, jan. 2015.

2.2 ARTIGO 2

Isquemia pós-exercício aguda atenua a queda de desempenho em teste de ciclismo

RESUMO

Breves momentos de oclusão do fluxo sanguíneo seguido por reperfusão resulta em um aumento do fluxo sanguíneo, inibição da geração de espécies reativas de oxigênio e redução das concentrações de creatina quinase e lactato desidrogenase. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da isquemia pós-exercício (IPE) sobre a recuperação e as variáveis fisiológicas de ciclistas treinados. Em um modelo randomizado simples-cego, sob quatro dias diferentes, 28 ciclistas treinados ($27,1 \pm 1,4$ anos) foram divididos dentro de 4 grupos submetendo-se a 2 ciclos de 5 minutos de oclusão/5-min reperfusão (IPE ou PLA 2x5) ou 5 ciclos de 2 minutos de oclusão/2-min reperfusão (IPE ou PLA 5x2), unilateralmente alternado na região proximal da coxa para ambas intervenções de IPE (pressão 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica; promoveu a oclusão do fluxo sanguíneo) ou placebo (PLA) (pressão de 20 mmHg; não promoveu a oclusão do fluxo sanguíneo). Os ciclistas foram informados que ambas as manobras PLA e IPE acelerariam o processo de recuperação após o exercício. As aplicações das manobras (IPE ou PLA) foram realizadas cinco minutos após um teste incremental até a exaustão voluntária. Após 24 horas, os grupos PLA diminuíram o desempenho comparado ao teste basal (PLA 2x5 $p < 0,05$; PLA 5x2 $p < 0,05$). Já os grupos IPE mantiveram o seu desempenho (IPE 2x5 $p > 0,05$; IPE 5x2 $p > 0,05$). Em conclusão, a IPE promoveu uma recuperação mais rápida do desempenho 24 horas pós-exercício em ciclistas treinados.

Palavras-chave: Exercício, teste incremental, restrição do fluxo sanguíneo, hiperemia.

INTRODUÇÃO

O alto rendimento no ciclismo de estrada ou *mountain bike cross country* envolve muitas sessões de treinamento de alto volume e intensidade, e várias competições durante a temporada (IMPELLIZZERI; MARCORA, 2007; MUJICA; PADILLA, 2001; STAPELFELDT et al., 2004). Essas modalidades consistem de corridas consecutivas que geralmente acontecem em dois dias (115 a 240 minutos de corrida cada dia) ou até oito dias (ultramaratonas) (WIRNITZER; KORNEXL, 2008; YANTURALI et al., 2015). Durante esses eventos, a alta intensidade somado aos tempos curtos de recuperação entre as corridas, promove fadiga afetando a velocidade de recuperação e desempenho após horas/dias (HALSON et al., 2002).

Geralmente tem sido sugerido que estratégias de recuperação pós-exercício reduz fadiga e dor muscular, atenua a perda de desempenho acelerando a recuperação em sessões de treinamento ou competições subsequentes (BARNETT, 2006; REILLY; EKBLUM, 2005). Atualmente o método de isquemia/reperfusão (IR) tem sido aplicado para maximizar o desempenho esportivo (MAROCOLO et al., 2016a) e acelerar o processo de recuperação após o exercício (BEAVEN et al., 2012). A manobra de IR resulta em um aumento do fluxo sanguíneo (LIBONATI et al., 2001) associado ao aumento do nível de óxido nítrico (RASSAF et al., 2014) e da produção de adenosina (LIEM et al., 2002). Neste sentido, o evento poderia manter o fluxo sanguíneo pós-exercício, que está relacionado a uma recuperação do desempenho mais rápida (BORNE; HAUSSWIRTH; BIEUZEN, 2017). Além disso, a aplicação de IR também inibe a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (JIN et al., 2012), creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (ZHANG; MA; LIU, 2012). Assim, essas respostas podem promover benefícios para recuperação do exercício e proteger a musculatura (RAAT; SHIVA; GLADWIN, 2009).

Poucos estudos investigaram a efetividade da isquemia pós-exercício (IPE) na recuperação do desempenho esportivo (BEAVEN et al., 2012; BORNE; HAUSSWIRTH; BIEUZEN, 2017). Borne; Hausswirth e Bieuzen (2017), investigaram o efeito da IPE sob a recuperação do desempenho no ciclismo após três testes de Wingates padrão. Após 30 minutos de recuperação incluindo 24 minutos de aplicação de IPE, nenhuma mudança no desempenho em um único teste de Wingate foi reportado. Porém, o alto tempo de oclusão pode ter influenciado no efeito da IPE, porque uma oclusão acima de 10 minutos não tem demonstrado alguma influência (JOHNSEN et al., 2016). Em contraste, Beaven et al. (2012) usaram a IPE como uma

estratégia de recuperação após um exercício de *sprints* repetidos e encontraram melhora no salto contramovimento e *squat jump* após 24 horas de recuperação.

Portanto, o uso do método de IR do fluxo sanguíneo como uma estratégia de recuperação pós-exercício parece auxiliar no processo de recuperação do desempenho no ciclismo, mas a sua aplicação e seus efeitos ainda não são consistentes. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo da isquemia pós-exercício sob a recuperação do desempenho e variáveis fisiológicas de ciclistas treinados. Nós hipotetizamos que a IPE vai acelerar o processo de recuperação e atenuar a perda de desempenho 24 horas após o exercício de ciclismo até a exaustão.

MATERIAL E MÉTODOS

Participantes

Vinte e oito homens ciclistas participaram voluntariamente dessa pesquisa. Todos os ciclistas eram saudáveis, treinados e para serem incluídos eles deveriam desenvolver uma potência mínima de 250 W ou mais no teste incremental (JEUKENDRUP; CRAIG; HAWLEY, 2000). A tabela 1 mostra as características dos participantes. Os critérios de exclusão adotados neste estudo foram: i) apresentar alguma doença cardiovascular ou metabólica; ii) uso de suplementação de cafeína; iii) uso de drogas exógenas, esteroides anabolizantes e androgênicos ou qualquer potencial substância que possa promover a melhoria do desempenho do exercício; iv) Histórico de tabagismo; e v) lesões musculares, ósseas ou articulares que podem prejudicar a execução do exercício proposto. Essas informações foram identificadas através de auto-relatos dos participantes. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética local (N.2.250.458) para experimentos humanos e foi realizado de acordo com a declaração de Helsinki. Em adição, todos os sujeitos assinaram um termo de consentimento.

Tabela 1 - Características gerais dos participantes.

Características	IPE 2x5 (n=7)	PLA 2x5 (n=7)	IPE 5x2 (n=7)	PLA 5x2 (n=7)	P
Idade (anos)	27,6 ± 4	27,8 ± 4,2	25 ± 4,5	28,3 ± 2,3	0,456
Estatura (cm)	177 ± 4,7	175,6 ± 2,8	176 ± 5,6	174,7 ± 1,8	0,913
Massa corporal (Kg)	80,3 ± 10,7	77,8 ± 7,5	76 ± 8,7	74,6 ± 6,2	0,560
Gordura corporal (%)	16,2 ± 5,3	16,5 ± 3,3	14,2 ± 4,1	14,2 ± 2,8	0,371
PO _{pico} (W)	315 ± 32,2	315,2 ± 44,5	327 ± 55,6	302,3 ± 52,0	0,816
PO _{pico} (W.Kg ⁻¹)	4,0 ± 0,8	4,0 ± 0,3	4,3 ± 0,5	4,1 ± 0,7	0,777
Histórico de Treinamento					
Experiência (anos)	3,2 ± 1,7	3,1 ± 1,5	3,3 ± 1,7	3,0 ± 1,7	0,924
Horas/semana	5,1 ± 2,3	4,9 ± 1,1	4,7 ± 1,7	4,2 ± 2,0	0,890

Legenda: IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo; PO, Potência. Valores são em média ± DP.

Desenho Experimental

O estudo é randomizado, simples-cego (apenas pesquisadores) com placebo. Os voluntários foram alocados em 1 de 4 intervenções de acordo com o pico de potência (W.Kg⁻¹) contrabalançada alcançada no teste incremental da familiarização (SAGHAEI, 2004). Todos os testes foram realizados em laboratório com temperatura (21,9 ± 1,3 ° C) e umidade relativa do ar (72,3 ± 7,9 %) monitorados. Os ciclistas compareceram ao laboratório quatro vezes, em dias diferentes e no mesmo período do dia para minimizar influências circadianas (FERNANDES et al., 2014). Na primeira visita os ciclistas foram orientados a manter a alimentação padrão durante os dias de teste e a não realizarem nenhum exercício físico moderado e/ou intenso 48 horas antes do primeiro dia de testes. Foram familiarizados com o centro de testes, avaliadores e as medidas antropométricas foram realizados. Após 72 horas, os ciclistas compareceram novamente ao laboratório e executaram o primeiro teste incremental até a exaustão. O mesmo teste incremental foi realizado nas duas seguintes visitas, com intervalo de 72 horas.

A terceira visita foi realizada 48 horas após a segunda, para eliminar qualquer resquício do primeiro teste incremental (CRUZ et al., 2015). Nesta visita, foi colhido uma amostra de sangue (ml) (para análise de creatina quinase) dos voluntários. A dor

muscular dos membros inferiores e o nível de recuperação também foram verificados, e em seguida realizado o teste incremental basal. Após o teste incremental, os ciclistas foram levados para dentro de uma sala para a aplicação da manobra de IPE ou PLA nos membros inferiores, e ao término da aplicação foi averiguado a percepção de dor de ambos os procedimentos. Para prevenir um efeito placebo e nocebo encontrados em estudos aplicando a IR, foi informado aos voluntários que ambas as manobras melhorariam o seu desempenho no próximo dia de teste e não causaria danos, apesar do desconforto relatado pelas manobras (MAROCOLO et al., 2017, 2016c). Vinte quatro horas após a terceira visita, os ciclistas retornaram ao laboratório para o quarto dia (CÓRDOVA MARTÍNEZ et al., 2015). Uma amostra de sangue foi colhida novamente, verificado a dor muscular e o nível de recuperação, mensurado a expectativa de desempenho em relação ao último realizado, e em seguida, eles desempenharam o teste incremental. A figura 1 mostra o desenho experimental deste estudo.

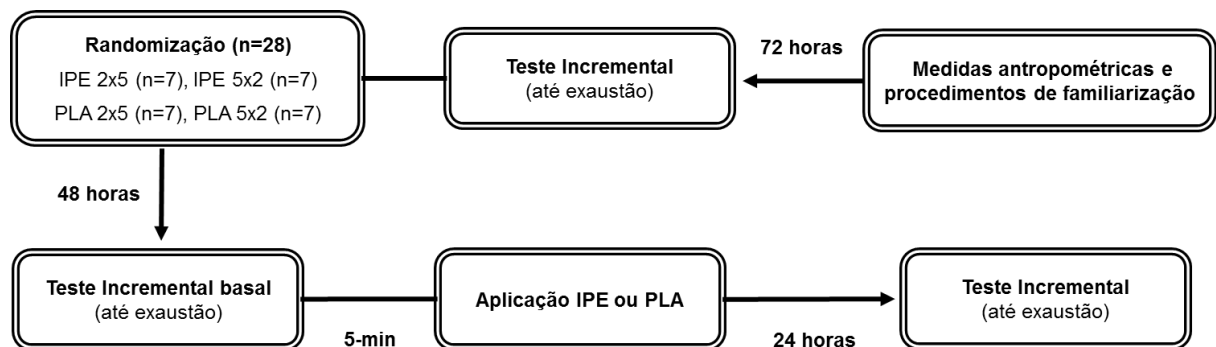


Figura 1 - Desenho experimental. Legenda: IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo. Randomização através da potência pico ($W \cdot Kg^{-1}$).

