

JOÃO BATISTA FERREIRA JÚNIOR

**UMA SESSÃO DE CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO (-110 °C)
ACELERA A RECUPERAÇÃO DO DANO MUSCULAR**

BRASÍLIA, 2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JOÃO BATISTA FERREIRA JÚNIOR

UMA SESSÃO DE CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO (-110 °C)
ACELERA A RECUPERAÇÃO DO DANO MUSCULAR

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Martim Francisco Bottaro Marques

BRASÍLIA

2014

JOÃO BATISTA FERREIRA JÚNIOR

**UMA SESSÃO DE CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO (-110 °C)
ACELERA A RECUPERAÇÃO DO DANO MUSCULAR.**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 31 de outubro de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Martim Francisco Bottaro Marques (presidente)
Universidade Brasília

Valmor Tricoli
Universidade de São Paulo

Rodrigo Carregaro
Universidade Brasília

João Luiz Quagliotti Durigan
Universidade Brasília

Paulo Gentil
Universidade Brasília

Dedico este trabalho às flores da minha vida:

Minha irmã Maria Carolina (In memoriam):

Com muita emoção e lágrima nos olhos dedico este trabalho especialmente a você.

Pessoa que sempre esteve a frente do seu tempo, pronta para ajudar a todos em qualquer momento sem exigir nada em troca. Sou extremamente grato por ter lhe conhecido e ter aprendido com você diversas lições. Talvez a mais importante delas tenha sido: “resignação para aceitar o que não consigo mudar, força para enfrentar o que posso mudar e sabedoria para distinguir uma coisa da outra”.

Sempre te amarei!

Meus Pais João Batista e Ana Dalva:

Tudo que eu disser aqui não será suficiente para simbolizar a importância de vocês na minha vida. Obrigado por me mostrar todos os dias a importância da fé, simplicidade, honestidade, amor e perseverança. O título de doutor também é seus.

Sou muito grato de poder dizer a vocês em vida que os amo!

Minha esposa Aline:

Pensar em você é viver o amor. Durante este processo você foi literalmente uma companheira. Seu aporte foi importantíssimo para que este sonho se tornasse realidade de forma tranquila e agradável. Obrigado por caminhar comigo.

Te amo!

Minha irmã Tereza

Ter você como irmã é um presente de Deus. Que sejamos irmãos por muitos anos e quando não formos, que possamos recomeçar.

Te amo!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Deus por sempre caminhar comigo, e por tornar esta conquista possível. Muito obrigado meu Deus, louvado seja o teu nome!!

Ao professor Martim por ter aberto as portas do Laboratório de Força. Muitas vezes precisamos somente de um apoio, mesmo que seja concretizado por uma palavra de incentivo. Obrigado por sempre ter me apoiado. Com seu apoio consegui realizar o sonho de ir para Europa e EUA. Tenho você como um referencial de professor, orientador e amigo. Espero poder continuar trabalhando com você. Muito obrigado!!

AGRADECIMENTOS

Ao grande amigo Caio. Você é uma das pessoas mais ética e caridosa que tive o prazer de conhecer, um verdadeiro companheiro. Serei eternamente grato por todos os momentos que você me ajudou. Espero continuar trabalhando com você. Muito obrigado meu amigo!

Aos amigos Amilton, Flávia e Saulão pelas ajudas constantes e acima de tudo, por propiciarem a beleza das discussões científicas.

Ao Prof. Dr. Michael Bemben pela oportunidade e por ter me recebido com imenso carinho na *The University of Oklahoma- USA*, o que fez com que um sonho fosse realizado. Sua simplicidade, humildade e prestatividade são contagiantes.

Aos amigos de apartamento do período em que estive na *The University of Oklahoma- USA*: Selwin, Markus e Sergio. Obrigado por tornar o período longe da família agradável e por ensinarem que a juventude não está na idade, mas sim no espírito.

Aos amigos do Laboratório de Força da UnB: Rafilsks, Saulinho, André, Cadore, Claudinha, Igor, Rafael, Fisher, Valdinar, Rogério, Angelina, Vítor, Michel e todos os outros que conheci. Muito obrigado pelos momentos prazerosos que tivemos juntos. Grandes vitórias são conquistadas coletivamente.

Aos amigos da Krio Tecnologia e INBD Engenharia: Tiago Melo, Edgar Ashiuchi, Daniel e Edurado Borges pelo apoio constante nas coletas de dados. Vocês foram salutar para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Herbert Simões por sua importantíssima contribuição, sem a qual o projeto de pesquisa não teria sido aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa.

Aos Profs. Dr. Valmor Tricoli, Dr. Paulo Gentil, Dr. Rodrigo Carregaro, Dr. João Durigan e Dr. Rodrigo Celes por terem aceitado o convite para compor a banca examinadora deste trabalho e pelas importantes contribuições.

Aos Profs. Dr Jake do Carmo e Dr. Ricardo Jaco pelas importantes sugestões realizadas na banca de qualificação do doutorado.

Ao Prof. Dr. Fernando Mascarenhas pelo apoio e aprendizado oportunizado durante o trabalho no curso de Educação a distancia

A todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica, em especial ao meu orientador do mestrado: Prof. Dr. Luiz Oswaldo (Lor).

Aos funcionários e direção da Faculdade de Educacao Física e do Programa de Pós graduação da Ciências da Saúde da UnB pelo suporte e por terem sido sempre solícitos.

Aos voluntários que com curiosidade e boa vontade se submeteram aos procedimentos deste estudo. Sem vocês nada disso teria sido realizado.

Ao Reitor do IFTM, Prof. Roberto Gil, e aos Diretores, Prof. Ronaldo Dolascio e Heraldo Cruvinel pelo apoio dado durante a realização do doutorado. Sem o apoio de vocês eu não teria conseguido.

Aos colegas e amigos do IFTM, campus de Paracatu pelo carinho e força.

Aos meus alunos pelo carinho e por me ensinarem que educar é, antes de tudo, ter paciência.

Aos meus familiares e amigos de Divinópolis, Belo Horizonte e Paracatu pelo carinho.

Em nome da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) agradeço ao Governo Brasileiro pelo apoio financeiro - Bolsa Programa Doutorado Sanduíche Exterior (PDSE).

Finalmente, agradeço ao povo brasileiro que financiou este estudo e me deram a oportunidade de ingressar neste processo de formação acadêmica e pessoal.

RESUMO

É comum ocorrer diminuição do desempenho físico após realização do exercício físico ou competição. Recentemente, uma forma de terapia denominada crioterapia de corpo inteiro (CCI- exposição ao ar frio entre -110 e -140 °C por um período de 2 a 3 min) tem sido utilizada para acelerar a recuperação muscular. No entanto, os efeitos da CCI na recuperação muscular são contraditórios. Além disso, não se sabe o efeito de uma sessão de CCI aplicada após o exercício na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício (DMIE). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da CCI na recuperação do DMIE. Vinte e seis homens fisicamente ativos realizaram um protocolo para indução do dano muscular que consistiu de 5 séries de 20 saltos de uma caixa com altura de 0,6 m seguido de salto vertical máximo, com 2 min de intervalo entre as séries. Após o exercício, o grupo CCI (n=13) foi exposto à 3 min CCI à -110 °C, e o grupo controle (n=13) foi exposto por 3 min à 21 °C. A espessura dos músculos anteriores da coxa, o pico de torque isométrico e a percepção de dor muscular dos extensores do joelho foram medidos antes, imediatamente após, 24, 48, 72 e nas 96 h após o exercício. O pico de torque não retornou aos valores basais no grupo controle ($p < 0,05$), no entanto o grupo CCI recuperou o pico de torque 96 h após o exercício ($p > 0,05$). Além disso, o pico de torque foi maior no grupo CCI nas 72 e 96 h quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). A espessura muscular aumentou no grupo controle 24 h após o exercício e foi significativamente maior que o grupo CCI nas 24 e 96 h após o exercício. O grupo CCI não apresentou alteração na espessura muscular durante as 96 h ($p > 0,05$). A dor muscular retornou aos níveis basais no grupo CCI 72 h após o exercício ($p > 0,05$), no entanto o grupo controle retornou aos níveis basais somente 96 h após o exercício. Os resultados do presente estudo indicam que a CCI aplicada após o exercício extenuante pode acelerar a recuperação do DMIE.

Palavras chaves: modalidade de recuperação, pico de torque, inchaço muscular e dor muscular.

ABSTRACT

To evaluate the effects of a single session of whole-body cryotherapy (WBC) performed immediately after damaging exercise on muscle recovery, 26 young men performed a muscle damaging protocol that consisted of 5 sets of 20 drop jumps with 2min rest intervals between sets. After damaging exercise, the WBC group (n=13) was exposed to 3min of WBC at -110 °C, and the control group (n=13) was exposed to 3min at 21 °C. Anterior thigh muscle thickness (MT), isometric peak torque (PT) and muscle soreness (MS) of knee extensors were measured pre, immediately post, 24, 48, 72 and 96h following damaging exercise. The control group never recovered PT following the intervention ($p < 0.05$) whereas the WBC group recovered PT 72h post EIMD ($p > 0.05$). PT was also higher after WBC at 72 and 96h compared to control group ($p < 0.05$). MT increased 24h after EIMD for controls ($p < 0.05$) and was significantly higher compared to the WBC group at 24 and 96h after damaging exercise ($p < 0.05$). MT was not altered in the WBC group following the intervention ($p > 0.05$). MS returned to baseline for the WBC group at 72h post EIMD compared to 96h for controls. These results indicate that WBC after strenuous exercise may enhance muscle damage recovery.

Key words: recovery modality, peak torque, muscle swelling, muscle soreness.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Descontinuidade da linha-Z e desarranjo de miofilamentos imediatamente após contrações excêntricas	20
FIGURA 2 – Processo inflamatório agudo causado pelo dano muscular induzido pelo exercício	22
FIGURA 3 – Delineamento experimental	41
FIGURA 4 – Protocolo de saltos	43
FIGURA 5 A- Criocabine. B- Voluntário durante a exposição de Crioterapia de corpo inteiro (CCI) a -110 °C	44
FIGURA 6 – Medida do inchaço muscular.....	45
FIGURA 7 – Média do pico de torque isométrico dos extensores do joelho.....	46
FIGURA 8 – Escala Análoga Visual para avaliação da dor muscular tardia	47
FIGURA 9 – Média \pm desvio padrão do pico de torque isométrico antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h seguintes ao exercício de indução do dano muscular	49
FIGURA 10 – Média \pm desvio da mudança percentual do inchaço muscular em relação antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h seguintes ao exercício de indução do dano muscular	50
FIGURA 11 – Média \pm desvio da dor muscular dos extensores do joelho antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h seguintes ao exercício de indução do dano muscular	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Características físicas, e valores basais do pico de torque e dor muscular dos participantes de cada grupo experimental	39
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCI	Crioterapia de corpo inteiro
IL	Interleucina
CK	Creatina quinase
LDH	Lactato desidrogenase
TNF- α	Fator de necrose tumoral
CIA	Crioterapia de imersão em água fria
CON	Grupo controle
INFRA	Raios infravermelhos
PAS	Método Passivo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVO	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 DANO MUSCULAR	17
3.2 CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO.....	24
3.3 DANO MUSCULAR E CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO.....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 AMOSTRA.....	38
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	39
4.3 PROCEDIMENTOS.....	42
4.3.1 Avaliação antropométrica.....	42
4.3.2 Protocolo de exercício para indução do dano muscular	42
4.3.3 Modalidades de recuperação	43
4.3.4 Inchaço muscular	44
4.3.5 Pico de torque	45
4.3.6 Dor muscular tardia.....	47
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5 RESULTADOS.....	49
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICE.....	66
ANEXOS	69

1 INTRODUÇÃO

Após a realização de um exercício físico intenso é comum ocorrer uma diminuição transitória da força muscular. No entanto, se o praticante de exercício físico for sedentário ou sofrer uma mudança no programa de treino, a diminuição da força muscular pode permanecer por mais de sete dias (1). Caso este processo seja acompanhado por alguns fatores, tais como; diminuição da amplitude de movimento muscular, bem como no aumento da circulação de proteínas musculares, da inflamação, do inchaço muscular e da dor muscular de início tardio, configurará um quadro denominado de dano muscular induzido pelo exercício (1-3). Este fenômeno vem sendo estudado há alguns anos. Estudos em humanos investigando as respostas fisiológicas ao exercício excêntrico foram inicialmente realizados no final do século XIX e início do século XX (1). Apesar das investigações terem sido iniciadas há muitos anos, ainda hoje este é um tema muito recorrente na literatura.