Mensuração da creatina quinase

Um profissional treinado e experiente realizou as coletas de sangue para a análise da creatina quinase (CK). Antes do exercício, foi colhido aproximadamente 5 ml de sangue venoso na região ante-cubital do antebraço. As amostras de sangue foram coletadas no basal e 24 horas após o exercício (NYBO et al., 2013; SKILLEN et al., 2008). Cuidadosamente, o sangue foi transferido para tubos e centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. Após isso, a CK foi contabilizada através de kits de análise

comercialmente disponíveis (Reagente Ck-NAC, Labteste Diagnóstica S.A.®, Lagoa Santa, Brasil). O aparelho usado para dosagem da amostra foi o LW200 Labteste®.

Mensuração da Dor

Uma escala visual analógica (EVA) foi utilizada para avaliar a dor muscular dos ciclistas 24 horas após o exercício. Através da palpação na coxa e panturrilha (anterior e posterior), os voluntários deveriam apontar na EVA qual ponto refletia a sua dor. A escala era constituída por números de 0 – 10 e marcações, onde: 0 é nenhuma dor; 1-2 dor leve; 3-7 dor moderada; e 8-10 dor intensa (LALONDE; CURNIER, 2015). A avaliação foi realizada no terceiro e quarto dia. Em ambos os dias ela foi aplicada antes da coleta sanguínea e teste incremental.

A percepção de dor da manobra de IPE e PLA também foi avaliada usando a mesma escala. A análise foi realizada imediatamente após o término da manobra.

Teste Incremental

Os três testes incrementais foram realizados no mesmo cicloergômetro (Monark 839 E, Sweden). Antes de iniciar o último teste incremental, foi averiguado a expectativa de desempenho dos ciclistas através da seguinte pergunta: “qual a sua expectativa de desempenho em relação ao último teste realizado: Pior, Similar ou Melhor?”. As posições do selim e guidão foram reguladas pelos próprios ciclistas e mantidas em todas as sessões. Antes de executarem o teste incremental, o nível de recuperação foi avaliado através da escala percepção subjetiva de recuperação (LAURENT et al., 2011), e em seguida realizado 4 minutos de aquecimento a 40 watts. Após o aquecimento, foi iniciado o teste incremental. A potência inicial do teste foi igual a 40 W, aumentando 20 W/min até a exaustão voluntária. Uma cadência constante de 80 a 90 rpm foi mantida. O teste incremental foi baseado em outros similares (CRISAFULLI et al., 2011; DE GROOT et al., 2010). Nos últimos 10 segundos de cada estágio, a frequência cardíaca (FC) (Polar®, RS800CX, Finland) e a percepção subjetiva de esforço (PSE) (usando a escala de Borg, (1982) adaptada ao exercício de ciclismo proposta por Robertson et al. (2004) foram registradas para posterior análise. Em adição, a potência também foi gravada durante todo o teste.

Quando o participante desistia de continuar o exercício, a recuperação da FC foi gravada durante 5 minutos com o ciclista na posição de decúbito dorsal. O teste foi considerado máximo quando os ciclistas não conseguiram manter a cadência de pelo menos 80 rpm e atingissem no mínimo 95% da frequência cardíaca máxima predita ($220 - \text{idade}$). Esta porcentagem da FC está acima dos valores da zona de intensidade de esforço submáxima (HOFMANN; POKAN, 2010).

Intervenção da isquemia pós-exercício

Após o fim do teste incremental, foram utilizados 5 minutos de transição para a o início da aplicação da IPE. A manobra de IPE consistiu de 2 ciclos de 5 minutos de oclusão com 5 minutos de reperfusão ou; 5 ciclos de 2 minutos de oclusão com 2 minutos de reperfusão. Utilizamos essas configurações com base no estudo de Beaven et al. (2012) e procurando por protocolos mais rápidos e fáceis nas configurações esportivas (INCOGNITO; BURR; MILLAR, 2016). Ambos os procedimentos foram unilaterais alternados e utilizaram uma pressão de 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica de cada sujeito (SHARMA et al., 2015) na oclusão e 0 mmHg na reperfusão. O protocolo PLA foi aplicado da mesma maneira que o protocolo de IPE, porém a oclusão foi simulada com uma pressão de 20 mm Hg. Todos os procedimentos tiveram um total de 20 minutos de intervenção. O fluxo sanguíneo foi checado constantemente por auscultação da artéria tibial anterior (MAROCOLO et al., 2016b) durante as manobras, e confirmamos corretamente as fases de oclusão/reperfusão. A oclusão foi realizada através de um manguito de pressão arterial tradicional (77 x 21,5 com alcance de 35 - 55 cm) aplicado na região subinguinal na parte superior da coxa.

Análise estatística

A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-wilk. Os dados foram apresentados em média \pm desvio padrão. A comparação do *basal* e 24-h após a manobra de cada grupo, foi realizada através de um teste t de *student* pareado. *One-way ANOVA* foi conduzido para analisar a diferença entre os grupos, seguido do teste post-hoc de Bonferroni. O tamanho do efeito (TE) foi calculado e a

magnitude foi classificada como: pequena (0,2), moderada (0,6) e grande (1,2) (HOPKINS et al., 2009). Foi considerado 0,05 para nível de significância. O programa *GraphPad* (PRISM®, 6.0, San Diego, USA) foi utilizado para analisar os dados.

RESULTADOS

Todos os ciclistas completaram os quatro dias de testes. Os dados apresentados na tabela 1 mostra a similaridade entre os grupos ($p > 0,05$) antes das intervenções.

Todos os grupos aumentaram a CK no momento 24-h pós-manobra comparado ao basal ($p < 0,05$) (Tamanho do efeito: IPE 2x5 = -0,32; PLA 2x5 = -0,79; IPE 5x2 = -0,11 e PLA 5x2 = -0,20) (Figura 2). Contudo, a média da CK foi similar entre os grupos em ambos os momentos (Basal: $p > 0,05$; 24-h post: $p > 0,05$).

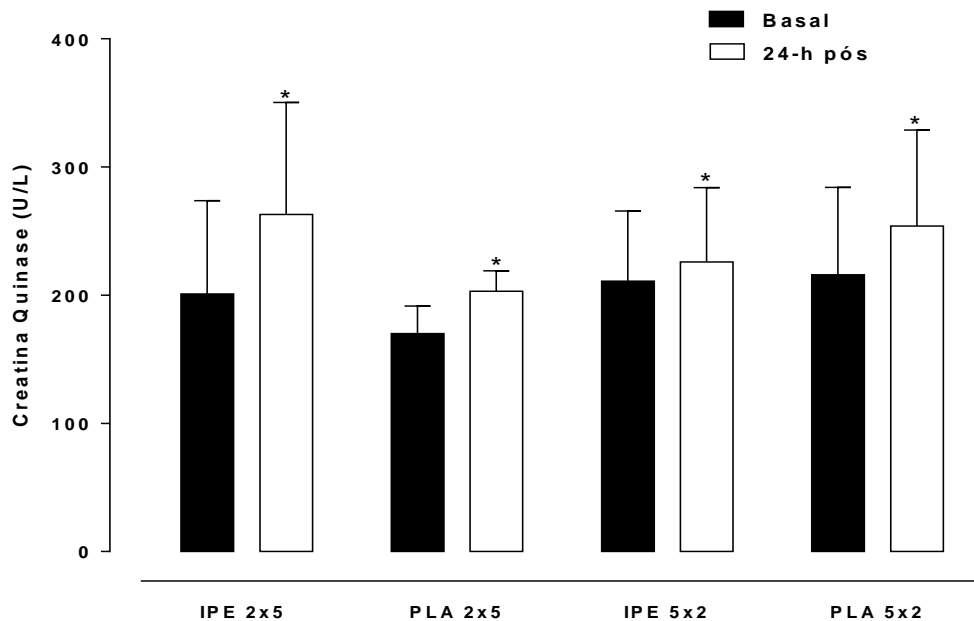


Figura 2 - Creatina quinase no basal e 24-h pós manobra. Legenda: IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo. Valores são em média \pm desvio padrão. * $p < 0,05$ = Significativamente diferente de basal.

Não foi encontrado diferença na percepção de dor muscular no basal e 24-h pós dos grupos, bem como entre os grupos ($p > 0,05$). As escores da percepção de recuperação mostraram que os grupos IPE (IPE 2x5 e IPE 5x2) estavam mais cansados no momento 24-h pós ($p < 0,05$). Após 24 horas da aplicação da manobra

de IPE, nenhuma mudança foi observada na média, máxima e recuperação da FC ($p > 0,05$). A potência também não diferiu em nenhum dos momentos ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Resultados do teste incremental

Variáveis	PLA 2x5		IPE 2x5		PLA 5x2		IPE 5x2	
	Basal	24-h Pós	Basal	24-h Pós	Basal	24-h Pós	Basal	24-h Pós
FC _{Media} (bpm)	150 ± 7	151 ± 9	152 ± 11	150 ± 14	146 ± 11	145 ± 12	147 ± 11	150 ± 12
FC _{Max} (bpm)	197 ± 9	194 ± 5	196 ± 8	192 ± 11	191 ± 7	187 ± 7	195 ± 8	197 ± 11
FC _{Rec} (bpm)	83 ± 5	85 ± 5	84 ± 6	83 ± 6	77 ± 4	77 ± 4	87 ± 6	86 ± 6
PO _{Pico} (W)	319,7 ± 43,4	306,1 ± 42,3	324,7 ± 34,3	323,3 ± 44,8	307,6 ± 44,6	303,7 ± 36,5	329,8 ± 48,6	334,6 ± 56,4
PO _{Pico} (W.Kg ⁻¹)	4,1 ± 0,3	3,9 ± 0,4	4,1 ± 0,9	4,1 ± 1,0	4,2 ± 0,7	4,1 ± 0,6	4,3 ± 0,5	4,4 ± 0,6
PSE _{Max}	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,6 ± 0,8	9,6 ± 0,8	9,6 ± 1,1	9,6 ± 1,1	9,7 ± 0,5	9,7 ± 0,5
PSR _{media}	7,0 ± 1,7	7,6 ± 1,7	8,3 ± 1,1	7,3 ± 1,1*	8,0 ± 3,0	7,6 ± 2,0	8,1 ± 3,0	7,1 ± 2,8*
DM _{media}	0,4 ± 0,8	0,7 ± 1,1	0,7 ± 1,0	0,4 ± 0,5	0,8 ± 1,3	0,9 ± 1,2	0,9 ± 1,5	1,0 ± 1,2

Legenda: FC, frequência cardíaca; FC_{rec}, Frequência cardíaca de recuperação; PO, potência; PSE, percepção subjetiva de esforço; PSR, percepção subjetiva de recuperação; DM, dor muscular; IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo. Valores são em média ± desvio padrão. *p<0,05 significativamente diferente do basal.

Os ciclistas que realizaram a manobra de IPE obtiveram pequenos aumentos no tempo de exaustão do teste incremental (IPE 2 x 5 = 3,3 s; IPE 5 x 2 = 2,9 s) 24 horas pós-manobra, mas similar comparado ao tempo basal ($p > 0,05$). Por outro lado, ambos os grupos PLA diminuíram ($p < 0,05$) o seu desempenho 24 horas pós-manobra (PLA 2x5 = -37,9s (4,7%); PLA 5x2 = -17,0s (2,2%)) (Figura 3A e Figura 3B). Não foram encontradas diferenças entre os grupos no momento basal e 24-h pós manobra ($p > 0,05$) (Figura 3A e Figura 3B). Comparando os ciclistas que fizeram os procedimentos de IPE ($n = 14$) e PLA ($n = 14$), encontramos um decréscimo ($p < 0,05$) no desempenho (24-h pós) apenas na manobra PLA (Figura 3C).