Uma temática relacionada ao dano muscular que tem sido estudada é a utilização de técnicas para acelerar a recuperação. O interesse neste tipo de estudo surge como forma de tentar compreender as nuances do processo de recuperação muscular, o que contribuiria para o meio esportivo, já que atletas e preparadores físicos objetivam maximizar a recuperação muscular de forma que o atleta tenha o máximo desempenho na próxima competição ou esteja preparado para a sessão de treino seguinte. Neste sentido, a crioterapia de corpo inteiro (CCI) tem sido recentemente estudada como uma técnica de recuperação (4). Na CCI o indivíduo é exposto a temperatura extremamente baixa (-100 °C a -195 °C) por um período de 2 a 3 min. Acredita-se que a CCI seja capaz de acelerar a recuperação muscular por diminuir a resposta inflamatória decorrente da realização do exercício físico (4-6). No entanto, apenas três estudos com resultados distintos avaliaram o efeito da CCI na recuperação do dano muscular. Hauswirth et al. (7) observaram maior recuperação do dano muscular induzido pela corrida excêntrica após três sessões de CCI. A Primeira sessão de CCI ocorreu imediatamente após a corrida excêntrica e as demais a cada 24 h. Fonda e Saroban (8) observaram que cinco sessões de CCI aceleraram a recuperação da força muscular, mas não do desempenho no salto vertical. A primeira exposição foi realizada imediatamente após o exercício e as demais a cada 24 h. Costello et al. (9) não observaram melhora na recuperação do dano muscular

após a realização de duas sessões de CCI, as quais foram realizadas 24 h após o exercício de força excêntrico com 2 h de intervalo entre as sessões de CCI. É possível que a aplicação da CCI 24 h após a realização do exercício não seja eficaz em diminuir o dano muscular secundário causado pelo processo inflamatório. Os achados contraditórios talvez estejam relacionadas as diferenças metodológicas desses estudos em relação ao número de sessões de CCI, e principalmente ao momento em que essas sessões foram aplicadas. Sendo assim, mais investigações ainda são necessárias antes de afirmar os reais benefícios da CCI na recuperação do dano muscular.

Além disso, ainda não se sabe se apenas uma sessão de CCI realizada logo após o dano muscular na recuperação muscular. O uso de apenas uma sessão de CCI pode reduzir os custos e o tempo associado com múltiplos tratamentos, o que tem sido recorrentemente recomendado pelos fabricantes. Estudar os efeitos da CCI na recuperação do dano muscular poderá fornecer subsídios científicos para que profissionais que trabalham com prescrição de exercício físico, assim como aqueles que trabalham no meio esportivo e com a reabilitação decidam a respeito do uso da CCI com intuito de acelerar a recuperação do indivíduo após uma sessão de reabilitação, de treino ou competição.

Hipotetiza-se que uma sessão de CCI realizada logo após o exercício físico acelere a recuperação do dano muscular. Um modelo lógico considerando as razões fisiológicas para o uso da CCI tem sido proposto por Costello et al. (10) e Ferreira-Junior et al. (11). As respostas termorregulatórias à CCI aceleraria a recuperação do dano muscular por reduzir os níveis de moléculas de adesão do tipo 1 (11). Conseqüentemente, poucos leucócitos migrariam para o interior da célula muscular, resultando na diminuição da resposta inflamatória (11). Esta redução na resposta inflamatória aguda proveria um papel benéfico por proteger a fibra muscular do dano muscular secundário e conseqüentemente diminuir o edema, dor muscular e acelerar a recuperação da força muscular.

2 OBJETIVO

Investigar o efeito de uma sessão de crioterapia de corpo inteiro realizada após o exercício físico na recuperação do dano muscular em homens fisicamente ativos.

3 REVISAO DE LITERATURA

3.1 DANO MUSCULAR

Uma pessoa fisicamente ativa ou um atleta pode apresentar diminuição do desempenho logo após as sessões de treinamento físico ou competições (12). Esse efeito pode ser transitório, durando minutos ou horas, como também pode ser duradouro, permanecendo por vários dias. A diminuição de longo prazo no desempenho pode estar relacionada a mudanças estruturais no músculo, denominadas de dano muscular induzido pelo exercício (13). Uma complexa sequência de eventos resulta na diminuição da produção de força muscular, da velocidade e da amplitude de movimento articular, bem como no aumento da circulação de proteínas musculares, da inflamação, do inchaço muscular e da dor muscular de início tardio (14-16).

A análise do dano muscular em humanos de forma direta é um tanto quanto difícil em virtude de existir apenas duas técnicas possíveis de serem realizadas: a biopsia muscular e a ressonância magnética (2). A técnica da biopsia muscular apresenta uma limitação que é a retirada de uma pequena amostra para estimar o dano de todo músculo, já que ele é focalizado (2). Sendo assim, esta técnica de mensuração pode sub ou superestimar o dano muscular. Além disso, Peake et al. (3) sugeriram que a própria biopsia produz certo dano muscular. Da mesma forma, a ressonância magnética apresenta limitações. De acordo com Clarkson e Hubal (2), apesar da ressonância magnética não ser invasiva, ainda não é claro o que significa as mudanças nas imagens. Além disso, é uma técnica de alto custo. Sendo assim, devido aos problemas relacionados à biopsia e à ressonância magnética, os indicadores indiretos de dano muscular têm sido utilizados com maior frequência nos estudos que investigam o dano muscular (2). Warren et al. (14) verificaram que os três marcadores indiretos de dano muscular mais utilizados são: dor muscular tardia (63% dos estudos), proteínas sanguíneas (52% dos estudos) e força muscular (50% dos estudos). Outros parâmetros compõem os marcadores indiretos de dano muscular, tais como: inchaço muscular, redução da amplitude de movimento e marcadores sanguíneos do processo inflamatório (17-23).

De acordo com Paulsen et al. (1), a magnitude do dano muscular pode ser classificada como leve, moderado e intenso. No dano muscular leve, o sujeito teria pequena redução na capacidade de produzir força muscular (<20%) e levaria até 48 h para se recuperar. Já o dano muscular moderado seria caracterizado como redução na capacidade de produção de força entre 20 e 50% da força máxima e a recuperação muscular ocorreria entre dois e sete dias. Por fim, o dano muscular intenso acarretaria uma grande redução na capacidade de produção de força (>50%) e a recuperação da força muscular levaria mais de sete dias. O dano muscular é intensificado quando o exercício excêntrico é realizado, situação em que o músculo é forçosamente alongado (24). Os exercícios concêntricos e isométricos também acarretam dano muscular, embora sua magnitude seja menor quando comparada ao exercício excêntrico (24). A magnitude do dano muscular também parece depender da região em que o exercício foi realizado. Chen et al. (25) observaram maior dano muscular nos músculos flexores e extensores do cotovelo que na musculatura flexora e extensora do joelho. Além disso, foi observado maior dano nos músculos flexores do joelho comparados aos músculos extensores do joelho. De acordo com os autores, a susceptibilidade ao dano muscular pode estar associada ao uso da musculatura nas atividades diárias, onde os músculos mais utilizados estariam menos propensos ao dano muscular.

Apesar dos mecanismos que explicam o dano muscular não serem exatamente conhecidos (2), uma possível explicação para o surgimento do dano muscular é a teoria do rompimento dos sarcômeros (26-28) assim como da alteração do processo excitação-contração (27-29). De acordo com Proske e Morgan (27) e Proske e Allen (28), durante o exercício excêntrico, as miofibrilas da fibra muscular são alongadas e aqueles sarcômeros mais fracos e de menor comprimento absorvem a maior parte da tensão gerada pelo alongamento. Após algumas contrações excêntricas, tais sarcômeros falham em se reconectar por terem sofrido uma ruptura. As fibras com sarcômeros rompidos, mas ainda com outros em funcionamento teriam uma alteração na relação comprimento-tensão. Esta situação pode ser um dos motivos que levam a redução inicial da força muscular. A repetição das ações excêntricas ocasiona a ruptura de mais sarcômeros, até o ponto em que ela levaria ao dano da membrana. A partir deste ponto, surgem dois estágios, iniciado pela fissura nos túbulos-T, seguido pelo dano no retículo sarcoplasmático e liberação descontrolada de cálcio o que seria o gatilho do processo que resulta na alteração do padrão excitação-contração (27,

30). Esta seria a outra explicação para a redução inicial na produção de força muscular. Além disso, a alteração no padrão de liberação de cálcio inicia o processo de aumento na degradação de proteínas assim como da permeabilidade da membrana da célula (27, 30).

Sabe-se por meio da biopsia muscular que o dano muscular acarreta alterações na estrutura do tecido muscular como descrito acima, e possivelmente nos capilares que o permeiam. Através de microscopia eletrônica da amostra do tecido retirado, foram identificadas mudanças na estrutura da célula muscular, caracterizadas pela descontinuidade das linhas-Z (Figura 1) (31). Além disso, foi observada diminuição da espessura dos miofilamentos, assim como desarranjo na organização dos miofilamentos, o qual é identificado pelo aumento da distância entre a actina e miosina na região da banda-A (31). De acordo com Newham et al. (31), estas respostas foram mais pronunciadas 24 e 48 h após o exercício excêntrico. Em relação a matriz extracelular, foram observados presença de mastócitos no perimísio, assim como de células mononucleares na região do perimísio e endomísio, além do alongamento da matriz extracelular para o espaço intersticial (32). Por fim, a albumina e o fibrinogênio encontrados no perimísio e no endomísio sugerem a ocorrência de dano nos capilares (32). Estas alterações na estrutura celular ativam o processo inflamatório, o qual seria necessário como parte do processo de reparo do tecido.

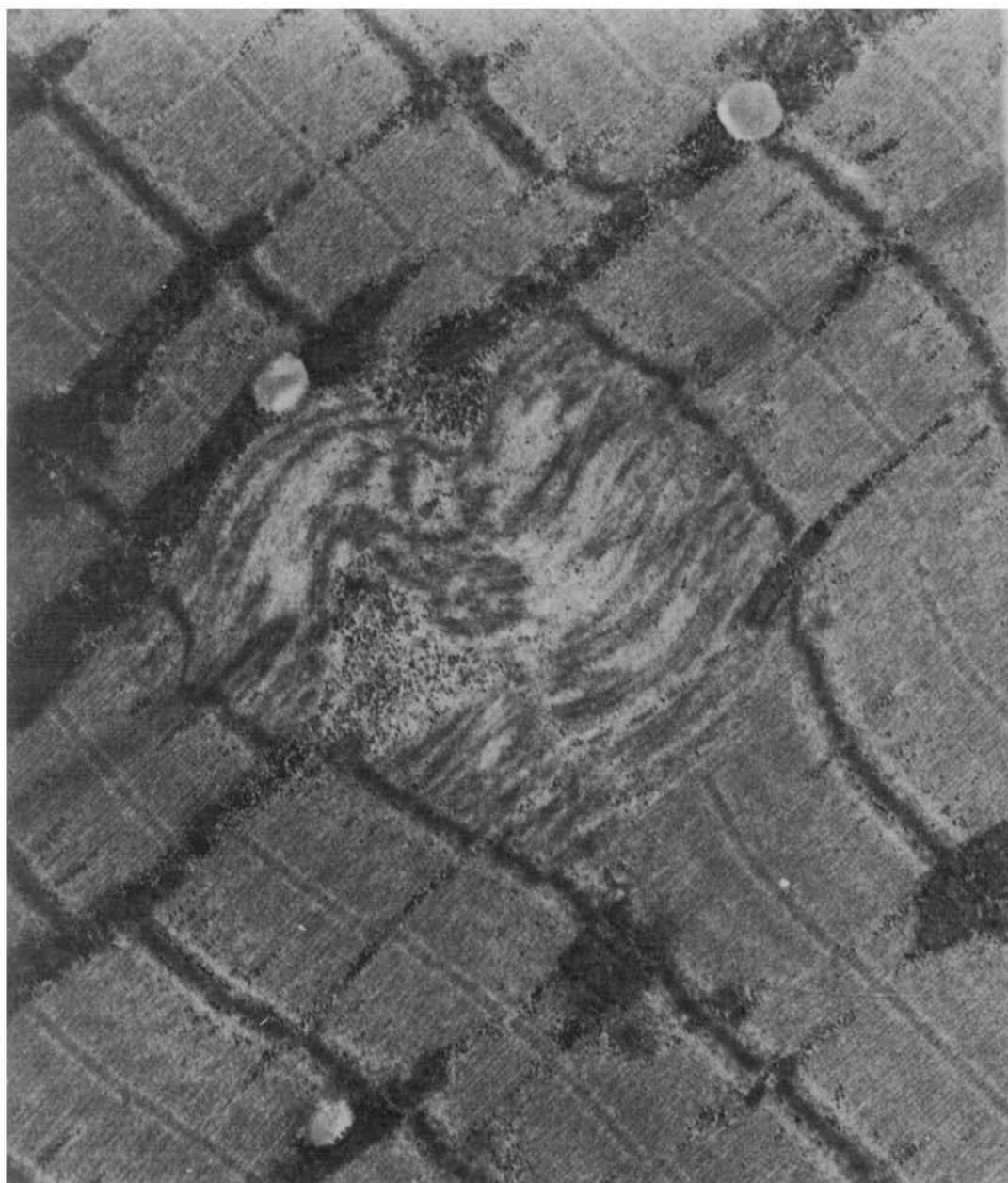


Figura 1 – Descontinuidade da linha-Z e desarranjo de miofilamentos imediatamente após contrações excêntricas (31).