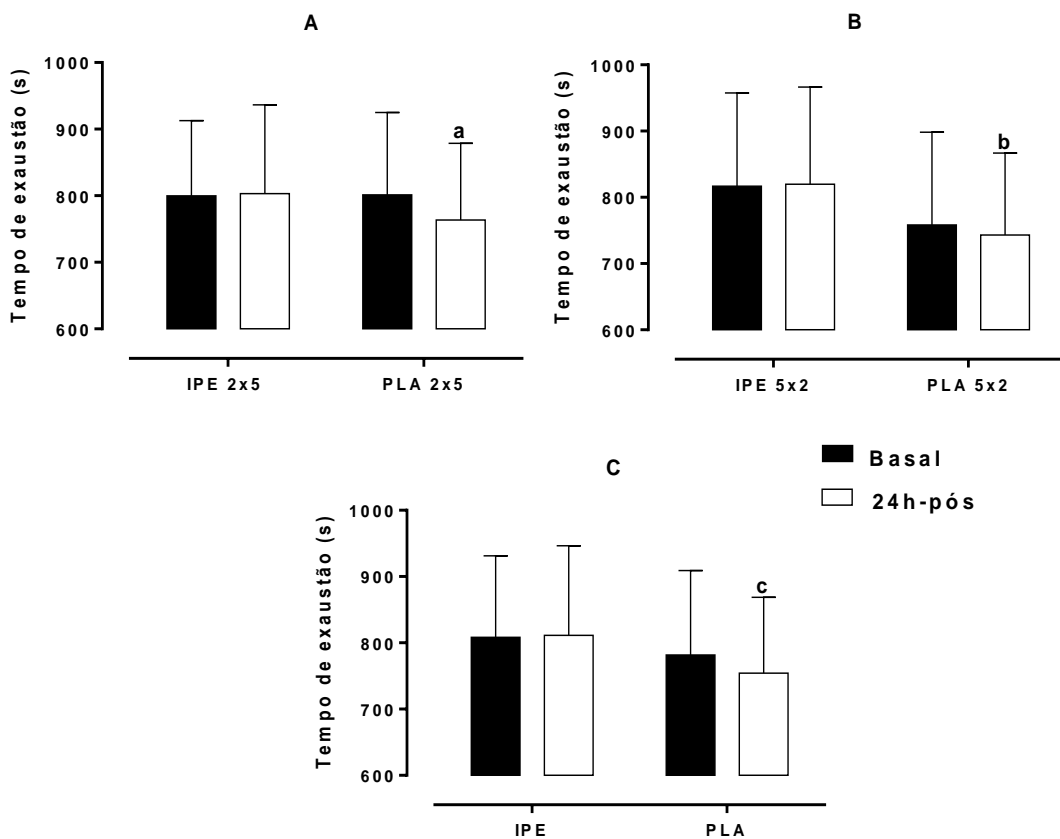


Figura 3 - Tempo de exaustão do teste incremental no momento basal e 24-h pós-manobra: Gráfico **A**: Grupos IPE 2x5 ($n=7$) e PLA 2x5 ($n=7$); **B**: Grupos IPE 5x2 ($n=7$) e PLA 5x2 ($n=7$); e **C**: Grupo IPE 2x5 e 5x2 ($n=14$) e PLA 2x5 e 5x2 ($n=14$). Legenda: IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo. Valores são em média \pm desvio padrão. **a**: $p_{\text{valor}} = 0,015$ do basal; Tamanho do efeito (TE) = 0,32; **b**: $p_{\text{valor}} = 0,046$ do basal; TE = 0,11; **c**: $p_{\text{valor}} = 0,03$ do basal; TE = 0,27.

A percepção de dor da manobra foi mais alta ($p < 0,05$) nos grupos IPE comparado aos grupos PLA (IPE 2x5 ($4,7 \pm 2,1$) = IPE 5x2 ($5,4 \pm 2,2$) > PLA 5x2 ($0,9 \pm 1,2$) = PLA 2x5 ($1,3 \pm 1,6$)). A expectativa de desempenho mostrou uma relação com o desempenho no teste incremental nos grupos IPE (Tabela 3).

Tabela 3 - Expectativa do desempenho 24-h pós-manobra.

	Pior	Similar	Melhor
IPE 2 X 5 (%)	0	100	0
IPE 5 X 2 (%)	29	71	0
PLA 2 X 5 (%)	14,5	71	14,5
PLA 5 X 2 (%)	43	43	14

Valores estão em porcentagens (%) do total de ciclistas por grupo. Legenda: IPE, Isquemia pós-exercício; PLA, Placebo.

DISCUSSÃO

A principal descoberta deste estudo foi que a manobra de IPE acelerou o processo de recuperação e manteve o desempenho 24 horas após um teste de exercício de ciclismo incremental máximo, apoiando nossa hipótese e indicando uma nova ferramenta para ajudar no processo de recuperação do desempenho.

Um importante biomarcador de lesões musculares que tem sido associado a um declínio na função muscular é a concentração sérica de CK (BURT; TWIST, 2011; DAMAS et al., 2016). Após as sessões de treinamento ou competições, a CK é usada para identificar o desgaste muscular e programar o tempo de recuperação apropriado. Nota-se neste estudo, que o aumento da CK não foi alto em comparação com outros (FRANZ et al., 2017). Este fato pode ser explicado, porque o teste incremental é de baixo volume e não é um exercício predominantemente excêntrico. Assim, a aplicação da IPE em exercícios com maiores volumes ou em situações reais de competições de ciclismo, as atenuações da CK podem refletir melhor. Futuros estudos são necessários para examinar esses possíveis efeitos.

Curiosamente, as escores da PSR mostraram que ambos os grupos IPE estavam mais cansados no momento 24-h pós manobra comparado ao basal. A PSR é uma ferramenta validada e muito utilizada para detectar níveis de recuperação de praticantes e atletas entre treinamentos e competições (LAURENT et al., 2011). Embora estivessem mais cansados, as expectativas de desempenho dos ciclistas apresentaram respostas similares com o desempenho no teste incremental (Tabela 3). Do contrário, os grupos PLA indicaram uma condição semelhante 24-h pós manobra comparado ao basal, mas sem associação com a expectativa de

desempenho do teste incremental (Tabela 3). A recuperação é uma sensação de interação que, além do estado metabólico e fisiológico, considera o estado psicológico antes do exercício físico (LAURENT et al., 2011). Nós especulamos que o desconforto experimentado através da aplicação da IPE, mostrada pela escala da dor, pode ter influenciado as respostas da PSR dos ciclistas.

Nossos dados mostram que os ciclistas que realizaram a manobra de IPE preveniram a queda natural do desempenho (tempo para exaustão) 24 horas após um teste incremental até a exaustão. O decréscimo do desempenho após uma competição de longa duração e alta intensidade e com provas acontecendo em dias consecutivos (com duração de até sete dias), ou o alto estresse das sessões de treinamentos são evidenciadas na literatura (CÓRDOVA et al., 2015; HALSON et al., 2002). Neste caminho, as estratégias que aceleram a recuperação dos efeitos estressantes do exercício podem ser importantes, já que uma regularidade de desempenho neste tipo de competição é decisiva (FILHO et al., 2015). Uma possível explicação para nossos achados, é que breves momentos de oclusão vascular seguidos por reperfusão, aumentam o fluxo sanguíneo pós-manobra (LIBONATI et al., 2001), o que poderia manter o fluxo sanguíneo aumentado pós-exercício. Essa manutenção pode aumentar o suprimento de oxigênio para recarga na mioglobina e hemoglobina, ressíntese de ATP e PCr para o músculo exercitado, e entrega de glicose aos músculos (HENRIKSSON; KNOL, 2005) promovendo a síntese de glicogênio, uma vez que, especialmente no início da fase de recuperação, existe uma alta absorção de glicose nos músculos exercitados que precisam reabastecer suas reservas de glicogênio (JENSEN; RICHTER, 2012).

Um outro fato que pode estar ligado a IPE e o processo de recuperação, é a inibição da EROs. Estudos clínicos mostraram que a aplicação da manobra de isquemia/reperfusão reduziu a geração de EROs e lesão por reperfusão, preservando a musculatura miocárdica após isquemia prolongada (JIN et al., 2012; SUN et al., 2005). O estresse metabólico causado pela alta frequência de mobilização de energia de exercícios aeróbios, induz aumentos na geração de EROs que desestabilizam a estrutura da célula muscular e o sistema de excitação/contração, o qual está associado com o decréscimo na função muscular e consequentemente no desempenho esportivo (CÓRDOVA et al., 2015; POWERS; JACKSON, 2008). Além disso, quando o estresse oxidativo é exacerbado pode causar danos às fibras musculares previamente intactas (BARBIERI; SESTILI, 2012; BENTZINGER et al.,

2013). Apesar dos mecanismos ainda não claros, os ciclos de isquemia/reperfusão estão correlacionados com o aumento do óxido nítrico (NO). De acordo com pesquisadores, essa liberação de NO modula o consumo de oxigênio mitocondrial, inibindo a geração de EROs e limitando o dano tecidual (GUO et al., 2011; RAAT; SHIVA; GLADWIN, 2009). Desta forma, especulamos que a IPE pode ter influenciado as respostas da EROs, reduzindo os danos e permitindo a manutenção do desempenho pela aceleração do processo de recuperação.

Poucos estudos têm investigado o efeito da IPE sob a recuperação do desempenho (BEAVEN et al., 2012; BORNE; HAUSSWIRTH; BIEUZEN, 2017). E ainda assim, os resultados são controversos. Em um estudo de Beaven et al. (2012), eles analisaram o efeito da IPE imediatamente e 24 horas depois de um exercício extenuante. Os autores encontraram uma melhora na recuperação da potência em ambos os momentos nos participantes que realizaram os ciclos de isquemia/reperfusão. Esses achados corroboram com o nosso estudo. Entretanto, Borne; Hausswirth; Bieuzen (2017) compararam três tipos de estratégias (estimulação elétrica neuromuscular, IPE e PLA) após induzir fadiga extrema através de um protocolo de três wingates padrão. Depois de uma recuperação de 30 minutos, incluindo a aplicação das estratégias, apenas a estimulação elétrica neuromuscular foi eficiente na recuperação do desempenho e manutenção do fluxo sanguíneo aumentado. No entanto, o seu protocolo de IPE consistiu em um ciclo de oclusão de 24 minutos a uma pressão de 90-110 mmHg. O ciclo único, a baixa pressão e o alto tempo de isquemia, podem ter influenciado as respostas. Além disso, o seu ciclo único promoveu fluxo sanguíneo reduzido durante o tempo de recuperação.

De acordo com alguns estudos, o tempo e o número de ciclos de isquemia/reperfusão podem influenciar as respostas fisiológicas da manobra (COCKING et al., 2017; JOHNSEN et al., 2016). Em relação à aplicação da manobra após o exercício de ciclismo, este é o primeiro estudo que avaliou o efeito de diferentes protocolos de IPE. Conforme observado em nossos resultados, ambos os protocolos (IPE 2x5 e IPE 5x2) foram eficientes na manutenção do desempenho do ciclismo. Assim, parece que tanto o número como o tempo do ciclo são importantes para estimular um efeito da IPE. Porém, um hiper-condicionamento não mostrou benefícios adicionais, assim, como alto ciclo de isquemia (ex: 8 ciclos x 5 minutos) (JOHNSEN et al., 2016). Portanto, a escolha do protocolo deve ser realizada com cuidado.

Este estudo tem algumas limitações. Embora seja um teste bem estabelecido e muito utilizado em pesquisas para avaliar a capacidade e potência aeróbia máxima (CRISAFULLI et al., 2011; DE GROOT et al., 2010), o teste incremental tem um volume não muito alto. Mas as variáveis psicofisiológicas avaliadas pelo teste, estão altamente correlacionadas com características de ciclismo de resistência. Além disso, as análises de CK poderiam ter acontecido em um *time-course* (FRANZ et al., 2017), para observar mudanças no pré-exercício e em vários momentos após o exercício. Para concluir, não medimos os antioxidantes séricos totais para avaliar EROs. Essas limitações são apenas caminhos plausíveis para estudos futuros com a intenção de investigar o efeito da IPE no exercício predominantemente aeróbio.

CONCLUSÃO

Em conclusão, ambas as aplicações agudas das manobras de IPE impediram o declínio natural do desempenho 24 horas após teste incremental máximo, o que sugere um melhor processo de recuperação. Nossas descobertas apoiam a IPE como uma abordagem nova, não invasiva, barata, rápida e fácil, aplicável durante intervalos ou sessões de treinamento, ou em competições ocorridas em dias consecutivos.