Peake et al. (3), Ferreira-Junior et al. (11) e Clarkson e Hubal (2) descrevem a sequência de eventos que caracterizam a inflamação aguda no processo de dano muscular (Figura 2). Leucócitos (neutrófilos, linfócitos e monócitos) são rapidamente mobilizados logo após a ruptura dos sarcômeros e possivelmente invadem a região danificada via molécula de adesão do tipo 1. Os leucócitos liberam proteínas proteolíticas assim como espécies reativas de oxigênio, as quais contribuem para o

aumento do dano muscular ao causar degradação do tecido muscular e aumento da permeabilidade da membrana. Este processo permite o fluxo de enzimas musculares para o sangue, tais como, creatina quinase (CK) e mioglobina. Além disso, os neutrófilos e monócitos produzem citocinas inflamatórias, tais como a interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF)- α as quais são responsáveis por aumentar a magnitude do processo inflamatório. Paralelo a produção das citocinas inflamatórias, também ocorre produção das anti-inflamatórias: IL-4, IL-10 e receptor antagonista de IL-1. A magnitude do dano muscular secundário, o qual é gerado por tal processo inflamatório, depende do balanço entre a produção das citocinas pró e anti-inflamatórias (33). Neste sentido, apesar de ser considerada pró-inflamatória, a IL-6 tem importante papel ao regular a intensidade do processo inflamatório, já que ela pode ser um sinalizador para produção de citocinas anti-inflamatórias (3). A IL-6 foi previamente considerada como uma citocina pro-inflamatória ligada ao dano muscular por ter se correlacionado com a CK após o exercício excêntrico (34). No entanto, o efeito anti-inflamatório da IL-6 produzida pelo músculo também foi demonstrado pela produção de citocinas anti-inflamatórias por meio da IL-6: receptor agonista da IL-1 e IL-10 (35). Assim, alguns estudos tem considerado o aumento da IL-6 após o exercício físico como uma resposta anti-inflamatória (35, 36) enquanto outros consideram como uma resposta pro-inflamatória (11, 34, 37).

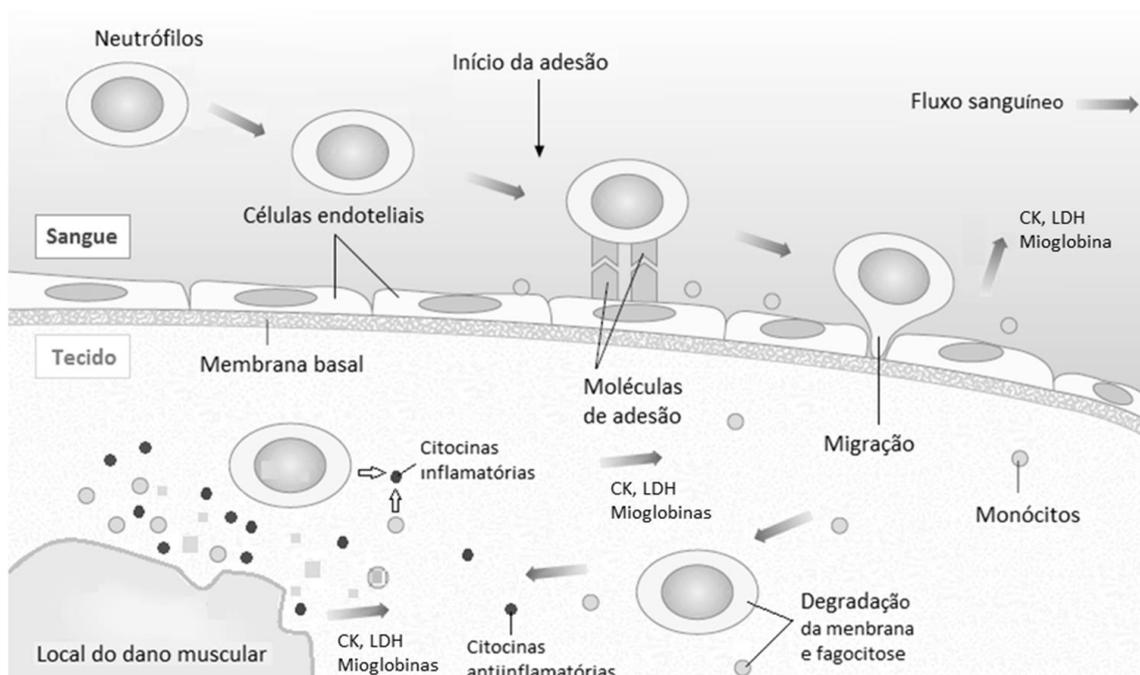


Figura 2 – Processo inflamatório agudo causado pelo dano muscular induzido pelo exercício. Adaptado de Ferreira-Junior et al. (11). CK, creatina quinase; LDH, lactato desidrogenase.

De acordo com Malm et al. (38), os leucócitos já presentes no epimísio do tecido muscular lesionado podem ser responsáveis em desencadear a dor muscular de início tardio observada no processo de dano muscular. Outra explicação para a dor muscular seria a liberação de substâncias químicas devido ao dano muscular, tais como, histamina, bradicinina e prostaglandinas, as quais ativam nervos aferentes do tipo III e IV, responsáveis por transmitir a mensagem de dor ao sistema nervoso central (39). Entretanto, parece não existir evidências diretas para esta teoria (2). Segundo Tricoli (40), a resposta inflamatória desencadeada pelo dano à estrutura muscular é a principal responsável pela dor muscular de início tardio. A ação excitatória das substâncias químicas decorrentes do processo inflamatório (histamina, bradicinina, prostaglandinas) diminui o limiar de ativação de nociceptores, os quais seriam estimulados pela pressão intramuscular ou pela deformação mecânica (2, 40). O inchaço muscular proveniente do dano muscular seria o estímulo físico causador desta pressão. Através da ressonância magnética (2) e da ultrassonografia (17) é possível observar o inchaço muscular, o qual é causado pelo acúmulo de fluido e de

proteínas plasmáticas dentro do tecido afetado, numa quantidade que excede a capacidade de drenagem do sistema linfático (27, 41).

Um importante processo que pode ser mediado pela inflamação iniciada pelo dano muscular, e que contribui para o processo de regeneração do tecido muscular afetado é a ação das células satélites (41). Elas estão localizadas entre a lâmina basal e o sarcolema das fibras musculares. Acredita-se que as fibras danificadas precisariam de um núcleo adicional para facilitar a reparação, caso contrário elas morreriam (42). Sendo assim, as células satélites migrariam até o tecido danificado para iniciar o reparo do tecido muscular. Estas células seriam capazes de criar mioblastos que se fundiriam às fibras já existentes, fornecendo material necessário para o reparo da região degradada e num segundo momento, contribuindo para o crescimento do tecido danificado (43).

O dano muscular induzido por apenas uma sessão de exercício excêntrico resulta numa adaptação denominada de efeito da carga repetida. Esta adaptação leva ao menor dano quando outro exercício excêntrico é repetido até seis meses após o primeiro, mesmo que não seja realizado nenhum exercício excêntrico neste período (44). Neste sentido, a recuperação da força muscular ocorre com maior rapidez, há menor dor muscular, assim como menor resposta inflamatória (2, 41). Este fenômeno tem sido atribuído a maior força produzida pelos tecidos conectivos, aumento da eficiência no recrutamento assim como da sincronização das unidades motoras, aumento dos sarcômeros em série, maior contribuição da musculatura sinergista e diminuição da resposta anti-inflamatória (2, 45). Outro aspecto interessante, é que o dano muscular não é exacerbado quando uma segunda sessão de exercício excêntrico é realizada três dias após a primeira, indicando que não há problema em realizar outra sessão de treino excêntrico intenso no estágio inicial da recuperação do dano muscular (22, 23). Com delineamento com maior frequência de treino, Chen e Hsieh (46) avaliaram o efeito da realização de sete dias seguidos de exercício excêntrico nos indicadores de dano muscular. Não houve exacerbação do dano muscular com a realização contínua do exercício excêntrico. Estes resultados também indicam que o processo adaptativo que acarreta no dano muscular ocorre nas primeiras 24 h.

O efeito da carga repetida, assim como a não exacerbação do dano com a realização de outros treinos excêntricos 3 dias após o primeiro nos remete a questionar se o dano muscular tem algum papel na hipertrofia muscular (41). Outra

informação, que segundo Schoenfeld (41) suporta o questionamento apontado, é a considerável hipertrofia muscular produzida pelo método de treinamento de força com restrição do fluxo sanguíneo, com o qual o dano muscular causado parece ser mínimo (47), ou até mesmo nem existir (48). Apesar do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico prejudicar o desempenho muscular em curto prazo, tem sido mencionado que ele induz a hipertrofia muscular. O aumento de citocinas, espécies reativas de oxigênio e ativação de células satélites numa situação de dano muscular seriam necessárias para o processo de hipertrofia (41). Assim, o papel do dano muscular no processo de hipertrofia ainda é uma questão a ser investigada.

Outro tema que tem sido estudado é a utilização de técnicas para acelerar a recuperação do dano muscular. Dentre as diversas técnicas estudadas, as mais comuns são: massagem (12, 49), recuperação ativa (12, 13), crioterapia (12, 50), roupa de compressão (12, 51), imersão em água com contraste de temperatura (12, 52), anti-inflamatórios não esteroidais (53) e alongamentos (12, 54). Um novo método, a crioterapia de corpo inteiro, tem sido estudado com o objetivo de investigar sua possível capacidade em acelerar a recuperação muscular após a realização do exercício físico. Este assunto tem ganhado relevância pelo interesse que técnicos e preparadores físicos possuem em maximizar a recuperação do atleta após sessões de treino, assim como em competições.

3.2 CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO

A crioterapia é um recurso terapêutico que consiste na aplicação do frio nas formas líquida, sólida e gasosa em regiões do corpo (55). Uma forma de terapia com o frio, denominada CCI, consiste em breves exposições do corpo ao ar frio por meio de criocâmaras ou criocabinas, nas quais o ar é mantido entre -100 e -195 °C por um período de 2 à 3 min (7, 8, 56). Entretanto, ainda não se sabe o tratamento ideal em termos de duração e temperatura. Para exposições à CCI em criocabine com temperatura entre -130 e -170 °C, foi sugerido que a duração ideal da sessão deve ser de 2 min e 30 s, já que 3 min de CCI não resultou em maior queda da temperatura da pele mas aumentou a sensação de desconforto (57). Por outro lado, baseado no

resfriamento da pele, 2 min de CCI à $-135\text{ }^{\circ}\text{C}$ em criocâmaras foi considerado o tempo ótimo de exposição (58). Além disso, a temperatura da pele em resposta à CCI parece depender do sexo e da adiposidade corporal (59). Mulheres e sujeitos com maior tecido adiposo apresentaram maior queda na temperatura da pele que homens e os sujeitos com menor tecido adiposo, respectivamente (59).

Esta forma de crioterapia foi utilizada pela primeira vez no final da década de 70 por Toshiro Ymauchi no tratamento da artrite reumatóide (60). Metzger et al. (61) observaram que a exposição a $-105\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2,5 min causou diminuição da dor em pacientes com doenças reumáticas (fibromialgia, artrite reumatóide, espondilite anquilosante, osteoartrite e dor lombar crônica), o que pode permitir aos pacientes tolerarem a realização de exercícios terapêuticos. Ksiezopolska-Pietrzak (62) observou que o uso da CCI em pessoas com estes tipos de acometimentos diminuiu o edema, o processo inflamatório e relaxou a musculatura esquelética, além de ter aumentado a amplitude de movimento. Além disso, Rymaszewska et al. (60, 63) mostraram que a CCI aliviou os sintomas de ansiedade e depressão, podendo ser um tratamento coadjuvante neste tipo de desordem. Por fim, a crioterapia de corpo inteiro pode ser utilizada para reduzir os espasmos provocados por doenças neurológicas (64, 65), assim como o estresse oxidativo causado pela esclerose múltipla (64).

De acordo com a literatura, sessões diárias de CCI, realizadas antes ou após o treinamento não prejudicam o sistema sanguíneo (66), o imunológico (5), nem a função cardíaca (67). Banfi et al. (66) realizaram um estudo para avaliar se a CCI diminui a hemólise, processo que leva a diminuição de hemoglobina. A hemólise pode ocorrer em exercícios físicos de alta intensidade e pode levar a anemia decorrente do esporte (4). Parâmetros hematológicos foram medidos em dez jogadores de Rugby antes e após a realização de cinco sessões de CCI (30 s a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ acrescidos de 2 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$), as quais ocorreram em dias alternados. Durante a realização do estudo foi mantido o mesmo programa de treino das semanas anteriores. Após o período de exposição à CCI houve aumento na concentração de haptoglobina e do volume celular esférico médio da hemoglobina. O hematócrito, assim como o número de eritrócitos, leucócitos, reticulócitos, plaquetas e volume globular médio não foram alterados com a CCI. Houve diminuição na quantidade total de hemoglobina. Por meio dos dados da haptoglobina e do volume celular esférico médio da hemoglobina, os autores inferiram que as sessões de CCI foram capazes de prevenir a hemólise decorrente do esporte.

A haptoglobina é uma proteína que impede a liberação de hemoglobina durante a hemólise (4). Já o volume celular esférico médio da hemoglobina evita o processo de dano da membrana celular causado pela ação das espécies reativas de oxigênio, a qual é produzida em grande quantidade durante o exercício físico (4). Com delineamento muito semelhante ao estudo anterior, cinco dias de sessões diárias de CCI com atletas de Rugby, Banfi et al. (68) encontraram diminuição na quantidade total de hemoglobina, o que não afetou o hematócrito, tão pouco o volume globular médio. Tais achados indicam que a CCI não prejudica os parâmetros hematológicos (4) e pode evitar a hemólise decorrente do esporte (66).

Em relação aos efeitos da CCI na função cardíaca, Westerlund et al. (69) avaliaram a variabilidade cardíaca em mulheres, antes e após a sessão de CCI (2 min à -10 °C, 2 min à -60 °C e 2 min à -110 °C). A frequência cardíaca (FC) antes e durante a CCI foi 74 ± 11 e 91 ± 13 bpm, respectivamente, o que configura um baixo estresse cardiovascular. Além disso, houve aumento da modulação parassimpática após a crioterapia, efeito semelhante ao que ocorre pós-exercício. Os autores concluíram que a CCI é segura e benéfica para as funções cardíacas em pessoas saudáveis. Dados não publicados do nosso laboratório mostraram que a FC durante a CCI (3 min a -110 °C) chegou a 104 ± 18 bpm. Banfi et al. (67) avaliaram o efeito da CCI em marcadores de estresse cardíaco. Foi observado aumento na concentração do peptídeo natriurético N-terminal do tipo B (marcador de estresse do miocárdio). Entretanto, segundo os autores, os valores ainda permaneceram dentro da faixa de normalidade. Além disso, não foram observadas alterações na troponina I (marcador de necrose do miocárdio), nem na proteína C reativa (marcador inflamatório). Os autores concluíram que a crioterapia não prejudicou a função cardíaca.

Segundo Westerlund et al. (65), os efeitos analgésicos da crioterapia de corpo inteiro ocorrem durante um período limitado após sua exposição, além disso, não ocasionam riscos de congelamento. Nesse estudo foi medida a temperatura retal e da pele (testa, peito, lombar, braço, antebraço, dorso da mão, coxa, panturrilha e pé) em sujeitos saudáveis antes (5 min), durante e após (30 min) a crioterapia de corpo inteiro (2 min à -110° C). Foi observada diminuição da temperatura da pele nos nove locais de medição durante a sessão de crioterapia, no entanto, logo após o término da sessão, a temperatura da pele de todos os locais retornou aos níveis basais rapidamente. A temperatura retal não foi alterada durante a crioterapia, todavia, logo após a CCI, ela diminuiu de forma gradativa e constante. É importante mencionar que

os autores do estudo não realizaram análise de variância dos dados. Foi realizada apenas análise descritiva com apresentação do intervalo de confiança (95%), o que sugere cautela na interpretação dos dados. Costello et al. (9) mostraram que a temperatura timpânica diminuiu 0,3 °C após a CCI, retornando aos valores basais 15 min após a sessão de crioterapia.

A CCI parece causar diminuição da temperatura interna e muscular em níveis similares aos da crioterapia de imersão em água fria (CIA). Costello et al. (70) mediram a temperatura muscular, interna e da pele por 60 min após duas situações: 1) CCI (20 s à -60 °C seguidos de 3 min e 40 s à -110 °C) e 2) CIA (4 min à 8 °C). A maior diminuição na temperatura muscular (CCI: $1,6 \pm 0,6$ °C e CIA: $1,7 \pm 0,5$ °C), assim como na retal (CCI: $0,3 \pm 0,2$ °C e CIA: $0,4 \pm 0,2$ °C) ocorreu 60 min após ambas as situações. Entretanto, não houve diferença entre a CCI e a CIA. A maior redução na temperatura da pele ocorreu logo após a CCI ($12,1 \pm 1,0$ °C) e CIA ($8,4 \pm 0,7$ °C). A queda na temperatura da pele foi maior após a CCI comparada a CIA. De acordo com os autores, a diferença de temperatura de -118 °C provocado pela CCI compensou a menor condutividade térmica do ar comparado a água. Em estudo realizado no nosso laboratório foi verificada uma queda de $11,9 \pm 1,3$ °C na temperatura da pele da coxa imediatamente após a CCI (56). Ainda a respeito do efeito da CCI na temperatura da pele, a CCI parece não causar uma queda da temperatura da pele suficiente para alcançar um efeito analgésico, a qual seria de 13 °C (71).

A crioterapia de corpo inteiro também parece alterar as respostas inflamatórias. Foi mostrado que sete dias de CCI com três sessões diárias diminuiu o processo inflamatório em pacientes com artrite reumatoide (72). Lubkowska et al. (73) encontraram aumento da IL-6 após a primeira e a décima (última) sessão de CCI (3 min a -130 °C). Na mesma direção, Lubkowska et al. (74) investigaram o efeito de cinco, 10 e 20 sessões de CCI (3 min a -130 °C) na resposta pró e anti-inflamatória, imediatamente e duas semanas após cada tratamento. Houve diminuição da IL-1 α , assim como aumento da IL-6 e IL-10. A duração da resposta anti-inflamatória com o término do tratamento foi maior com 20 sessões de CCI. Tem sido relatado que 10 sessões de CCI levaram a diminuição da proteína C-reativa, mucoproteína sérica, sedimentação de eritrócitos, concentração de fibrinogênio no plasma e moléculas de adesão do tipo 1 em pacientes com espondilite anquilosante, uma doença inflamatória crônica (75). De acordo com os autores, os resultados sugerem diminuição do

processo inflamatório em pacientes com este tipo de doença (75). Zieman et al. (76) verificaram que 10 sessões de CCI diminuiu as citocinas pro-inflamatórias (IL-6 e TNF- α) e aumentou uma citocina anti-inflamatória (IL-10) em homens obesos, sugerindo que a CCI pode ser aplicada nestes indivíduos como técnica suplementar para diminuir o processo inflamatório.

Em relação a resposta oxidativa, de acordo com Lubkowska et al. (77), 10 sessões não afetaram o status antioxidante. Foi observado que 20 sessões diárias de CCI aumentaram a enzima antioxidante superóxido dismutase, mas diminuiu outras enzimas antioxidantes: glutatona reduzida, glutatona oxidada e glutatona peroxidase (77). Entretanto, foi reportado que 10 sessões de CCI atenuaram o estresse oxidativo: aumento no status antioxidante total, ácido úrico plasmático e na atividade da superóxido dismutase em eritrócitos (78). Além disso, não houve aumento na peroxidação lipídica (78). Portanto, com base nos resultados destes estudos, parece que o número de sessões de crioterapia de corpo inteiro influencia de forma positiva no padrão da resposta inflamatória e oxidativa.

Com base no que foi exposto nos parágrafos anteriores e de acordo com Podbielska et al. (79) e Banfi et al. (4), a exposição à crioterapia de corpo inteiro parece não induzir riscos à saúde. Ao contrário, além dos benefícios na clínica médica em pacientes com doenças reumatológicas (61, 62, 72, 75) e com depressão (60, 63), no meio esportivo esta técnica de recuperação parece causar efeitos benéficos, como diminuição da resposta inflamatória e oxidativa (5, 36, 37, 76-78, 80-83).

Além das investigações na área clínica, tem crescido as investigações a respeito dos efeitos tanto agudos quanto crônicos da CCI na realização do exercício físico. Em relação aos efeitos agudos, alguns estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a influência de temperaturas extremamente baixas no desempenho neuromuscular, como é o caso da CCI. Investigações com esta temática podem ser importantes do ponto de vista terapêutico e do treinamento físico. Alguns estudos demonstraram que resfriar o corpo por meio de exposição ao ar frio ou de imersão em água fria ocorre diminuição do desempenho muscular (84-87). Oksa et al. (87) mostraram que uma pequena diminuição da temperatura muscular pode ocasionar numa redução da performance muscular. Neste sentido, Westerlund et al. (88) observaram que apenas uma sessão de CCI diminuiu o desempenho no salto vertical. Entretanto, não houve alteração no desempenho neuromuscular da flexão isométrica

do punho. Em contraste, Fricke et al. (89) observaram que o pico de torque dos músculos flexores e extensores do joelho aumentaram após uma sessão de CCI em sujeitos saudáveis.

Assim como o resfriamento corporal localizado reduz a capacidade contrátil dos músculos (86), os achados de Westerlund et al. (88) sugerem que a CCI também provoca queda de performance na ação muscular de membros inferiores. Apesar de os autores terem observado diminuição no desempenho do salto vertical após uma sessão de CCI (2 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$), não foi observada alteração na força voluntária máxima isométrica durante a preensão palmar. Neste sentido, Klimek et al. (90) avaliaram o efeito de uma única sessão de crioterapia de corpo inteiro (3 min a $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$) na potência anaeróbia máxima durante o teste de Wingate em seis situações: 15, 30, 45, 60, 75 e 90 min após a sessão de CCI. Não houve alteração na potência anaeróbia máxima em nenhuma das situações. Entretanto houve diminuição no tempo gasto para atingir a potência máxima, o que segundo os autores, sugere um efeito benéfico da CCI em exercícios supra máximos de curta duração.

Os achados de Westerlund et al. (88) e os de Klimek et al. (90) corroboram os dados de Ferreira-Júnior et al. (55). Neste estudo (55) foi avaliado o efeito da CCI no desempenho neuromuscular. Os voluntários realizaram um teste isocinético de flexão de cotovelo 30 min antes e 10 min após a CCI (3 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$). Não houve diferença no pico de torque, potência, trabalho total e na amplitude do sinal eletromiográfico entre as situações CCI e controle (sem CCI). Estes resultados indicam que preparadores físicos e fisioterapeutas podem usufruir dos benefícios da CCI antes de uma sessão de treino sem comprometer o desempenho neuromuscular. Segundo Westerlund et al. (88), devido à vasoconstrição e ao baixo tempo de exposição à crioterapia extrema, é possível que a temperatura muscular crítica de $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ que resultaria em redução da força muscular não tenha sido alcançada. Tem sido reportado que a temperatura muscular do vasto lateral caiu de $35,7 \pm 0,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ para $34,1 \pm 0,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 60 min após a CCI (70). Outro fato que pode ter sido responsável para os resultados encontrados no estudo de Ferreira-Junior et al. (55) foi o intervalo de 10 min dado entre a sessão de CCI e a realização do pós-teste, já que a temperatura muscular começa a diminuir 20 min após a exposição à CCI (70), com a maior diminuição sendo observada 60 min após a CCI ($1,6 \pm 0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) (70). Assim, a janela de 10 min pode ter atenuado os efeitos da CCI na temperatura dos músculos avaliados

no teste isocinético. No entanto, o protocolo utilizado pode ter grande semelhança ao dia a dia da clínica, no qual os pacientes ou atletas levam entorno de 10 a 15 min para se prepararem para a realização de uma tarefa motora após a sessão de CCI.

Quanto aos efeitos crônicos da CCI na realização do exercício físico, Klimek et al. (91) investigaram se sessões diárias de CCI (10 sessões) alteram a capacidade aeróbia e anaeróbia. Em cada uma das sessões, homens e mulheres eram expostos a uma temperatura de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 min, em seguida permaneciam na criocâmara por mais 3 min numa temperatura de $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$. As sessões foram realizadas de segunda a sábado. Antes e após as 10 sessões de CCI os voluntários realizaram um teste progressivo em cicloergômetro para avaliar a capacidade aeróbia, assim como o teste de Wingate para avaliar a capacidade anaeróbia. Não houve alteração na capacidade aeróbia tanto nos homens quanto nas mulheres após as 10 sessões de CCI. Entretanto, nos homens foi verificado aumento na potência anaeróbia máxima de 11,1 para $11,9\text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$, assim como no trabalho total (13,77 vs. 14,53 kJ) ($p < 0.05$). Não houve nenhuma alteração na capacidade anaeróbia para as mulheres. Além disso, após as 10 sessões de CCI houve aumento nas concentrações de lactato durante o teste de Wingate tanto nos homens ($\Delta = 3,33\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) quanto nas mulheres ($\Delta = 3,34\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). Os autores sugeriram duas explicações para o aumento na concentração de lactato: 1) a termogênese induzida pelo tremor causada durante as repetidas exposições ao frio trouxe como adaptação o aumento na atividade das enzimas glicolíticas, 2) após as sessões de CCI pode ter ocorrido aumento nas concentrações de noradrenalina, resultando no aumento da capacidade glicolítica.

Westerlund et al. (88) examinaram o desempenho do salto vertical e na força máxima isométrica de flexão de punho antes e após uma sessão de CCI, assim como após três meses de CCI (2 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$). As sessões de crioterapia de corpo inteiro foram realizadas três vezes por semana. Com uma sessão de CCI houve redução do tempo de vôo, entretanto, após os três meses de CCI esta diferença foi suprimida. Além disso, não houve nenhuma alteração da força isométrica máxima tanto após uma sessão, quanto após três meses de exposição à CCI. Por fim, após os três meses de CCI houve aumento da ativação do músculo agonista (gastrocnêmio) durante a fase excêntrica do salto vertical. De acordo com os autores, no exercício dinâmico, a função neuromuscular pode se adaptar a repetidas sessões de CCI, o que talvez aumente os efeitos terapêuticos do exercício físico após a CCI.