REFERÊNCIAS

- BARBIERI, E.; SESTILI, P. Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling. **Journal of Signal Transduction**, v. 2012, p. 982794, 2012.
- BARNETT, A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 36, n. 9, p. 781–796, 2006.
- BEAVEN, C. M. et al. Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme**, v. 37, n. 6, p. 1132–1139, dez. 2012.
- BENTZINGER, C. F. et al. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. **EMBO reports**, v. 14, n. 12, p. 1062–1072, dez. 2013.
- BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.
- BORNE, R.; HAUSSWIRTH, C.; BIEUZEN, F. Relationship Between Blood Flow and Performance Recovery: A Randomized, Placebo-Controlled Study. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 12, n. 2, p. 152–160, fev. 2017.

BURT, D. G.; TWIST, C. The effects of exercise-induced muscle damage on cycling time-trial performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 8, p. 2185–2192, ago. 2011.

COCKING, S. et al. Is There an Optimal Ischaemic Preconditioning Dose to Improve Cycling Performance? **International Journal of Sports Physiology and Performance**, p. 1–25, 28 jun. 2017.

CÓRDOVA, A. et al. Oxidative stress markers after a race in professional cyclists. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 25, n. 2, p. 171–178, abr. 2015.

CÓRDOVA MARTÍNEZ, A. et al. Changes in circulating cytokines and markers of muscle damage in elite cyclists during a multi-stage competition. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 35, n. 5, p. 351–358, set. 2015.

CRISAFULLI, A. et al. Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygen uptake in humans. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 111, n. 2, p. 530–536, ago. 2011.

CRUZ, R. S. DE O. et al. Effects of ischemic preconditioning on maximal constant-load cycling performance. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 119, n. 9, p. 961–967, 1 nov. 2015.

DAMAS, F. et al. Susceptibility to Exercise-Induced Muscle Damage: a Cluster Analysis with a Large Sample. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 8, p. 633–640, jul. 2016.

DE GROOT, P. C. E. et al. Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 1, p. 141–146, jan. 2010.

FERNANDES, A. L. et al. Effect of time of day on performance, hormonal and metabolic response during a 1000-M cycling time trial. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e109954, 2014.

FILHO, E. et al. Athletic performance and recovery-stress factors in cycling: An ever changing balance. **European Journal of Sport Science**, v. 15, n. 8, p. 671–680, 2015.

FRANZ, A. et al. Ischemic Preconditioning Blunts Muscle Damage Responses Induced by Eccentric Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, 22 ago. 2017.

GUO, J. Y. et al. Ischemic postconditioning attenuates liver warm ischemia-reperfusion injury through Akt-eNOS-NO-HIF pathway. **Journal of Biomedical Science**, v. 18, p. 79, 28 out. 2011.

HALSON, S. L. et al. Time course of performance changes and fatigue markers during intensified training in trained cyclists. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 93, n. 3, p. 947–956, set. 2002.

HENRIKSSON, J.; KNOL, M. A single bout of exercise is followed by a prolonged decrease in the interstitial glucose concentration in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 185, n. 4, p. 313–320, dez. 2005.

HOFMANN, P.; POKAN, R. Value of the application of the heart rate performance curve in sports. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 5, n. 4, p. 437–447, dez. 2010.

HOPKINS, W. G. et al. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 1, p. 3–13, jan. 2009.

IMPELLIZZERI, F. M.; MARCORA, S. M. The physiology of mountain biking. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 37, n. 1, p. 59–71, 2007.

INCOGNITO, A. V.; BURR, J. F.; MILLAR, P. J. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 46, n. 4, p. 531–544, abr. 2016.

JENSEN, T. E.; RICHTER, E. A. Regulation of glucose and glycogen metabolism during and after exercise. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 5, p. 1069–1076, 1 mar. 2012.

JEUKENDRUP, A. E.; CRAIG, N. P.; HAWLEY, J. A. The bioenergetics of World Class Cycling. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 3, n. 4, p. 414–433, dez. 2000.

JIN, C. et al. Mitochondrial K⁺ channels are involved in ischemic postconditioning in rat hearts. **The journal of physiological sciences: JPS**, v. 62, n. 4, p. 325–332, jul. 2012.

JOHNSEN, J. et al. The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle duration and effector organ mass on efficacy of protection. **Basic Research in Cardiology**, v. 111, n. 2, p. 10, mar. 2016.

LALONDE, F.; CURNIER, D. Y. Can anaerobic performance be improved by remote ischemic preconditioning? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 29, n. 1, p. 80–85, jan. 2015.

LAURENT, C. M. et al. A practical approach to monitoring recovery: development of a perceived recovery status scale. **Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association**, v. 25, n. 3, p. 620–628, mar. 2011.

LIBONATI, J. R. et al. Brief muscle hypoperfusion/hyperemia: an ergogenic aid? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 15, n. 3, p. 362–366, ago. 2001.

LIEM, D. A. et al. Sites of action of adenosine in interorgan preconditioning of the heart. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 283, n. 1, p. H29-37, jul. 2002.

MAROCOLO, I. C. et al. Acute ischemic preconditioning does not influence high-intensity intermittent exercise performance. **PeerJ**, v. 5, p. e4118, 30 nov. 2017.

MAROCOLO, M. et al. Myths and Facts About the Effects of Ischemic Preconditioning on Performance. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 87–96, fev. 2016a.

MAROCOLO, M. et al. Ischemic Preconditioning and Placebo Intervention Improves Resistance Exercise Performance. **Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association**, v. 30, n. 5, p. 1462–1469, maio 2016b.

MAROCOLO, M. et al. Beneficial Effects of Ischemic Preconditioning in Resistance Exercise Fade Over Time. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 10, p. 819–824, set. 2016c.

MUJIKA, I.; PADILLA, S. Physiological and performance characteristics of male professional road cyclists. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 31, n. 7, p. 479–487, 2001.

NYBO, L. et al. Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 5, p. 860–868, maio 2013.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 4, p. 1243–1276, out. 2008.

RAAT, N. J. H.; SHIVA, S.; GLADWIN, M. T. Effects of nitrite on modulating ROS generation following ischemia and reperfusion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, n. 4, p. 339–350, 28 abr. 2009.

RASSAF, T. et al. Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning. **Circulation Research**, v. 114, n. 10, p. 1601–1610, 9 maio 2014.

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

ROBERTSON, R. J. et al. Validation of the adult OMNI scale of perceived exertion for cycle ergometer exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 1, p. 102–108, jan. 2004.

SAGHAEI, M. Random allocation software for parallel group randomized trials. **BMC medical research methodology**, v. 4, p. 26, 9 nov. 2004.

SHARMA, V. et al. From Protecting the Heart to Improving Athletic Performance - the Benefits of Local and Remote Ischaemic Preconditioning. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, 19 out. 2015.

SKILLEN, R. A. et al. Effects of an amino acid carbohydrate drink on exercise performance after consecutive-day exercise bouts. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 18, n. 5, p. 473–492, out. 2008.

STAPELFELDT, B. et al. Workload demands in mountain bike racing. **International Journal of Sports Medicine**, v. 25, n. 4, p. 294–300, maio 2004.

SUN, H.-Y. et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca²⁺ overload. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 4, p. H1900-1908, abr. 2005.

WIRNITZER, K. C.; KORNEXL, E. Exercise intensity during an 8-day mountain bike marathon race. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 999–1005, dez. 2008.

YANTURALI, S. et al. Injury and illness among athletes during a multi-day elite cycling road race. **The Physician and Sportsmedicine**, v. 43, n. 4, p. 348–354, nov. 2015.

ZHANG, L.; MA, J.; LIU, H. Protective effect of ischemic postconditioning against ischemia reperfusion-induced myocardium oxidative injury in IR rats. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 4, p. 3805–3817, 27 mar. 2012.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do pré-condicionamento isquêmico como uma estratégia para melhorar o desempenho no exercício ainda é controverso. A reaplicação de protocolos e a não investigação dos mesmos, podem ser uma das razões de resultados inconsistentes. Portanto, deve-se ter cautela no momento de escolher o protocolo, pois o tempo e o número de ciclos de IPC podem não ser os mesmos para produzir um efeito pré-condicionante.

Mesmo com os efeitos positivos, ainda existe um vácuo não preenchido pelos pesquisadores da área esportiva sobre o real mecanismo do IPC que induz a melhora do desempenho no exercício. Assim como mostrado em nosso estudo, as pesquisas indicam que o estímulo é sistêmico e não local. Entretanto, mais estudos voltados para área esportiva devem ser produzidos para elucidar melhor o efeito do tempo e número das isquemias, bem como os mecanismos envolvidos no IPC.

Além do IPC a IPE também foi eficiente, mas como uma estratégia de recuperação do desempenho após 24 horas de um teste incremental até a exaustão. Apesar de poucas evidências acerca do uso da IPE, a estratégia é promissora e precisa ser mais investigada.

REFERÊNCIAS

- BAILEY, T. G. et al. Effect of ischemic preconditioning on lactate accumulation and running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 44, n. 11, p. 2084–2089, nov. 2012.
- BARNETT, A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 36, n. 9, p. 781–796, 2006.
- BEAVEN, C. M. et al. Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme**, v. 37, n. 6, p. 1132–1139, dez. 2012.
- BORNE, R.; HAUSSWIRTH, C.; BIEUZEN, F. Relationship Between Blood Flow and Performance Recovery: A Randomized, Placebo-Controlled Study. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 12, n. 2, p. 152–160, fev. 2017.
- BURT, D. G.; TWIST, C. The effects of exercise-induced muscle damage on cycling time-trial performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 8, p. 2185–2192, ago. 2011.
- CARROLL, C. M. et al. Acute ischemic preconditioning of skeletal muscle prior to flap elevation augments muscle-flap survival. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 100, n. 1, p. 58–65, jul. 1997.
- CHORLEY, A.; LAMB, K. L. The effects of a cycling warm-up including high-intensity heavy-resistance conditioning contractions on subsequent 4 km time trial performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, 25 mar. 2017.
- COCKING, S. et al. Is There an Optimal Ischaemic Preconditioning Dose to Improve Cycling Performance? **International Journal of Sports Physiology and Performance**, p. 1–25, 28 jun. 2017.
- CÓRDOVA, A. et al. Oxidative stress markers after a race in professional cyclists. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 25, n. 2, p. 171–178, abr. 2015.
- CRISAFULLI, A. et al. Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygen uptake in humans. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 111, n. 2, p. 530–536, ago. 2011.
- FRADKIN, A. J.; ZAZRYN, T. R.; SMOLIGA, J. M. Effects of warming-up on physical performance: a systematic review with meta-analysis. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 1, p. 140–148, jan. 2010.
- FRANZ, A. et al. Ischemic Preconditioning Blunts Muscle Damage Responses Induced by Eccentric Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, 22 ago. 2017.

HALSON, S. L. et al. Time course of performance changes and fatigue markers during intensified training in trained cyclists. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 93, n. 3, p. 947–956, set. 2002.

HALSON, S. L.; JEUKENDRUP, A. E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 34, n. 14, p. 967–981, 2004.

HENRIKSSON, J.; KNOL, M. A single bout of exercise is followed by a prolonged decrease in the interstitial glucose concentration in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 185, n. 4, p. 313–320, dez. 2005.

IMPELLIZZERI, F. M.; MARCORA, S. M. The physiology of mountain biking. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 37, n. 1, p. 59–71, 2007.

INCOGNITO, A. V.; BURR, J. F.; MILLAR, P. J. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 46, n. 4, p. 531–544, abr. 2016.

JEAN-ST-MICHEL, E. et al. Remote preconditioning improves maximal performance in highly trained athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1280–1286, jul. 2011.

JIN, C. et al. Mitochondrial K⁺ channels are involved in ischemic postconditioning in rat hearts. **The journal of physiological sciences: JPS**, v. 62, n. 4, p. 325–332, jul. 2012.

JOHNSEN, J. et al. The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle duration and effector organ mass on efficacy of protection. **Basic Research in Cardiology**, v. 111, n. 2, p. 10, mar. 2016.