A CCI também tem sido utilizada para minimizar a resposta oxidativa gerada pela realização do exercício físico. Aumento de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase e glutathione peroxidase), e agentes oxidantes (dienos conjugados e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) tem sido observado após 6 semanas de treinamento físico. De acordo com Mila-Kierzenkowska (81), duas sessões diárias de CCI antes e após a sessão de treino por um período de 6 dias melhorou a capacidade antioxidante, já que houve diminuição da glutathione peroxidase, de dienos conjugados e nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico do organismo (81). Adicionalmente, uma sessão de CCI 40 min antes do exercício submáximo diminuiu a resposta inflamatória (IL-6, IL-1 β) e também oxidativa (superóxido dismutase e atividade catalítica) induzida pelo exercício em comparação ao exercício realizado com ausência da CCI (37). Num estudo onde canoístas realizaram 10 dias de exposição à CCI antes das sessões de treino, foi verificada redução na resposta oxidativa após o sexto dia de CCI, já que houve diminuição nos níveis de fosfatase ácida e arissulfatase (83). Em outro estudo muito semelhante, foi verificado que 6 dias de CCI, as quais foram realizadas antes das sessões de treino, atenuou a resposta oxidativa ligada ao exercício: redução de 44% na atividade da superóxido dismutase, de 42% da glutathione peroxidase e de 50% na atividade da fosfatase ácida e diminuição dos produtos da peroxidação lipídica (82).

Outra linha de estudo que tem sido realizada com a CCI é em relação a sua capacidade de acelerar a recuperação muscular. Tem sido demonstrado que a CCI aplicada entre duas competições simuladas de nado sincronizado separadas por 70 min exerceu uma forte influência na reativação parassimpática entre as sessões de nado sincronizado (92). Além disso, similar a recuperação ativa, a CCI melhorou a remoção de lactato após a primeira sessão de nado sincronizado e aumentou o consumo de oxigênio na segunda competição simulada (92). A crioterapia de imersão e a recuperação passiva não apresentaram efeito benéfico na reativação parassimpática, na remoção de lactato e no consumo de oxigênio (92). Além disso, nenhum dos métodos de recuperação afetou a diferença na pontuação entre a primeira e segunda sessão de nado sincronizado (92).

Ferreira-Junior et al. (56) avaliaram o efeito de uma sessão de CCI na recuperação da força muscular entre sessões de treino. Doze homens jovens foram submetidos a duas situações: 1) CCI (3 min a -110 °C) e 2) Controle. Todos os sujeitos

realizaram duas sessões de treino de extensão de joelho: 1) antes da situação controle e CCI, e 2) 40 min após a situação controle e CCI. O treinamento consistiu de 6 séries de 10 repetições de extensão de joelho numa velocidade de $60^{\circ} \cdot s^{-1}$ na fase concêntrica e $180^{\circ} \cdot s^{-1}$ na excêntrica. O pico de torque e o trabalho total concêntrico caíram significativamente na segunda sessão de treino, tanto na CCI (9,4 e 6,5%, respectivamente) quanto na situação controle (7,5 e 5,2%, respectivamente). Além disso, não houve diferença entre as situações tanto para o pico de torque, quanto para o trabalho total concêntrico. O pico de torque e o trabalho total excêntrico caíram na segunda sessão de treino na situação CCI (5,6 e 2%, respectivamente), assim como na controle (16 e 11,6%, respectivamente). Entretanto, a queda no pico de torque e no trabalho total excêntrico foram menores após a CCI quando comparado ao controle ($p < 0,05$). Um recente estudo com delineamento similar ao anterior mostrou que a CCI realizada logo após a sessão de treino de força no isocinético não acelerou a recuperação do desempenho do salto vertical, o qual foi medido 30 min após a sessão de treino (93). Segundo os autores de ambos estudos (56, 93), o possível efeito positivo da CCI na recuperação muscular concêntrica e no salto vertical teria sido mascarado pelos efeitos deletérios do resfriamento corporal. Sabe-se que a exposição ao frio pode ter efeitos deletérios devido a diminuição na condução nervosa e na atividade enzimática, a qual afetaria a ligação entre as pontes cruzadas durante a contração muscular (94). Por outro lado, de acordo com Ferreira-Junior et al. (56), a maior rigidez muscular associada à exposição ao frio pode ter sido responsável pela menor queda do desempenho excêntrico muscular na situação de CCI. Portanto, de forma aguda, parece que a CCI pode ser usada após o exercício para acelerar a recuperação do desempenho muscular excêntrico entre as sessões de treino. No entanto, ainda não é bem documentado se a CCI é efetiva em acelerar a recuperação do dano muscular, a qual ocorre dentro de dois dias ou em até mais de sete dias (1).

3.3 DANO MUSCULAR E CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO

Além do uso na área da saúde, a CCI tem ganhado espaço na área esportiva como técnica para diminuir o tempo de recuperação necessário entre sessões de

treinamento físico ou competições, já que logo após esses eventos, uma pessoa fisicamente ativa ou um atleta podem apresentar diminuição do desempenho (12).

Conforme apresentado anteriormente, associada ao exercício físico, a crioterapia de corpo inteiro parece exercer efeitos na resposta inflamatória (5, 6, 73, 74) e oxidativa (37, 81-83), o que pode sugerir que esta forma de crioterapia induza o reparo da fibra muscular e conseqüentemente a recuperação da força muscular. Este processo de recuperação ocorreria, possivelmente, pela redução da degradação da membrana celular ou diminuição do aumento de sua permeabilidade. Estes dois fenômenos geralmente são causados tanto por agentes oxidativos, quanto pelo próprio estresse mecânico, os quais ocorrem com a realização do exercício físico intenso (4).

Partindo do pressuposto que a CCI poderia contribuir para recuperação do dano muscular, Banfi et al. (5) avaliaram marcadores inflamatórios assim como enzimas musculares em dez jogadores de Rugby antes e após a realização de cinco sessões de CCI (30 s a -60 °C acrescidos de 2 min a -110 °C), as quais ocorreram em dias alternados. Durante a realização do estudo foi mantido o mesmo programa de treino realizado nas semanas anteriores. Após as sessões de CCI foi encontrada diminuição de marcadores pró-inflamatórias: IL-8, molécula de adesão intercelular-I e prostaglandina E₂. Em adição, foi observado aumento da IL-10, a qual é anti-inflamatória. Outro interessante resultado deste estudo foi a diminuição das enzimas musculares relacionadas ao dano muscular: CK e a lactato desidrogenase. Os autores concluíram que as sessões de CCI foram eficazes em melhorar a recuperação do dano muscular induzido pelo exercício. No entanto, é importante ressaltar que no estudo mencionado os voluntários já realizavam a mesma rotina de treino há seis semanas, o que nos indica que eles não estariam sob os efeitos do dano muscular devido ao efeito da carga repetida (44). Além disso, não foi apresentada nenhuma variável relacionada ao dano muscular. Outro aspecto metodológico importante é que não foi utilizado um grupo controle, o que traz a possibilidade da própria sequência de treino ter provocado a resposta anti-inflamatória (6). Sendo assim, é importante ter cautela quanto à conclusão apresentada pelos pesquisadores.

Outros três estudos mostraram que a CCI contribui em acelerar a recuperação muscular (6-8). Pournot et al. (6) avaliaram o efeito da CCI na resposta anti-inflamatória após o dano muscular induzido pela corrida excêntrica. As sessões de CCI foram realizadas imediatamente, 24, 48 e 72 h após o exercício. Cada sessão de

CCI teve duração de 3 min e foi realizada numa criocâmara, a qual continha 3 ambientes (-10, -60 e -110 °C). O tempo em que os voluntários permaneceram em cada ambiente não foi especificado pelos autores. De acordo com os autores, as sessões de CCI comparadas à situação controle diminuíram a inflamação provocada pelo dano muscular, uma vez que houve diminuição tanto da IL-1 β quanto da proteína C-reativa (pró inflamatórias) e aumento do receptor antagonista de IL-1 (anti-inflamatória). Estas alterações ocorreram logo após a primeira sessão de CCI. Além disso, a CCI não alterou os níveis de IL-6, IL-10 e TNF- α . Por outro lado, como mencionado logo acima, no estudo de Banfi et al. (5) foi encontrado aumento nas concentrações de IL-10 após as sessões de CCI. As diferenças metodológicas entre os estudos: número de sessões de CCI e utilização de grupo controle podem ser responsáveis pela divergência na resposta da IL-10.

Em outro estudo realizado pelo mesmo grupo de autores e com delineamento experimental semelhante, Hausswirth et al. (7) compararam a eficácia da CCI, com a terapia com raios infravermelhos (INFRA) e com o método passivo (PAS) na recuperação do dano muscular induzido pela corrida com declive. A cada 3 semanas, 9 corredores realizaram uma corrida com duração de 48 min e com um misto de subidas e descidas. Imediatamente, 24 e 48 h após uma das três corridas todos os sujeitos foram expostos a cada um dos métodos de recuperação: CCI, INFRA e PAS. As sessões de CCI tiveram duração de 3 min e foram realizadas numa criocâmara, a qual continha 3 ambientes (-10, -60 e -110 °C). O tempo em que os voluntários permaneceram em cada ambiente não foi especificado pelos autores. A terapia com raios infravermelhos consistiu de 30 min de exposição aos raios infravermelhos. Os sujeitos permaneceram na posição supina dentro de um aparato, no qual o corpo inteiro, com exceção da cabeça, foi exposto a raios infravermelhos: 4-24 μ m e 45 °C. Por último, no método de recuperação passiva os sujeitos permaneceram sentados numa cadeira por 30 min em ambiente com temperatura de 24 °C. Os indicadores de dano muscular: força máxima isométrica, CK, sensações de dor muscular, cansaço e bem estar foram medidos pré e imediatamente após a corrida, assim como após cada uma das três sessões de recuperação (1, 24 e 48 h após a corrida). Com o uso da CCI houve recuperação da força máxima isométrica 1 h após a corrida em relação à medida logo após, enquanto na situação INFRA a recuperação da força máxima isométrica ocorreu 24 h após o exercício de indução do dano muscular. O método

passivo não provocou recuperação da força isométrica. Nenhum dos métodos de recuperação alterou as concentrações de CK. As sensações de dor e cansaço foram diminuídas após a primeira sessão de CCI, enquanto que a sensação de bem estar aumentou após a segunda sessão de CCI. Com o método INFRA, houve aumento da sensação de bem estar e diminuição da dor após a segunda exposição. Não houve alteração nas variáveis psicológicas com o método de recuperação passiva. Portanto, a CCI parece ser efetiva em reduzir o dano muscular causado pela corrida em declive.

Além disso, tem sido reportado que 5 sessões de CCI (3 min à -140 – -190 °C) melhorou a recuperação do pico de torque, a potência de início do salto vertical, e diminuiu a dor muscular após um protocolo de exercício para indução do dano muscular (8). Por outro lado, a recuperação do desempenho do salto vertical com e sem contra movimento e de marcadores bioquímicos não foram alterados (8), mostrando que a CCI não foi totalmente eficaz em acelerar a recuperação do DMIE. Outro estudo mostrou que a CCI não foi eficaz em melhorar a recuperação do dano muscular (9). Neste estudo, foram estudados 18 voluntários, dos quais 9 foram submetidos a duas sessões de CCI (-110 °C por 3 min) 24 h após o exercício no isocinético. O intervalo entre as duas sessões de CCI foi de 2 h. O exercício consistiu em 20 séries de 5 repetições excêntricas do joelho esquerdo numa velocidade de $90^{\circ}.s^{-1}$. Os outros 9 voluntários foram expostos ao ar de 15 °C por 3 min (situação controle). A força máxima isométrica, a potência durante testes no cicloergômetro e a dor muscular de início tardio foram medidas 1, 48, 72 e 96 h após o exercício no isocinético. A CCI não foi capaz de alterar nenhuma das variáveis medidas, corroborando os achados de estudos que utilizaram gelo e água fria como forma de crioterapia (18, 19). No entanto, os autores apontaram alguns problemas metodológicos: 1) o exercício excêntrico utilizado pode não ter refletido no dano muscular observado em outros estudos, 2) foi utilizado um único tipo de população: praticantes de atividade física três vezes por semana, e talvez o mais importante, e 3) a sessão de crioterapia foi administrada somente 24 horas após o exercício excêntrico, momento em que muito possivelmente, o dano muscular já estivesse instalado. Em adição, não foram medidas outras variáveis de dano muscular, tais como: inchaço muscular e marcadores sanguíneos.

Os resultados divergentes entre os estudos citados acima (6-9) podem ser devidos às diferenças metodológicas, tais como: 1) delineamento com grupos

independentes (9) vs cruzado com grupos dependentes (6-8), 2) número de sessões de CCI (1 vs 3 vs 5), 3) o tempo gasto entre a realização do exercício para indução do dano muscular e a CCI (imediatamente vs 24 h após o exercício) e 4) o uso de sujeitos fisicamente ativos (8, 9) vs treinados (6, 7). Sabe-se que o uso do delineamento cruzado com grupos dependentes para avaliar os efeitos do DMIE pode ser influenciado pelo efeito da carga repetida (8, 11). Além disso, o dano muscular pode ser menos profundo em atletas que em sujeitos fisicamente ativos (12). Portanto, apenas três (7-9) estudos com muitas diferenças metodológicas e resultados divergentes investigaram de forma direta os efeitos da CCI na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico. Adicionalmente, existe ambiguidade em relação ao protocolo ideal em termos de números de sessões, duração, temperatura e sexo (57-59).