LANFERDINI, F. J. et al. Low-Level Laser Therapy Improves Performance and Reduces Fatigue in Competitive Cyclists. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, p. 1–27, 19 abr. 2017.

LIBONATI, J. R. et al. Brief periods of occlusion and reperfusion increase skeletal muscle force output in humans. **Cardiologia (Rome, Italy)**, v. 43, n. 12, p. 1355–1360, dez. 1998.

LIBONATI, J. R. et al. Brief muscle hypoperfusion/hyperemia: an ergogenic aid? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 15, n. 3, p. 362–366, ago. 2001.

MAROCOLO, M. et al. Myths and Facts About the Effects of Ischemic Preconditioning on Performance. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 87–96, fev. 2016.

MURRY, C. E.; JENNINGS, R. B.; REIMER, K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. **Circulation**, v. 74, n. 5, p. 1124–1136, nov. 1986.

PANG, C. Y. et al. Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. **Cardiovascular Research**, v. 29, n. 6, p. 782–788, jun. 1995.

RASSAF, T. et al. Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning. **Circulation Research**, v. 114, n. 10, p. 1601–1610, 9 maio 2014.

SALVADOR, A. F. et al. Ischemic Preconditioning and Exercise Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 11, n. 1, p. 4–14, jan. 2016.

SEEGER, J. P. H. et al. Is delayed ischemic preconditioning as effective on running performance during a 5km time trial as acute IPC? **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 20, n. 2, p. 208–212, fev. 2017.

STAPELFELDT, B. et al. Workload demands in mountain bike racing. **International Journal of Sports Medicine**, v. 25, n. 4, p. 294–300, maio 2004.

TOCCO, F. et al. Muscle ischemic preconditioning does not improve performance during self-paced exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 1, p. 9–15, jan. 2015.

WIRNITZER, K. C.; KORNEXL, E. Exercise intensity during an 8-day mountain bike marathon race. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 999–1005, dez. 2008.

YANTURALI, S. et al. Injury and illness among athletes during a multi-day elite cycling road race. **The Physician and Sportsmedicine**, v. 43, n. 4, p. 348–354, nov. 2015.

ZHANG, L.; MA, J.; LIU, H. Protective effect of ischemic postconditioning against ischemia reperfusion-induced myocardium oxidative injury in IR rats. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 4, p. 3805–3817, 27 mar. 2012.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido TCLE

Nome:

I - TÍTULO DO TRABALHO EXPERIMENTAL:

**“EFEITO AGUDO DO PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO E PÓS
CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO SOBRE O DESEMPENHO E RECUPERAÇÃO
DE CICLISTAS”**

Pesquisador Responsável: Hiago Leandro Rodrigues de Souza e Rhaí André Arriel e Oliveira

II - OBJETIVOS

Avaliar o efeito agudo da aplicação do Pré condicionamento isquêmico (IPC) e a isquemia pós-exercício (IPE) sobre o desempenho esportivo e a recuperação em ciclistas treinados.

IV - PROCEDIMENTOS DO EXPERIMENTO

AMOSTRA

Serão realizados dois estudos sendo o estudo 1 sobre o pré-condicionamento isquêmico e o estudo 2 isquemia pós-exercício. O estudo 1 será recrutado 35 adultos, entre 18 a 40 anos, sendo todos treinados em ciclismo de forma recreacional. E o estudo 2 recrutando 28 adultos, entre 18 a 40 anos também treinados. Os mesmos não apresentam nenhum problema de saúde que impeça a prática do exercício proposto. Os adultos treinados da modalidade de ciclismo de estrada ou mountain bike, terão uma experiência de no mínimo 1 ano, com frequência de treinamento mínima de duas vezes por semana, planejados por um profissional capacitado.

Previamente aos testes, todos os adultos participantes da pesquisa deverão apresentar um atestado de liberação médica para a prática de atividade física e assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

EXAMES

Ambos os experimentos serão realizados na Academia Performance – Perdões - MG. No estudo 1 cada indivíduo deverá comparecer três dias ao local de testes (primeira, segunda e terceira visita), e no estudo 2 quatro dias (primeira, segunda, terceira e quarta visita), com visitas de aproximadamente 1h cada dia, conforme o cronograma de atividade em anexo. Abaixo estão descritos os procedimentos a serem realizados em ambos os estudos.

A primeira visita será realizada para familiarizar os indivíduos com o centro de testes, avaliadores da pesquisa, equipamentos utilizados para a coleta de dados e para explicar todas as dúvidas dos participantes sobre os testes. Haverá a coleta do TCLE, as variáveis antropométricas (Massa corporal, estatura, percentual de gordura), será apresentada a Escala de Percepção Subjetiva de Esforço, de recuperação e de dor. Após 72 horas os voluntários voltarão para segunda visita, e realizarão o teste progressivo na bicicleta até a exaustão voluntária.

A terceira visita ter um intervalo de 48 horas após a segunda. Anteriormente ao teste progressivo, haverá coleta de sangue dos voluntários (apenas no estudo 2) realizada por um técnico especializado (todos os materiais para a coleta de sangue serão descartáveis e individuais) e aplicado a manobra de pré condicionamento isquêmico (apenas no estudo 1). Ao final do teste progressivo, após 10 minutos de volta a calma, o avaliado realizará a manobra de pós condicionamento isquêmico (apenas no estudo 2).

A quarta visita que acontecerá após 24 horas da terceira visita, apenas os avaliados do estudo 2 irão realizar novamente a coleta de sangue e posteriormente o teste progressivo na bicicleta. Os testes serão realizados em clima considerados ideais do ambiente para se praticar exercício físico. Caso aconteça alguma intercorrência devido a sua participação ao estudo, o atleta será levado se necessário ao Hospital da cidade de Perdões - MG custeado pelos pesquisadores.

O procedimento de IPC e IPE serão realizados com todo o cuidado e previamente estudado e testado pelos avaliadores. A pressão do manguito (Esfigmomanômetro aneróide) será específico para cada indivíduo.

V - RISCOS ESPERADOS

- Os testes podem causar certo desconforto na realização do pré condicionamento isquêmico, pós condicionamento isquêmico e físico ao

avaliado por ser levado a um esforço físico máximo. Estes desconfortos físicos podem ser cansaço durante e após o teste, um pouco de dor muscular tardia (se inicia por volta de 24 a 48 horas depois do exercício e a dor sessa por volta de 72 horas após o exercício). Assim, qualquer problema além dos citados ou em excesso deve ser comunicado imediatamente aos avaliadores. No entanto, vale ressaltar que apenas adultos treinados e com atestado médico para prática de treinamento de força participarão da pesquisa.

- Os avaliados durante a coleta de sangue, podem sentir certo desconforto na introdução da agulha no antebraço. Entretanto, este possui a escolha de continuidade ou não da realização do teste sanguíneo.

VI – BENEFÍCIOS

Fornecer informações em relação à resposta do desempenho no ciclismo como da recuperação provocados pela manobra do IPC e IPE de forma aguda, bem como pelas alterações fisiológicas provocadas pela mesma.

VII - RETIRADA DO CONSENTIMENTO

O próprio sujeito tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo ao atendimento a que está sendo ou será submetido.

VIII – CRITÉRIOS PARA SUSPENDER OU ENCERRAR A PESQUISA

Caso ocorra algum risco ou imprevisto, a pesquisa será encerrada imediatamente. Caso contrário, a pesquisa possivelmente será encerrada ao final dos experimentos.

IX - CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

PARTICIPANTE MAIOR DE IDADE

Eu _____,

certifico que, tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido (a) de todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa exposto acima.

Uberaba, _____ de _____ de 20__.

NOME (legível): _____ RG _____

ASSINATURA: _____

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da UFTM. Endereço: Programa de Pós-Graduação em Educação Física – UFTM. Av. Tutunas, 490 – Bairro Tutunas – Uberaba – MG - CEP: 38061-500. Telefone: (34) 3700-6633, falar com Angélica (secretária).

No caso de qualquer emergência entrar em contato com o pesquisador responsável no Departamento de Educação Física. Telefones de contato: (35) 99869-2351 (Rhaí); (35) 99227-9328 (Hiago)

**APÊNDICE B – ARTIGO FORMATADO AOS MOLDES DA REVISTA
PLOS ONE**

ISSN: 1932-6203

PERIÓDICOS QUALIS – Classificação: A1

**Acute ischemia post-exercise attenuates performance decreases in
cycling test**

Short Title: Post-exercise ischemia accelerates recovery of cyclists

Rhaí Arriel¹, Hiago de Souza¹, Gustavo da Mota¹, Moacir Marocolo^{2*}

¹ Human Performance and Sport Research Group, Department of Sport Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil.

² Department of Physiology, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

* Corresponding author

E-mail: isamjf@gmail.com

Abstract

Brief moments of blood flow occlusion followed by reperfusion result in increased blood flow, inhibition of reactive oxygen species and creatine kinase and lactate dehydrogenase generation. Thus, the aim this study was evaluate the effect of ischemia post-exercise (IPE) on recovery and physiological variables of trained cyclists. In a randomized sigle-blind model, on three different days, 28 trained cyclists (27.1 ± 1.4 years) were divided into four groups undergone 2 cycles of 5 minutes occlusion/5 min reperfusion (IPE and SHAM 2x5) or 5 cycles of 2 min occlusion/2min reperfusion (IPE and SHAM 5x2), unilaterally alternated at proximal region of thighs, for both IPE (50 mmHg pressure above systolic; promoted blood flow occlusion) or SHAM (30 mmHg pressure; no blood flow occlusion) interventions. The cyclists were informed that both SHAM and IPE would accelerate the recovery process after exercise. The cuff administration (IPE and SHAM) were performed five minutes after an incremental cycling test until exhaustion. Post 24 hours, the SHAM groups decreased performance compared to baseline (2x5: $p < 0.05$; 5x2: $p < 0.05$) test while IPE groups maintained their performance (2x5: $p > 0.05$; 5x2: $p > 0.05$). In conclusion, IPE promoted faster recovery performance 24-hour post-exercise recovery in trained cyclists.

Introduction

High-performance cross-country mountain bike and road cycling requires high-volume and intensity sessions and involves many competitions during the training plan. Theses modalities consists of consecutive races, generally in two (115-240 minutes each day) or even eight days (e.g., ultra-marathons mountain bike) [1,2]. During these competitions, high-intensity events coupled with short recovery times between the trials, promotes fatigue affecting speed recovery and performance after hours/days [3].

In this hand, it has been applied post-exercise recovery strategies to reduce fatigue and muscle soreness, attenuate performance decrements and accelerate recovery along training sessions or subsequent competitions [4,5]. Currently, the ischemia-reperfusion (IR) method has been applied to maximize sports performance [6] and accelerate the recovery process [7] after several modalities. In fact, this maneuver results in increased blood flow [8] associated with elevated nitric oxide level

[9] and increases in adenosine production [10]. This event could maintain post-exercise blood flow and is related to a faster performance recovery [11]. Also, IR intervention inhibits the reactive oxygen species (ROS) [12] and creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase [13] generation. All these responses may provide a recovery benefit from exercise and ischemia-reperfusion could promote protection for skeletal musculature [14].

Rew scientific studies investigate the effectiveness of IPE in increasing exercise recovery. Borne et al. [11], investigated the IPE effect on the cycling performance recovery after three standard Wingate tests. After 30 minutes of recovery including 24 minutes of IPE application, no change in the single Wingate test performance was reported. However, the high occlusion time may have influenced the IPE effect, because a occlusion above 10 minutes has not demonstrated any influence [15]. In contrast, Beaven et al. [7] used the blood flow restriction/reperfusion as a recovery strategy after an exercise of repeated sprints and reported improvement in countermovement and squat jump after 24 hours of recovery.

Therefore, the use of blood flow restriction/reperfusion as a recovery strategy post-exercise can assist in cycling performance recovery process, but its application and its effects are still not consistent. Thus, this study aimed to evaluate the acute effect of post-exercise ischemia on recovery of performance and physiological variables of trained cyclists. We hypothesized that IPE will accelerate the recovery process and it will attenuate the performance loss 24 hours after a cycling exercise until exhaustion.

Materials and methods

Participants

Twenty-eight male cyclists voluntarily participated in this research. All cyclists were healthy and trained and to be included they should reach at least 250 W or more in the incremental test [16]. Table 1 shows the participants characteristics. The exclusion criteria adopted in this study were: i) have any cardiovascular or metabolic disease; ii) caffeine supplement usage; iii) exogenous drugs, anabolic-androgenic steroids or any potential substance that could promote improvement in exercise

performance usage; iv) smoking history; and v) musculoskeletal, bone or joint injury that could limit the proposed exercise execution. This information was identified in the participants' self-reports through a questionnaire. The study was approved by the local ethics committee (N.2.250.458) for human experiments and was performed in accordance with Helsinki declaration. In addition, all subjects signed an informed consent form.

Table 1 near here

Experimental Design

This study is a randomized single-blind (researchers only) trial with SHAM. The volunteers were allocated to 1 of 4 intervention modalities (IPE 2 x 5, n = 7; IPE 5 x 2, n = 7; SHAM 2 x 5 n = 7; e SHAM 5 x 2 n = 7) according to counterbalanced peak power ($W \cdot Kg^{-1}$) achieved in the familiarization incremental test [17]. All tests were performed in the laboratory with temperature ($21.9 \pm 1.3^{\circ} C$) and relative humidity ($72.3 \pm 7.9 \%$) monitored. Cyclists attended the laboratory at four different days separated, and at the same time and time of the day to prevent circadian influences [18]. At the first visit, the cyclists were asked to maintain the standard feeding during the test days, and they were oriented not to perform any moderate or intense physical exercise 48 hours before the first testing day. After 72 hours, they attended again the laboratory and performed the first incremental test to exhaustion for familiarization. The same incremental test was performed on the next two visits, with a 48- and 24-hour interval respectively.

The third visit was performed 48 hours after the second, to eliminate any remnants of the first incremental test [19]. In this visit, a blood sample (ml) (for creatine kinase analysis) was collected from the volunteers. Lower limb muscle soreness and recovery level were also verified, and then the baseline incremental test was performed. After the incremental test, the cyclists were taken into a room for the IPE or SHAM maneuver in the lower limbs and at the end of the application, the pain perception of both procedures was evaluated. To prevent the possibility of a placebo and nocebo effect found in studies applying ischemic conditions, we informed the volunteers that both maneuvers would improve their performance on the next test day

and would cause no harm, despite potential discomfort related to the maneuvers [20–22]. Twenty four hours after the third visit, the cyclists returned to the lab for the four test day [7]. A blood sample was collected again, assessed the muscular soreness and the recovery level, evaluated the expectation of performance in relation to the last one and then, they performed the incremental test. Figure 1 shows the experimental design of this study.

*****Figure 1 near here*****

Creatine kinase measurement

An experienced and trained professional performed the blood collection for creatine kinase (CK) analysis. Before the exercise, it was collected approximately 5 ml of venous blood in the region of the forearm. Blood samples were collected at baseline and 24 hours post-exercise [23,24]. Carefully, the blood was transferred to tubes and centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes. After this, the CK was accounted by commercially available analytical kits (Reagent Ck-NAC, Labtest Diagnostic S.A.®, Lagoa Santa, Brazil). Sample dosing was done using the LW200 Labteste®.

Muscle soreness measurement

A visual analog scale (VAS) was used to assess the cyclist's muscle soreness 24 hours post-exercise. Through palpation of the thigh and calf (anterior and posterior), the volunteers should point out in the VAS the point that reflected their soreness. The scale varied from 0 to 10 and it has markings, where: 0 is no pain; 1-2 light pain; 3-7 moderate pain; and 8-10 severe pain [25]. The evaluation was performed on the second and third days. On both days it was applied before blood collection and incremental testing. The pain perception of the IPE and SHAM maneuver was evaluated using the same scale. The analysis was performed immediately after the end of the maneuver.

Incremental Test

The three incremental tests were performed in the same cycloergometer (Monark 839 E, Sweden). Before starting the last incremental test was verified the performance expectation of cyclists through the following question: "what is your expectation of performance about the last test performed: Worse, similar or best? ". The height and saddle and handlebars positions were regulated by the cyclists themselves and maintained in all sessions. Before performing the incremental test, the recovery level was evaluated through the subjective perception of recovery scale [26], and performed a 4-minute warm-up at 40 watts. After the warm-up, it was started the incremental test. The initial test power was equal to 40 W, increasing by 20 W/min until the voluntary exhaustion. The constant cadence of 80 to 90 rpm was maintained. The incremental test was based on other similar studies [27,28]. In the last 10 seconds of each stage, the heart rate (HR) (Polar®, RS800CX, Finland) and RPE (using a Borg scale [29] adapted to the cycling exercise proposed by Robertson et al. [30]) were recorded for further analysis. Also, the power (Cefise®, software Ergometric 6.0) was also recorded during all test. When the subject gave up on continuing the test, HR recovery was recorded during 5 minutes in the position of dorsal decubitus. The test was considered maximum when voluntaries was unable to maintain pedaling of at least 80 rpm and reached at least 95% the maximum predicted HR ($220 - \text{age}$) [31].

Ischemic post exercise intervention

The procedures had a total of 25 minutes, where 5 minutes was transition from the end of the incremental test and 20 minutes of the IPE application. The IPE maneuver consisted of 2 cycles of 5 minutes of vascular occlusion with 5 minutes of vascular reperfusion or; 5 cycles of 2 minutes of vascular occlusion with 2 minutes of vascular reperfusion. We used these settings based on a study of Beaven et al. [7], and searching IR protocols with faster and easier application in sports settings [32]. Both procedures were unilaterally alternated and used a pressure of 50 mmHg above systolic blood pressure of each subject [33] in occlusion and 0 mmHg in reperfusion. The SHAM protocol was performed in the same manner as the IPE protocol, but the occlusion was simulated with a pressure of 20 mmHg. Blood flow was constantly checked by auscultation of the anterior tibiae artery [22] during the maneuvers, and we confirmed occlusion/reperfusion phases properly. The occlusion was performed

through a blood pressure cuff (77 x 21.5 with extent 35 - 55 cm) applied to the sub inguinal region of the upper thigh.

Statistical Analysis

The data normality was tested through the Shapiro-Wilk test. Data were presented as mean \pm standard deviation. The comparison of the baseline and 24-h post of each group was made by a student paired t-test. One-way ANOVA was conducted to analyze the difference between the groups, followed by the Bonferroni's post-hoc test. The Cohen d effect size (ES) was calculated, and the magnitude was classified as: small (0.2), moderate (0.6) and large (1.2) [34]. It was considered a level of significance equal of 0.05. The program GraphPad (PRISM[®], 6.0, San Diego, USA) was for data analysis.

Results

All cyclists completed the three days of testing. The data presented in table 1 show the similarity between the groups ($p > 0.05$) before the interventions.

All groups increased CK at the moment 24-h post compared baseline ($p < 0.05$) (Effect size: IPE 2x5 = -0.32; SHAM 2x5 = -0.79; IPE 5x2 = -0.11 and SHAM 5x2 = -0.20) (fig 2). However, mean CK was similar between groups at both moments ($p > 0.05$) (baseline and 24-h post).

*****Figure 2 near here*****

No difference in perception of muscle soreness was found in baseline and 24-h post of the groups, as well as between groups ($p > 0.05$). The perception of recovery scores showed that the IPE groups (2x5 and 5x2) were more tired at the moment 24-h post ($p < 0.05$). After 24 h of the IPE maneuver application, no changes were observed in the mean, maximum and recovery HR ($p > 0.05$). Out of HR, the power output also did not differ in any of the moments ($p > 0.05$). All these information are shown in table 2.

***** Table 2 near here*****

The cyclists that performed IPE maneuver obtained small increases in time of exhaustion of incremental test (IPE 2 x 5 = 3.3 s; IPE 5 x 2 = 2.9 s) 24-h post maneuver, but similar ($P > 0.05$) to basal time. On the other hand, both SHAM groups declined ($P < 0.05$) their performance at the moment 24-h post (SHAM 2x5 = -37.9 s (4.7%); SHAM 5x2 = -17.0 s (2.2%) (Fig 3A and Fig 3B). No differences were found between groups at baseline and 24-h post ($p > 0.05$) (Fig 3A and Fig 3B). Comparing the cyclists who did the IPE ($n=14$) and SHAM ($n=14$) procedures, we found a decrement ($P < 0.05$) in the performance (24-h later) just in SHAM maneuver (Fig 3C).

***** Figure 3 near here *****

The IPE maneuver pain perception was higher ($p < 0.05$) in the IPE groups compared to the SHAM groups (IPE 2x5 (4.7 ± 2.1) = IPE 5x2 (5.4 ± 2.2) > SHAM 5x2 (0.9 ± 1.2) = SHAM 2x5 (1.3 ± 1.6). The performance expectation showed a relation with the performance in the incremental test in the IPE groups (table 3).

***** Table 3 near here*****

Discussion

The main finding in this study was that the IPE maneuver accelerated the recovery process and performance 24-hours after a maximal incremental cycling exercise test, supporting our hypothesis, indicating a new tool to aid in the recovery process.

An essential biomarker of muscle injuries and that has been associated with a decline in muscle function is CK serum concentration [35,36]. After training sessions, CK is used to identify muscle fatigue and schedule appropriate recovery time. It is noted that CK increase was not high compared to other studies [37]. These fact is that incremental test is low volume and not is predominantly eccentric exercise. Thus, it may be that the application of IPE in exercises with higher volumes may better reflect the attenuations of CK. Future studies are needed to examine these possible effects.

Interestingly, the PSR scores showed that both IPE groups were more tired at the moment 24-h post compared to baseline. The PSR is a validated and very used tool to detect practitioners and athletes recovery level between training and competitions [26]. Although they were more tired, the cyclist's performance expectations (table 3) presented similar responses with incremental test performance. Otherwise, the SHAM groups indicated a similar condition 24h post compared to the baseline, but without tuning the expectation of performance with the incremental test. The recovery is an interaction sensation that besides metabolic and physiologic state, considers the psychological state before physical exercise [26]. Thus, we speculate that the discomfort experienced throughout IPE application, showed by pain scale may have influenced the cyclists' PSR responses.

Our data showed that IPE prevented the natural drop in cyclists performance (time to exhaustion) 24 hours after a progressive cycling exercise until exhaustion. The decrease in performance after a competition with high-intensity, long-lasting and with the races occurring on consecutive days (lasting up to seven days) or the high stress of training sessions are evidenced in the literature [3,38]. In this way, strategies that accelerate the regeneration of the exercise stressful effects may be important, since a regularity of performance in this type of competition is decisive [39]. A possible explanation for our findings, is that briefs blood flow occlusion/reperfusion increases blood flow [8], maintaining increased blood flow after exercise. This maintaining blood flow can increase oxygen supply by recharging myoglobin and hemoglobin, ATP and PCr resynthesis to exercise muscle and delivery of glucose to muscles [40] promoting the glycogen synthesis, since, especially at the beginning of the recovery phase, there is a high glucose absorption in the exercised muscles that need to replenish their glycogen stores [41].

Another fact that may be associated with IPE and the recovery process is the inhibition of ROS. Clinical studies have shown that the ischemia/reperfusion application, reduced the ROS generation and reperfusion injury, preserving myocardial musculature after prolonged ischemia [12,42]. The metabolic stress caused by the high frequency of aerobic energy mobilization exercises, induce increases in the generation of ROS that destabilize the structure of the muscle cell and the excitation-contraction system which is associated with a decrease in muscle function and consequently in sports performance [38,43]. When oxidative stress is exacerbated may cause damage to previously undamaged muscle fibers [44]. Despite the mechanisms still included,

the ischemia/reperfusion cycles are correlated with an increase of nitric oxide (NO). This NO liberation modulates the consumption of mitochondrial oxygen, inhibiting the generation of ROS and limiting tissue damage [14]. In this way, we speculate that the IPE application may have influenced the ROS responses, reducing damage, allowing performance to be sustained by accelerating the recovery process.