Estas evidências sugerem que tal tema ainda não foi completamente elucidado, indicando que mais estudos nesta temática podem ser interessantes no sentido de investigar a efetividade da CCI em acelerar a recuperação muscular. Parece não existir nenhum estudo que tenha avaliado o efeito de apenas uma sessão de CCI realizada logo após o dano muscular na recuperação muscular. O uso de apenas uma sessão de CCI pode reduzir os custos e o tempo associado com múltiplos tratamentos, o que tem sido recorrentemente recomendado pelos fabricantes. Estudar esta poderá auxiliar profissionais que trabalham com prescrição de exercício físico, assim como aqueles que trabalham no meio esportivo e com a reabilitação. Assim, este tópico requer mais investigações.

Espera-se que as respostas fisiológicas à exposição ao frio da CCI acelere a recuperação do dano muscular. Um modelo lógico considerando as razões fisiológicas para o uso da CCI tem sido proposto por Costello et al. (10) e Ferreira-Junior et al. (11). A CCI causa uma vasoconstrição associada com a diminuição da temperatura interna e muscular (70). Esta vasoconstrição causaria uma redução no aporte sanguíneo e conseqüentemente nas células imunes que irrigam o tecido com dano. A próxima etapa seria o bloqueio da migração de leucócitos (neutrófilos, linfócitos e monócitos) da circulação sanguínea para o tecido danificado (11). As respostas termorregulatórias à CCI aceleraria a recuperação do DMIE por reduzir os níveis de moléculas de adesão do tipo 1 (11). Conseqüentemente, poucos leucócitos migrariam para o interior da célula muscular, resultando na diminuição da resposta inflamatória (11). Esta redução na resposta inflamatória aguda proveria um papel benéfico por

proteger a fibra muscular do dano muscular secundário e conseqüentemente diminuir o edema, dor muscular e acelerar a recuperação da força muscular.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

De acordo com Beck (95), o tamanho da amostra foi determinado pelo software GPower (versão 3.1.2; Franz Faul, Universitat Kiel, Alemanha). Basendo-se na força muscular, as seguintes especificações foram levadas em consideração para realização do cálculo amostral: nível de significância= 0,05; poder estatístico= 0,8; tamanho do efeito $f= 0,25$; tipo do teste= teste F e teste estatístico= ANOVA com interação entre e intra-grupos e com medida repetida. O tamanho da amostra estimado com tais especificações foi de 20 sujeitos. Vinte e seis homens jovens ($20,2 \pm 2,5$ anos, peso $71,4 \pm 9,1$ kg e estatura $174,8 \pm 7,3$ cm), todos estudantes universitários, participaram do estudo. Os critérios de inclusão foram sujeitos que não estivessem realizando treinamento de força ou exercícios pliométricos três meses antes do estudo.

Foram considerados aptos para participar do estudo voluntários que responderam não a todas as perguntas do questionário de risco para atividade física – PAR-Q (96) (Anexo A), bem como não para as perguntas de um questionário de Anamnese (Apêndice A). Tal anamnese foi elaborada considerando as contra indicações à CCI descritas por Podbielska et al. (79), as quais são: hipertensão não tratada, doença cardiovascular e respiratória, angina, oclusão arterial periférica, trombose, doenças do trato urinário, anemia severa, alergia ao frio, doença tumorais, infecções virais e bacterianas, síndrome de Reynaud, claustrofobia e convulsões. Também foram excluídos os voluntários que estivessem tomando medicamentos que pudessem afetar a função muscular. Os voluntários foram informados dos objetivos, procedimentos, possíveis desconfortos, riscos e benefícios do estudo antes de assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Brasília (Protocolo: 71484/2012) (Anexo C).

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os voluntários foram divididos aleatoriamente em dois grupos: crioterapia de corpo inteiro (CCI) e controle (Tabela 1). Idade, peso, estatura, dobras cutâneas (peito, coxa e abdômen), e os valores basais de pico de torque e dor muscular não foram diferentes entre os grupos ($p > 0,05$) (Tabela 1). Entretanto, os valores basais da espessura muscular da parte anterior da coxa foi maior no grupo CCI quando comparado ao controle ($p = 0,02$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características físicas, e valores basais do pico de torque e dor muscular dos participantes de cada grupo experimental.

Características físicas	Grupo controle (n=13)	Grupo CCI (n=13)	Valor de P
Idade (anos)	20,3 ± 2,2	20,2 ± 2,7	0,88
Massa corporal (kg)	72,1 ± 9,9	70,6 ± 7,8	0,67
Estatura (cm)	176,0 ± 8,0	173,5 ± 5,9	0,38
Dobra cutânea da coxa (mm)	15 ± 9	13 ± 7	0,56
Dobra cutânea do peito (mm)	9 ± 5	8 ± 2	0,63
Dobra cutânea do abdômen (mm)	19 ± 11	16 ± 6	0,45
Espessura muscular da parte anterior da coxa (mm)	37,2 ± 4,6	41,2 ± 3,3*	0,02
Pico de torque (N.m)	246,2 ± 61,4	261,8 ± 36,8	0,46
Dor muscular (mm)	19 ± 14	15 ± 14	0,31

CCI: crioterapia de corpo inteiro. (*) $p < 0,05$, maior que o grupo controle.

Os voluntários fizeram seis visitas ao laboratório. No primeiro dia, foi realizada a avaliação antropométrica e familiarização aos procedimentos do estudo. No segundo dia de visita ao laboratório, o qual ocorreu entre três e sete dias após a familiarização, os voluntários realizaram o protocolo de indução do dano muscular. Com o objetivo de testar os efeitos de uma sessão de CCI realizada 10 min após o DMIE na recuperação muscular, o grupo CCI foi exposto à 3 min de CCI à $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min após completar o protocolo de indução do dano muscular. O grupo controle não foi exposto a CCI 10 min após o protocolo de dano. Marcadores indiretos de dano muscular foram medidos antes (pré), imediatamente após, 24, 48, 72 e nas 96 h seguintes ao protocolo de indução do dano muscular sempre na mesma ordem: inchaço dos músculos anteriores da coxa, pico de torque isométrico e dor muscular dos extensores do joelho. Um diagrama do delineamento experimental para ambos os grupos está apresentado na Figura 3.

Para evitar a influência do ciclo circadiano, os sujeitos foram solicitados a visitar o laboratório sempre no mesmo horário do dia e a não realizar atividades físicas vigorosas durante o período do experimento. Eles também foram orientados a não ingerir medicamentos ou suplementos durante o estudo.

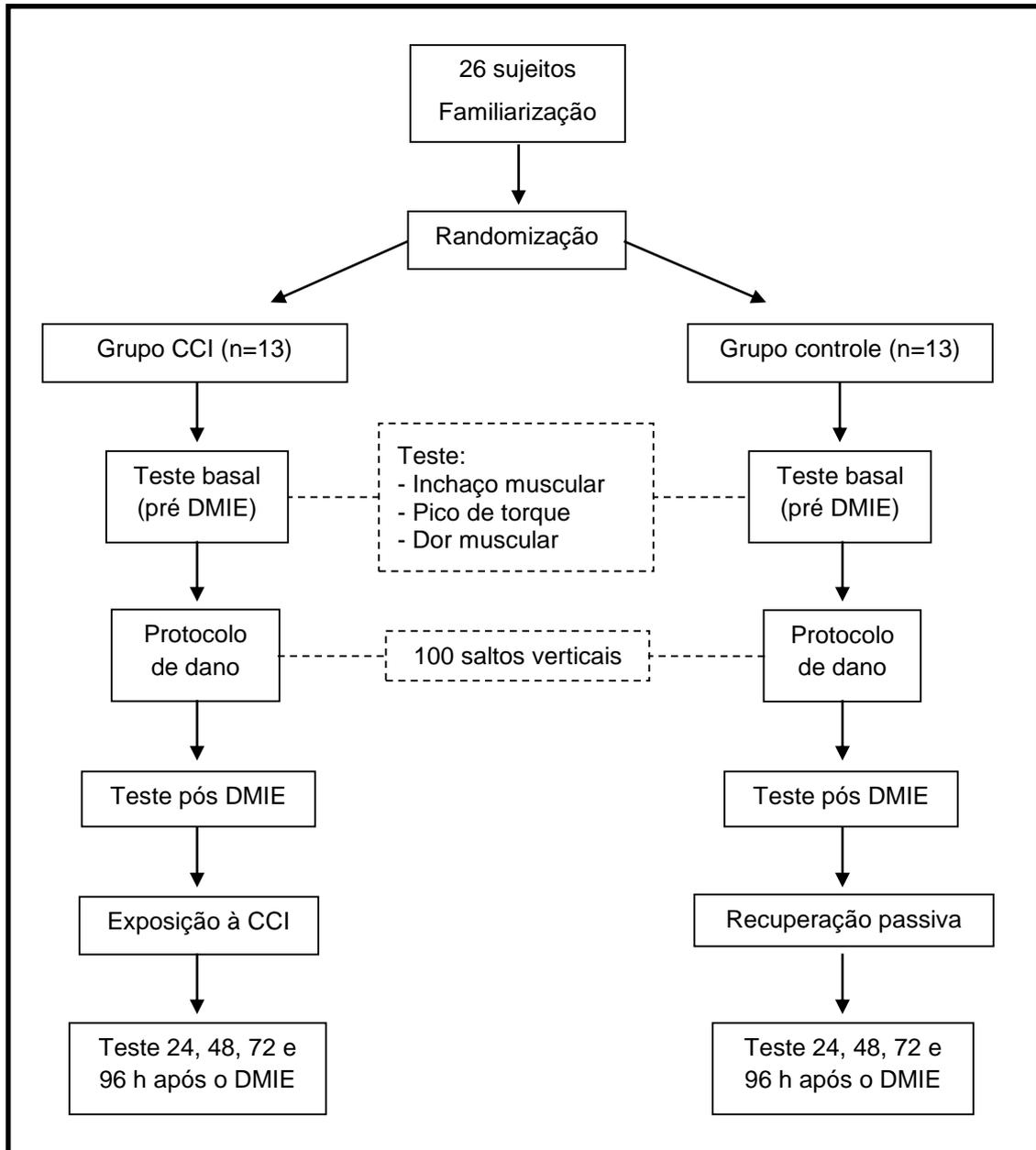


Figura 3 – Delineamento experimental.

CCI: crioterapia de corpo inteiro (-110 °C). DMIE: dano muscular induzido pelo exercício.

4.3 PROCEDIMENTOS

4.3.1 Avaliação Antropométrica

A avaliação antropométrica consistiu da medição da: a) massa corporal a partir de uma balança eletrônica/digital com resolução de 50 g (Lider, modelo P150M, Araçatuba, Brasil), b) estatura por meio de estadiômetro milimetrado (Sanny, modelo ES2020, São Bernardo, Brasil), e c) dobra cutânea do peito, costas e abdômen por meio de compasso de dobras cutâneas (Cescorf, Rio Grande do Sul, Brasil).

4.3.2 Protocolo de exercício para indução do dano muscular

O protocolo de DMIE consistiu de 5 séries de 20 saltos de uma caixa com altura de 0.6 m com 2 min de intervalo entre as séries. Após saltar da caixa e aterrissar no solo, os voluntários foram instruídos a realizar um salto vertical máximo e explosivo e depois aterrissar no solo (Figura 4). Os sujeitos também foram orientados a flexionar os joelhos a pelo menos 90° (0° representou a extensão completa) durante as aterrissagens, e a manter as mãos nos quadris durante o exercício. Além disso, eles receberam encorajamento verbal durante todo exercício. Protocolos similares de DMIE foram utilizados por outros estudos (8, 97, 98). A opção pelo treino para membro inferior ocorreu porque em estudo piloto realizado no nosso laboratório foi observada menor temperatura na pele da coxa ($18,3 \pm 7,4$ °C) comparada a pele do peito ($27,4 \pm 3,0$ °C) ao final da sessão de CCI (3 min a -110 °C).