Few studies have investigated the effect of IPE on performance recovery [7,11]. In a study of Beaven et al. [7], they analyzed the effect of IPE immediately and 24 after a strenuous exercise. The authors found an improvement in the power recovery at both times on the participants that performed cycles of ischemia/reperfusion. These findings corroborate with our study. However, Borne et al. [11] compared three kind of strategies (Neuromuscular electrical stimulation, IPE, and SHAM) after inducing extreme fatigue through a three Wingates protocol. After a 30-minute recovery including the application of the strategies, only neuromuscular electrical stimulation strategy was effective in the recovery and maintenance of increased blood flow. However, their IPE protocol consisted of a 24-minutes occlusion ischemia cycle at a pressure of 90-110 mmHg. The single cycle, low pressure and high ischemia time, might influence the responses. Also, their single cycle promoted reduced blood flow during a considerable recovery time.

According to some studies, the time and number of cycles of ischemia / reperfusion may influence the physiological responses of the maneuver [15,45]. In relation the application of the maneuver after cycling exercise, no study evaluated the effect of different IPE protocols. As seen in our results, both protocols (IPE 2x5 and IPE 5x2) were efficient in maintaining cycling performance. Thus, it appears that both the number and cycle time are important to stimulate an IPE effect. But a "hyperconditioning" did not showed additional benefits thus as high cycle of ischemia [15]. Therefore, caution should be exercised in the choice of protocol.

This study has some limitations. Although it is a test well-established and very used for research for to evaluate the maximum aerobic capacity and power [27,28], the incremental test has a not very high volume. However, the psychophysiological variables evaluated by test, are highly correlated with cycling characteristics of endurance. Moreover, the CK analyzes could have happened on a time-course [37], for observe changes in individual CK pre-exercise and several moments after exercise. To conclude, we do not measure total serum antioxidants to assess ROS. These

limitations are only plausible pathways for future studies with the intention of investigating the effect of IPE on endurance exercise.

In conclusion, both acute IPE maneuvers prevented the 24-hours performance decline after incremental test until exhaustion, which suggests a better recovery process. Our findings support IPE as a new, noninvasive, inexpensive, quick and easy approach, applicable during intervals or training sessions, or in competitions occurring on consecutive days.

Author Contributions

The project experimental design performed the experiments, data analysis and contributed to reagents/tools: RA HS MM. Wrote paper: RA MM GM.

Acknowledgments

Financial support: The State Funding Agency of Minas Gerais, Brazil (FAPEMIG) and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

References

1. Wirnitzer KC, Kornexl E. Exercise intensity during an 8-day mountain bike marathon race. *Eur J Appl Physiol*. 2008;104: 999–1005. doi:10.1007/s00421-008-0855-y
2. Yanturali S, Canacik O, Karsli E, Suner S. Injury and illness among athletes during a multi-day elite cycling road race. *Phys Sportsmed*. 2015;43: 348–354. doi:10.1080/00913847.2015.1096182
3. Halson SL, Bridge MW, Meeusen R, Busschaert B, Gleeson M, Jones DA, et al. Time course of performance changes and fatigue markers during intensified training in trained cyclists. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2002;93: 947–956. doi:10.1152/jappphysiol.01164.2001
4. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med Auckl NZ*. 2006;36: 781–796.
5. Reilly T, Ekblom B. The use of recovery methods post-exercise. *J Sports Sci*. 2005;23: 619–627. doi:10.1080/02640410400021302

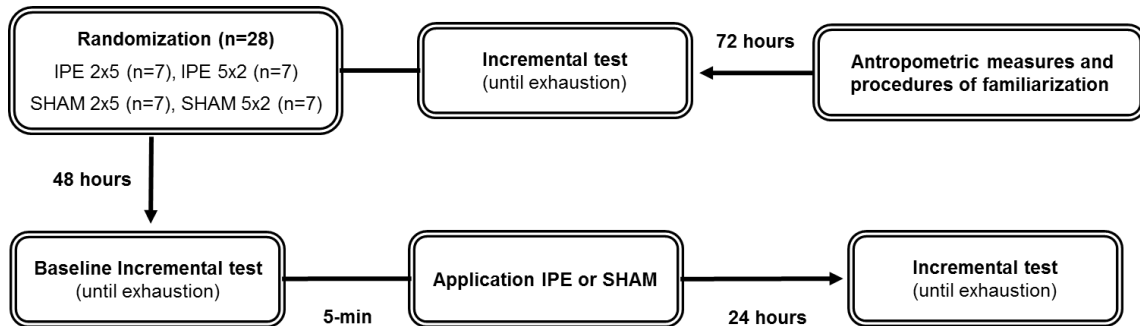
6. Marocolo M, da Mota GR, Simim M a. M, Appell Coriolano H-J. Myths and Facts About the Effects of Ischemic Preconditioning on Performance. *Int J Sports Med.* 2016;37: 87–96. doi:10.1055/s-0035-1564253
7. Beaven CM, Cook CJ, Kilduff L, Drawer S, Gill N. Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appl Nutr Metab.* 2012;37: 1132–1139. doi:10.1139/h2012-101
8. Libonati JR, Howell AK, Incanno NM, Pettee KK, Glassberg HL. Brief muscle hypoperfusion/hyperemia: an ergogenic aid? *J Strength Cond Res.* 2001;15: 362–366.
9. Rassaf T, Totzeck M, Hendgen-Cotta UB, Shiva S, Heusch G, Kelm M. Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning. *Circ Res.* 2014;114: 1601–1610. doi:10.1161/CIRCRESAHA.114.303822
10. Liem DA, Verdouw PD, Ploeg H, Kazim S, Duncker DJ. Sites of action of adenosine in interorgan preconditioning of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283: H29-37. doi:10.1152/ajpheart.01031.2001
11. Borne R, Hausswirth C, Bieuzen F. Relationship Between Blood Flow and Performance Recovery: A Randomized, Placebo-Controlled Study. *Int J Sports Physiol Perform.* 2017;12: 152–160. doi:10.1123/ijsp.2015-0779
12. Jin C, Wu J, Watanabe M, Okada T, Iesaki T. Mitochondrial K⁺ channels are involved in ischemic postconditioning in rat hearts. *J Physiol Sci JPS.* 2012;62: 325–332. doi:10.1007/s12576-012-0206-y
13. Zhang L, Ma J, Liu H. Protective effect of ischemic postconditioning against ischemia reperfusion-induced myocardium oxidative injury in IR rats. *Mol Basel Switz.* 2012;17: 3805–3817. doi:10.3390/molecules17043805
14. Raat NJH, Shiva S, Gladwin MT. Effects of nitrite on modulating ROS generation following ischemia and reperfusion. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61: 339–350.
15. Johnsen J, Pryds K, Salman R, Løfgren B, Kristiansen SB, Bøtker HE. The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle duration and effector organ mass on efficacy of protection. *Basic Res Cardiol.* 2016;111: 10. doi:10.1007/s00395-016-0529-6
16. Jeukendrup AE, Craig NP, Hawley JA. The bioenergetics of World Class Cycling. *J Sci Med Sport.* 2000;3: 414–433.
17. Saghaei M. Random allocation software for parallel group randomized trials. *BMC Med Res Methodol.* 2004;4: 26. doi:10.1186/1471-2288-4-26
18. Fernandes AL, Lopes-Silva JP, Bertuzzi R, Casarini DE, Arita DY, Bishop DJ, et al. Effect of time of day on performance, hormonal and metabolic response during a 1000-M cycling time trial. *PloS One.* 2014;9: e109954. doi:10.1371/journal.pone.0109954

19. Cruz RS de O, de Aguiar RA, Turnes T, Pereira KL, Caputo F. Effects of ischemic preconditioning on maximal constant-load cycling performance. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2015;119: 961–967. doi:10.1152/jappphysiol.00498.2015
20. Marocolo IC, Mota GR da, Londe AM, Patterson SD, Neto OB, Marocolo M. Acute ischemic preconditioning does not influence high-intensity intermittent exercise performance. *PeerJ*. 2017;5: e4118. doi:10.7717/peerj.4118
21. Marocolo M, Marocolo IC, da Mota GR, Simão R, Maior AS, Coriolano H-JA. Beneficial Effects of Ischemic Preconditioning in Resistance Exercise Fade Over Time. *Int J Sports Med*. 2016;37: 819–824. doi:10.1055/s-0042-109066
22. Marocolo M, Willardson JM, Marocolo IC, Ribeiro da Mota G, Simão R, Maior AS. Ischemic Preconditioning and Placebo Intervention Improves Resistance Exercise Performance. *J Strength Cond Res Natl Strength Cond Assoc*. 2016;30: 1462–1469. doi:10.1519/JSC.0000000000001232
23. Laurent CM, Green JM, Bishop PA, Sjøkvist J, Schumacker RE, Richardson MT, et al. A practical approach to monitoring recovery: development of a perceived recovery status scale. *J Strength Cond Res Natl Strength Cond Assoc*. 2011;25: 620–628. doi:10.1519/JSC.0b013e3181c69ec6
24. de Groot PCE, Thijssen DHJ, Sanchez M, Ellenkamp R, Hopman MTE. Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2010;108: 141–146. doi:10.1007/s00421-009-1195-2
25. Crisafulli A, Tangianu F, Tocco F, Concu A, Mameli O, Mulliri G, et al. Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygen uptake in humans. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2011;111: 530–536. doi:10.1152/jappphysiol.00266.2011
26. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982;14: 377–381.
27. Robertson RJ, Goss FL, Dube J, Rutkowski J, Dupain M, Brennan C, et al. Validation of the adult OMNI scale of perceived exertion for cycle ergometer exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36: 102–108. doi:10.1249/01.MSS.0000106169.35222.8B
28. Hofmann P, Pokan R. Value of the application of the heart rate performance curve in sports. *Int J Sports Physiol Perform*. 2010;5: 437–447.
29. Nybo L, Girard O, Mohr M, Knez W, Voss S, Racinais S. Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45: 860–868. doi:10.1249/MSS.0b013e31827ded04
30. Skillen RA, Testa M, Applegate EA, Heiden EA, Fascetti AJ, Casazza GA. Effects of an amino acid carbohydrate drink on exercise performance after consecutive-day exercise bouts. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2008;18: 473–492.

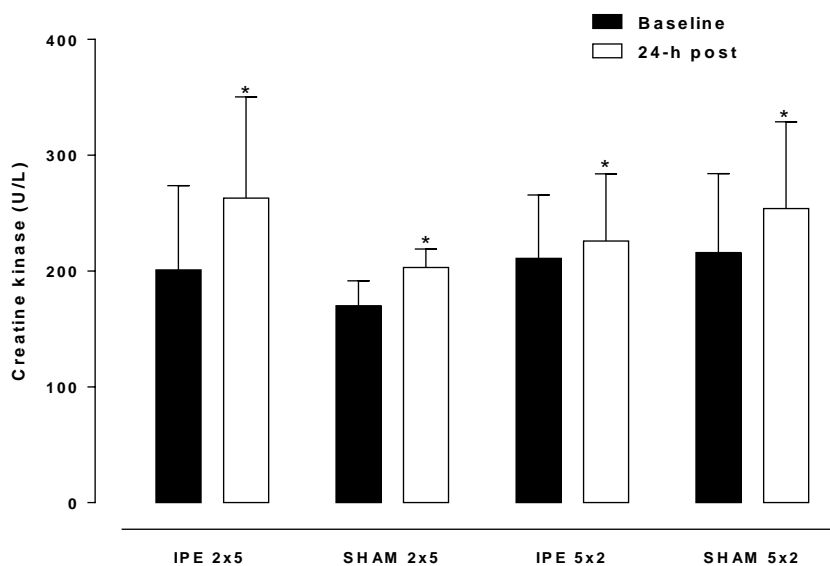
31. Lalonde F, Curnier DY. Can anaerobic performance be improved by remote ischemic preconditioning? *J Strength Cond Res.* 2015;29: 80–85. doi:10.1519/JSC.0000000000000609
32. Incognito AV, Burr JF, Millar PJ. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. *Sports Med Auckl NZ.* 2016;46: 531–544. doi:10.1007/s40279-015-0433-5
33. Marocolo M, Coriolano H-JA, Mourão CA-J, da Mota GR. Crucial Points for Analysis of Ischemic Preconditioning in Sports and Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;49: 1495–1496. doi:10.1249/MSS.0000000000001268
34. Sharma V, Marsh R, Cunniffe B, Cardinale M, Yellon DM, Davidson SM. From Protecting the Heart to Improving Athletic Performance - the Benefits of Local and Remote Ischaemic Preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2015; doi:10.1007/s10557-015-6621-6
35. Hopkins WG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41: 3–13. doi:10.1249/MSS.0b013e31818cb278
36. Burt DG, Twist C. The effects of exercise-induced muscle damage on cycling time-trial performance. *J Strength Cond Res.* 2011;25: 2185–2192. doi:10.1519/JSC.0b013e3181e86148
37. Damas F, Nosaka K, Libardi CA, Chen TC, Ugrinowitsch C. Susceptibility to Exercise-Induced Muscle Damage: a Cluster Analysis with a Large Sample. *Int J Sports Med.* 2016;37: 633–640. doi:10.1055/s-0042-100281
38. Franz A, Behringer M, Harmsen J-F, Mayer C, Krauspe R, Zilkens C, et al. Ischemic Preconditioning Blunts Muscle Damage Responses Induced by Eccentric Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2017; doi:10.1249/MSS.0000000000001406
39. Córdova A, Sureda A, Albina ML, Linares V, Bellés M, Sánchez DJ. Oxidative stress markers after a race in professional cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2015;25: 171–178. doi:10.1123/ijsnem.2014-0090
40. Filho E, di Fronso S, Forzini F, Murgia M, Agostini T, Bortoli L, et al. Athletic performance and recovery-stress factors in cycling: An ever changing balance. *Eur J Sport Sci.* 2015;15: 671–680. doi:10.1080/17461391.2015.1048746
41. Henriksson J, Knol M. A single bout of exercise is followed by a prolonged decrease in the interstitial glucose concentration in skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 2005;185: 313–320. doi:10.1111/j.1365-201X.2005.01498.x
42. Jensen TE, Richter EA. Regulation of glucose and glycogen metabolism during and after exercise. *J Physiol.* 2012;590: 1069–1076. doi:10.1113/jphysiol.2011.224972
43. Sun H-Y, Wang N-P, Kerendi F, Halkos M, Kin H, Guyton RA, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and

- intracellular Ca²⁺ overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288: H1900-1908. doi:10.1152/ajpheart.01244.2003
44. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*. 2008;88: 1243–1276. doi:10.1152/physrev.00031.2007
 45. Barbieri E, Sestili P. Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling. *J Signal Transduct*. 2012;2012: 982794. doi:10.1155/2012/982794
 46. Dankel SJ, Buckner SL, Jessee MB, Mattocks KT, Mouser JG, Counts BR, et al. Post-exercise blood flow restriction attenuates muscle hypertrophy. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116: 1955–1963. doi:10.1007/s00421-016-3447-2
 47. Yamane M, Ohnishi N, Matsumoto T. Does Regular Post-exercise Cold Application Attenuate Trained Muscle Adaptation? *Int J Sports Med*. 2015;36: 647–653. doi:10.1055/s-0034-1398652
 48. Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012: 756132. doi:10.1155/2012/756132
 49. Serrano AL, Baeza-Raja B, Perdiguero E, Jardí M, Muñoz-Cánoves P. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell Metab*. 2008;7: 33–44. doi:10.1016/j.cmet.2007.11.011
 50. Leeder J, Gissane C, van Someren K, Gregson W, Howatson G. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. *Br J Sports Med*. 2012;46: 233–240. doi:10.1136/bjsports-2011-090061
 51. 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*. 2017; 1–25. doi:10.1123/ijsp.2017-011

Supporting information

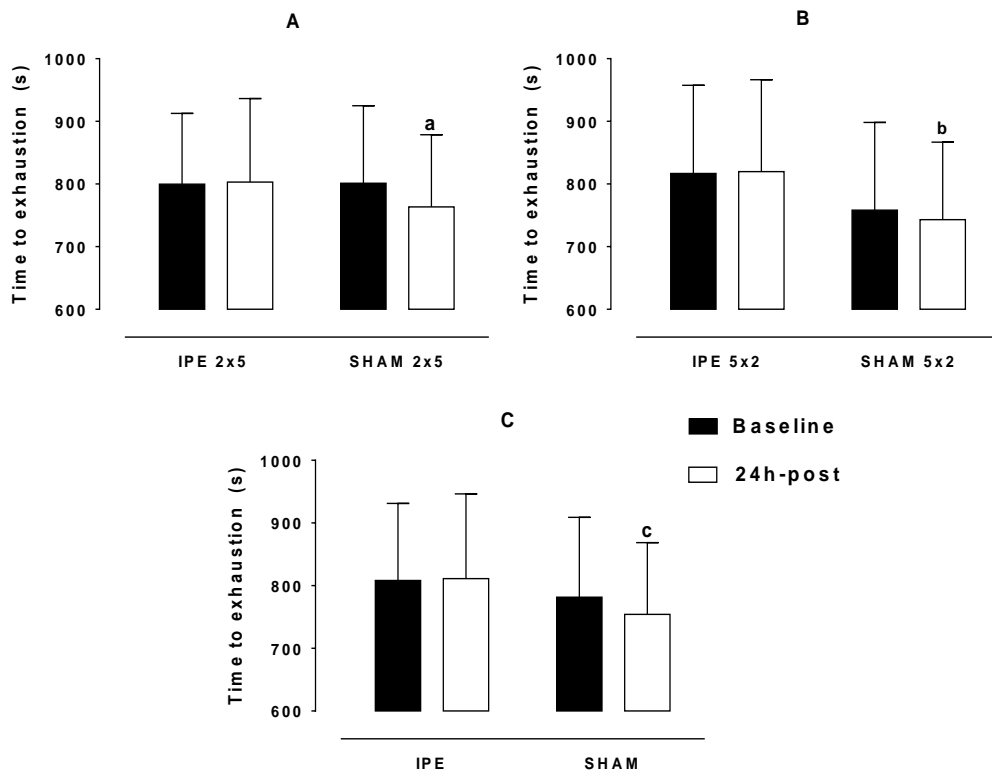


*** **Fig 1. Experimental Design of study.** IPE = post-exercise ischemia; IPE = Post-exercise ischemia; SHAM = cuff administration with lower pressure; Randomization from power output peak ($W \cdot Kg^{-1}$).



*** **Fig 2. Creatine kinase in baseline and 24-h post manuever.** IPE = Post-exercise ischemia; SHAM = cuff administration with lower pressure.

* $p < 0.05$ = significantly different from baseline.



*** **Fig 3. Incremental test time to exhaustion in baseline and 24-h post maneuver:** A: IPE 2x5 (n=7) and SHAM 2x5 (n=7) groups; B: IPE 5x2 (n=7) and SHAM 5x2 (n=7) groups; and C IPE 2x5 and 5x2 (n=14) and SHAM 2x5 and 5x2 (n=14) groups. IPE = Ischemic post-exercise; ES = Effect size. Data are mean \pm SD. a: $p = 0.015$ from baseline ES = 0.32; b: $p = 0.046$ from baseline ES = 0.11; c: $p = 0.03$ from baseline ES = 0.27.

*** Table 1. Characteristics of Volunteers

Characteristics	IPE 2x5 (n=7)	SHAM 2x5 (n=7)	IPE 5x2 (n=7)	SHAM 5x2 (n=7)	P _{values}
Age (years)	27.6 ± 4	27.8 ± 4.2	25 ± 4.5	28.3 ± 2.3	0.456
Height (cm)	177 ± 4.7	175.6 ± 2.8	176 ± 5.6	174.7 ± 1.8	0.913
Body mass (Kg)	80.3 ± 10.7	77.8 ± 7.5	76 ± 8.7	74.6 ± 6.2	0.560
Body fat (%)	16.2 ± 5.3	16.5 ± 3.3	14.2 ± 4.1	14.2 ± 2.8	0.371
PO _{peak} (W)	315 ± 32.2	315.2 ± 44.5	327 ± 55.6	302.3 ± 52.0	0.816
PO _{peak} (W.Kg ⁻¹)	4.0 ± 0.8	4.0 ± 0.3	4.3 ± 0.5	4.1 ± 0.7	0.777
Training History					
Experience (years)	3.2 ± 1.7	3.1 ± 1.5	3.3 ± 1.7	3.0 ± 1.7	0.924
Hours per week	5.1 ± 2.3	4.9 ± 1.1	4.7 ± 1.7	4.2 ± 2.0	0.890

IPE = Post-exercise ischemia; SHAM = cuff administration with lower pressure; PO = power output. Data are mean ± SD.

*** Table 2. Results of incremental test.

Variables	SHAM 2x5		IPE 2x5		SHAM 5x2		IPE 5x2	
	baseline	24-h Post	baseline	24-h Post	baseline	24-h Post	baseline	24-h Post
HR _{Mean} (bpm)	150 ± 5	151 ± 9	152 ± 10	150 ± 14	146 ± 11	145 ± 12	147 ± 11	150 ± 12
HR _{Max} (bpm)	197 ± 9	194 ± 5	196 ± 8	192 ± 11	191 ± 7	187 ± 7	195 ± 8	197 ± 11
HR _{Rec} (bpm)	83 ± 5	85 ± 5	84 ± 6	83 ± 6	77 ± 4	77 ± 4	87 ± 6	86 ± 6
PO _{Peak} (W)	319.2 ± 42.4	306.1 ± 42.3	324.7 ± 34.3	323.3 ± 44.8	307.6 ± 44.6	303.7 ± 36.5	329.8 ± 48.6	334.6 ± 56.4
PO _{Peak} (W.Kg ⁻¹)	4.1 ± 0.5	3.9 ± 0.4	4.1 ± 0.7	4.1 ± 1.0	4.2 ± 0.7	4.1 ± 0.6	4.3 ± 0.5	4.4 ± 0.6
RPE _{Max}	9.9 ± 0.4	9.9 ± 0.4	9.6 ± 0.8	9.6 ± 0.8	9.6 ± 1.1	9.6 ± 1.1	9.7 ± 0.5	9.7 ± 0.5
PR _{mean}	7.0 ± 1.7	7.6 ± 1.7	8.3 ± 1.1	7.3 ± 1.1*	8.0 ± 3.0	7.6 ± 2.0	8.1 ± 3.0	7.1 ± 2.8*
MS _{mean}	0.4 ± 0.8	0.7 ± 1.1	0.7 ± 1.0	0.4 ± 0.5	0.8 ± 1.3	0.9 ± 1.2	0.9 ± 1.5	1.0 ± 1.2

HR = heart rate; PO = power output; RPE = perceived exertion; PR = perceived recovery; MS = muscle soreness. IPE = Ischemic post-exercise; SHAM = cuff administration with lower pressure. Data are mean ± SD.

*p < 0.05 = significantly different from baseline.

***** Table 3. Performance expectation 24-h post.**

	Worse	Similar	Better
IPE 2 X 5 (%)	0	100	0
IPE 5 X 2 (%)	29	71	0
SHAM 2 X 5 (%)	14.5	71	14.5
SHAM 5 X 2 (%)	43	43	14

Values are in percentages of the total number of cyclists per group. IPE = Post-exercise ischemia; SHAM = cuff administration with lower pressure

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTRATÉGIAS DE POTENCIALIZAÇÃO E RECUPERAÇÃO DO DESEMPENHO EM DIFERENTES POPULAÇÕES

Pesquisador: GUSTAVO RIBEIRO DA MOTA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 33413214.1.0000.5154

Instituição Proponente: Universidade Federal do Triângulo Mineiro - MG

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Triangulo Mineiro

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 993.636

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP-UFTM manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br