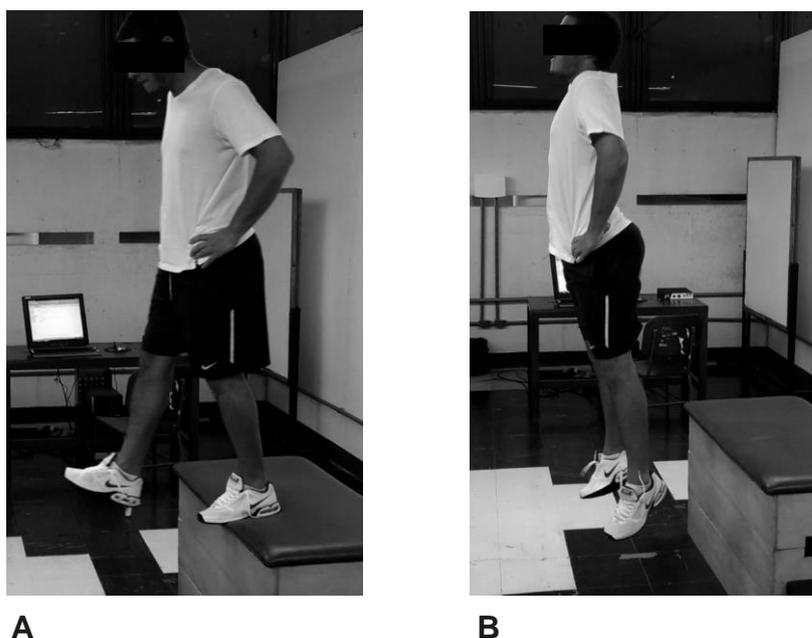
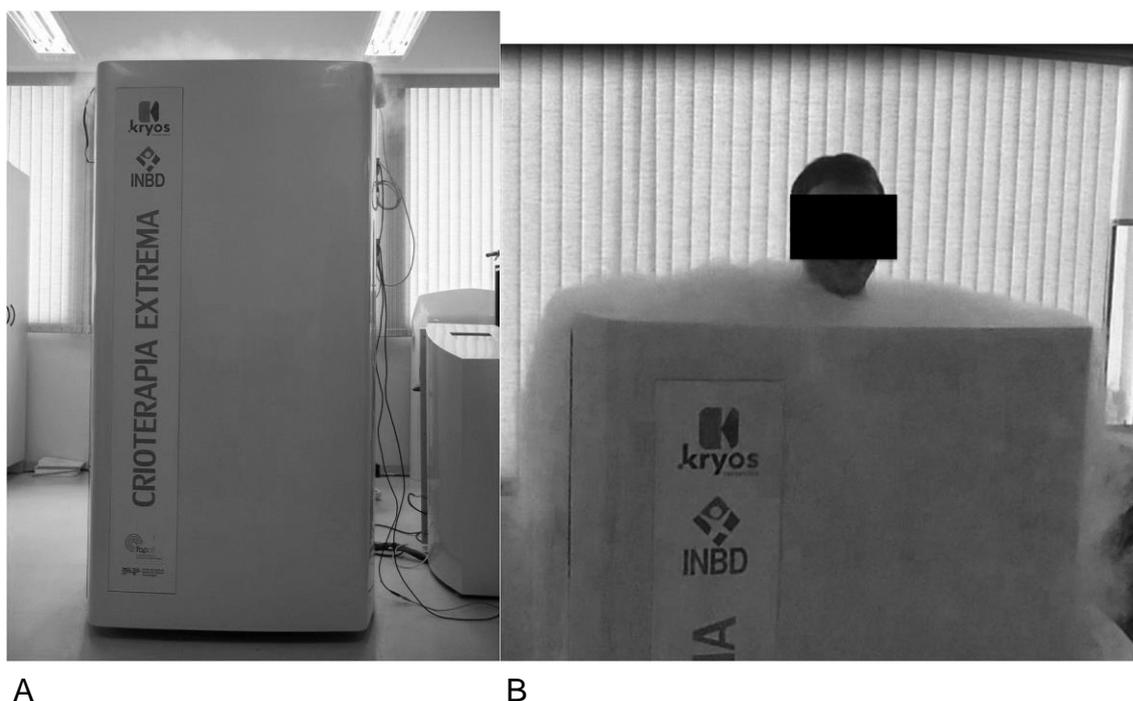


Figura 4 – Protocolo de saltos: A- Preparacao para o salto, B- Salto vertical.

4.3.3 Modalidades de recuperação

Durante a exposição à CCI (Figura 5) os sujeitos permaneceram na criocabine (Kryos Tecnologia, Brasília, Brazil) por 3 min a uma temperatura média de $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$. A temperatura e duração da exposição a CCI foram determinados de acordo com Banfi et al. (4). Os voluntários vestiram apenas uma sunga de natação, meias, luvas e tênis para proteger as extremidades. Já os voluntários do grupo controle realizaram recuperação passiva, durante a qual eles ficaram sentados em uma cadeira por 3 min a $21\text{ }^{\circ}\text{C}$. A temperatura da coxa (área central e anterior) foi medida por meio de um termômetro infra vermelho (Fluke, 566, China) antes e imediatamente após a CCI e da recuperação passiva. A área de medição foi marcada com uma caneta (Pilot 2 mm, Brazil) antes de cada condição.



A

B

Figura 5 – A- Criocabine. B- Voluntário durante a exposição de Crioterapia de corpo inteiro (CCI) a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.3.4 Inchaço muscular

O inchaço muscular foi medido em equipamento de ultrassonografia VMI (Philips Indústria e Comércio Ltda., Lagoa Santa, MG, Brasil). Antes da realização da ultrassonografia o indivíduo permaneceu em repouso por 10 min sobre a maca na posição supina e com as pernas relaxadas. A região para colocação do transdutor foi marcada com caneta de alta fixação a fim de que as medidas de ultrassonografia fossem realizadas no mesmo local ao longo de todos os dias de coleta. Um transdutor de 7.5 MHz foi posicionado sobre a pele perpendicularmente ao tecido da interface (músculos avaliados). A fim de fornecer um melhor contato e melhor imagem, sem a compressão da superfície cutânea, foi utilizado um gel de transmissão a base de água.

A espessura dos músculos anteriores da coxa (reto femoral e vasto intermédio) foi medida a 60% da distância entre o trocânter maior e o epicôndilo lateral, e a 3 cm lateral da linha média da parte anterior da coxa (99). Uma vez que o avaliador estivesse satisfeito com a qualidade da imagem, ela foi congelada no monitor. As imagens foram digitalizadas e posteriormente analisadas no software Image-J

(National Institute of Health, USA, version 1.37). Por meio de tal software, a espessura muscular foi definida como a distância perpendicular entre o tecido adiposo subcutâneo e o tecido ósseo, no caso a borda do fêmur.

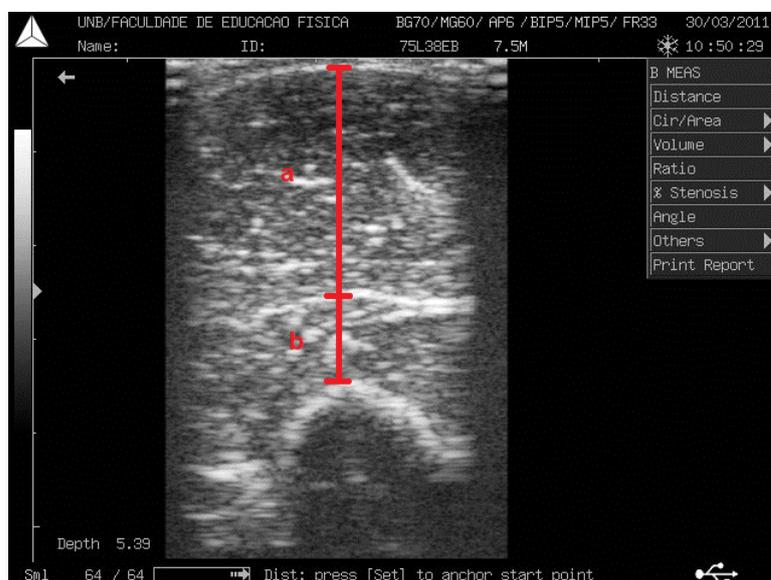


Figura 6 – Medida do inchaço muscular: distancia perpendicular entre o tecido adiposo subcutâneo e o tecido ósseo, no caso a borda do fêmur pico.

4.3.5 Pico de torque

O pico de torque isométrico dos extensores do joelho direito foi avaliado no dinamômetro isocinético Biodex System III (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY, USA) (Figura 6). Os voluntários foram posicionados no banco do dinamômetro. Cintos foram afivelados no peito, pelve e coxa para minimizar movimentos corporais auxiliares que poderiam afetar a realização das contrações isométricas dos extensores do joelho direito. O epicôndilo lateral do fêmur direito foi alinhado ao eixo de rotação do dinamômetro isocinético, permitindo a flexão e extensão do joelho de forma confortável e livre. Com os sujeitos posicionados no banco, as seguintes medições foram registradas: altura do banco, profundidade do banco, distância do dinamômetro, altura do dinamômetro, inclinação do encosto, comprimento do braço de força. Estas medidas foram registradas na sessão de familiarização para padronizar a posição de cada voluntário. A correção da gravidade foi obtida pela medição do torque exercido

pelo conjunto: braço de força e perna do voluntário, na extensão completa com a perna relaxada. Os dados do pico de torque foram automaticamente ajustados pela gravidade pelo software Biodex Advantage (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY, USA). Todos estes procedimentos estavam de acordo com Bottaro et al. (100). A calibração do dinamômetro Biodex foi realizada de acordo com as especificações contidas no manual do fabricante.

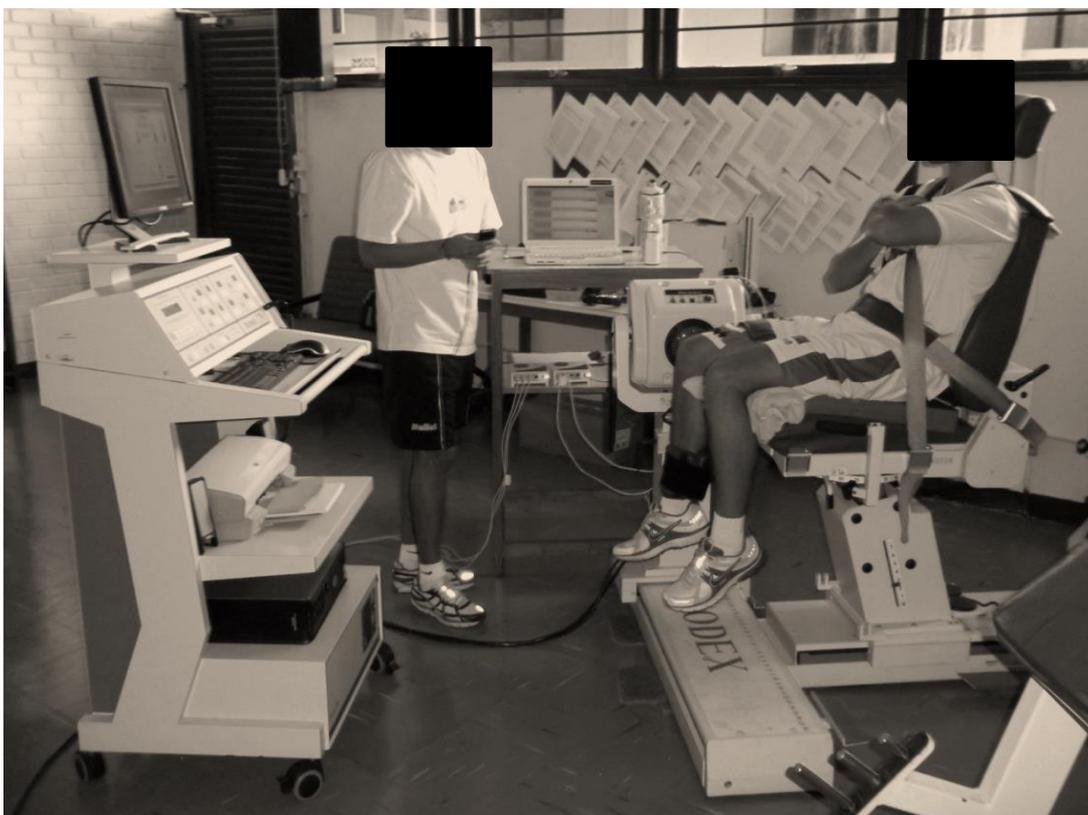


Figura 7 – Medida do pico de torque isométrico dos extensores do joelho.

Após ter suas pernas posicionadas no dinamômetro a um ângulo de 60° (0° representou a extensão completa) os sujeitos foram instruídos a cruzarem os braços sobre o peito e a contrair o máximo possível seus extensores do joelho direito por 4 s. Todos os voluntários tiveram duas tentativas para alcançar o pico de torque, com 1 min de intervalo entre cada tentativa. Além disso, não foi realizado aquecimento antes do teste isocinético porque num recente estudo foi verificado que não houve diferença entre cinco tipos de protocolos de aquecimento e protocolo controle (sem

aquecimento) no desempenho isocinético (101). Os procedimentos do teste foram realizados pelo mesmo avaliador e os participantes receberam encorajamento verbal durante todo teste.

4.3.6 Dor muscular tardia

A dor muscular tardia foi determinada por meio do uso de uma escala analógica visual de 100 mm (Figura 7) com “nenhuma dor” representando 0 mm e “muita dor” representando 100 mm (17). Os voluntários reportaram a dor no quadríceps durante a contração isométrica máxima dos extensores do joelho direito.



Figura 8 – Escala Análoga Visual para avaliação da dor muscular tardia.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Como os dados basais da espessura muscular foram diferentes entre os grupos controle e CCI, o inchaço muscular foi analisado pelo uso da mudança percentual em relação aos dados basais. Considerando que os dados de pico de torque e inchaço muscular apresentaram distribuição normal, a análise de variância dois fatores (grupo [CCI e controle] x tempo [pré, imediatamente após, 24, 48, 72 e nas 96 h seguintes ao DMIE]) de modelos mistos e *post hoc* de *Holm-Sidak*. As características físicas e os dados basais de pico de torque foram avaliados através do teste t independente. Como os dados de dor muscular não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para análise da dor muscular entre os grupos e o teste de Friedman para análise intra-grupo. O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$. Além disso, o

tamanho do efeito foi calculado para avaliar a magnitude do efeito da crioterapia de corpo inteiro. Os valores f de Cohen de 0,1, 0,25 e 0,4 foram usados para classificar o efeito como pequeno, médio e grande, respectivamente. Para o cálculo dos valores f de Cohen foi utilizada a seguinte fórmula (95, 102):

$$f = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^k (\mu_j - \mu)^2}{k \sigma_{error}^2}},$$

onde μ_j é a média do grupo, μ é a média global, k é o número de grupos, e σ_{error} é o desvio padrão intra-grupos.

5 RESULTADOS

O pico de torque dos extensores do joelho está apresentado na Figura 8. Houve interação significativa entre os fatores grupo x tempo para o pico de torque ($F= 2,32$, $p= 0,047$, poder estatístico= $0,45$, $f= 0,3$). O pico de torque diminuiu imediatamente após o DMIE, sem diferença entre os grupos ($32 \pm 13,3$ % para o grupo controle e $28,6 \pm 11,9$ % para o grupo CCI, $p= 0,46$). O grupo CCI recuperou o pico de torque 72 h após o DMIE ($p > 0,05$), enquanto o grupo controle não recuperou o pico de torque nas 96 h após o DMIE ($p < 0,05$). Em adição, o pico de torque foi maior no grupo que realizou a CCI nas 72 (CCI: $238,5 \pm 50,4$ N.m vs. grupo controle: $189,8 \pm 52,6$ N.m) e 96 h (CCI: $255,8 \pm 41,6$ N.m vs. grupo controle: $207,3 \pm 56,9$ N.m) quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$).

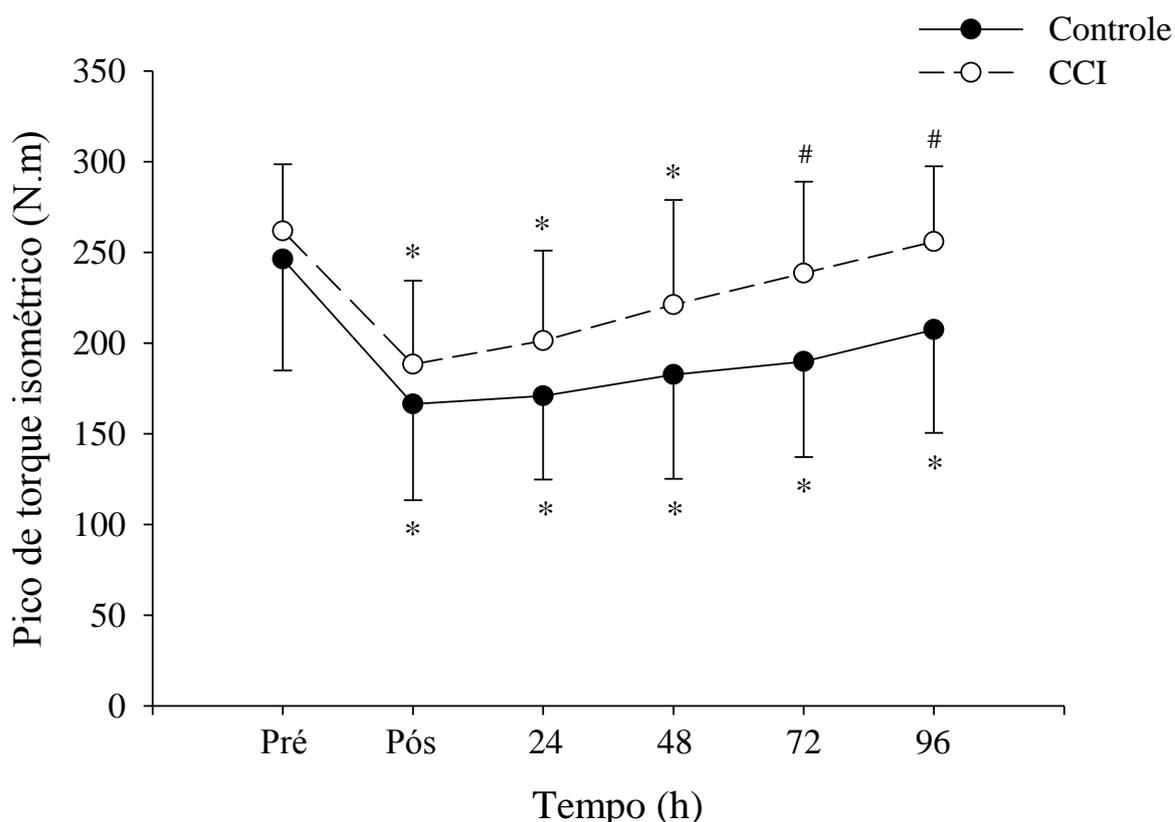


Figura 9 – Média \pm desvio padrão do pico de torque isométrico antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h seguintes ao exercício de indução do dano muscular. CCI: crioterapia de corpo inteiro (-110 °C). (*) $p < 0,05$, menor que pré. (#) $p < 0,05$, maior que o grupo controle.

Foi encontrada uma interação significativa entre os fatores grupo x tempo para o edema muscular da parte anterior da coxa ($F= 3,57$, $p= 0,005$, poder estatístico= $0,78$, $f= 0,37$) (Figura 9). O inchaço muscular aumentou 24 h após o DMIE no grupo controle ($p< 0,001$) e não foi alterado no grupo CCI durante as 96 h após o DMIE ($p> 0,05$). Além disso, o inchaço muscular foi maior no grupo controle nas 24 e 96 h após o DMIE quando comparado ao grupo CCI ($p<0,05$) (Figura 9).

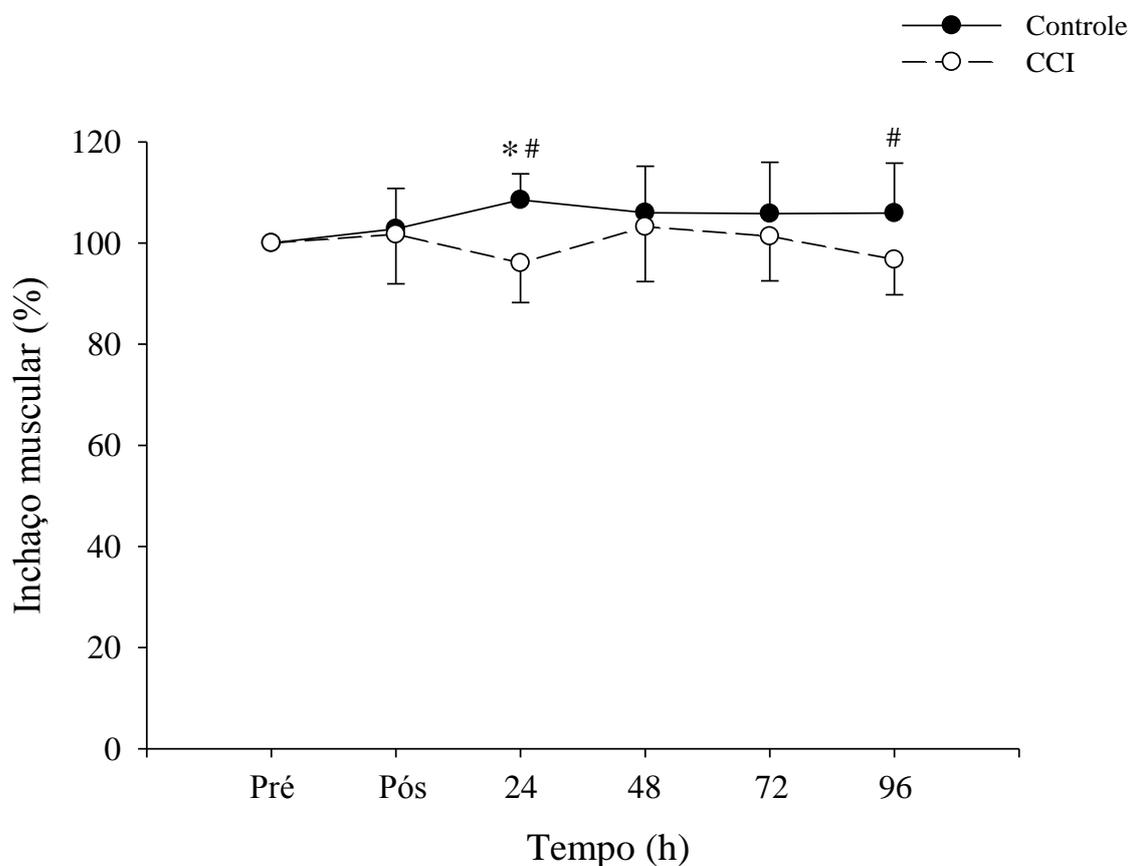


Figura 10 – Média \pm desvio padrão da mudança percentual do inchaço muscular em relação antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h após ao exercício de indução do dano muscular. CCI: crioterapia de corpo inteiro ($-110\text{ }^{\circ}\text{C}$). (*) $p< 0,05$, maior que pré. (#) $p< 0,05$, maior que o grupo CCI.

A dor muscular dos extensores do joelho esta apresentada na Figura 10. O grupo CCI recuperou da dor nos extensores do joelho 72 h após o DMIE [$\chi^2=24,53$, $p < 0,001$], enquanto o grupo controle recuperou somente 96 h após o DMIE [$\chi^2=29,36$, $p < 0,001$] (Figura 10). Não houve diferença na dor muscular tardia entre os grupos ($p > 0.05$).

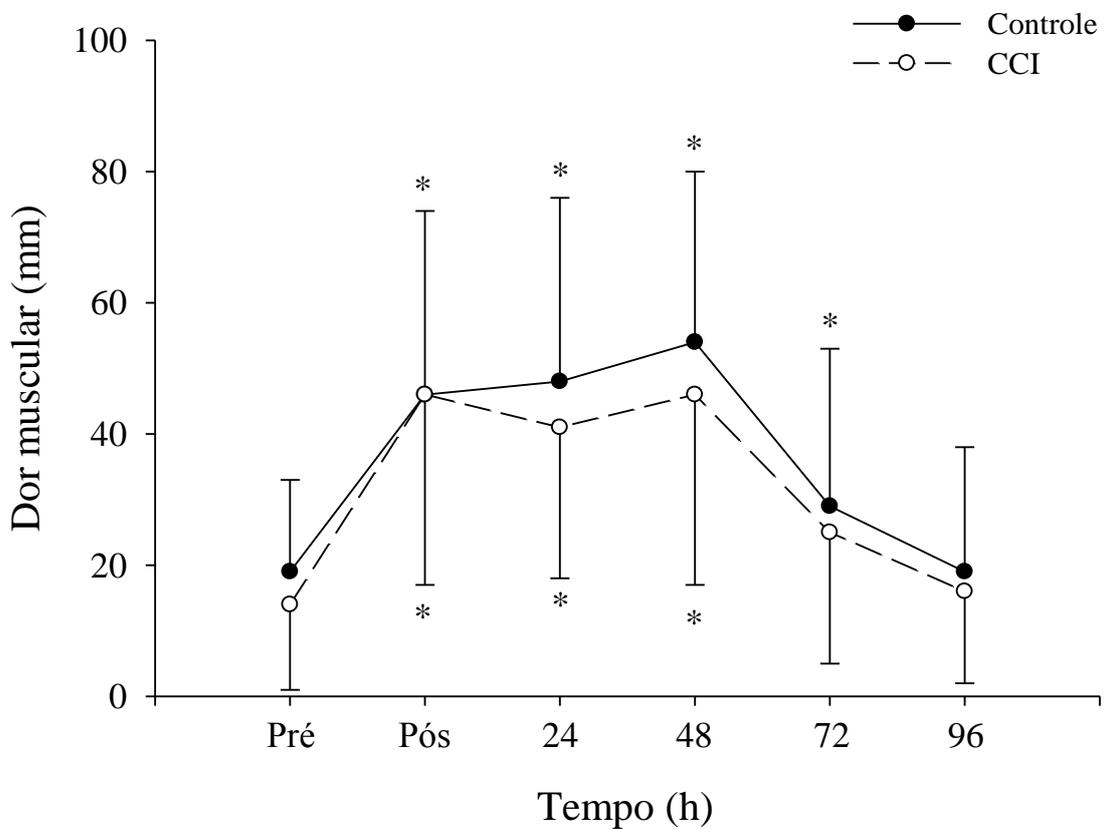


Figura 11 – Média \pm desvio da dor muscular dos extensores do joelho antes (pré), imediatamente após, e nas 24-96 h seguintes ao exercício de indução do dano muscular. CCI: crioterapia de corpo inteiro (-110 °C). (*) $p < 0,05$, maior que pré

6 DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de uma sessão de CCI (3 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) 10 min após o DMIE na recuperação muscular em homens jovens fisicamente ativos. A hipótese inicial foi confirmada, já que a uma sessão de CCI acelerou a recuperação da força muscular e aliviou a dor 72 h após o exercício de dano muscular. Além disso, a exposição à CCI minimizou o inchaço muscular. Em contraste, o grupo controle não recuperou a força muscular aos valores basais, e recuperou do inchaço muscular e dor 24 e 96 h após DMIE, respectivamente. Uma possível explicação para estes resultados pode estar relacionada a diminuição nas temperaturas interna, muscular e da pele após a exposição à CCI (70). A diminuição na temperatura pode estimular receptores cutâneos e excitar fibras simpáticas adrenérgicas, levando a constrição de arteríolas e veias (103). A redução das moléculas de adesão do tipo 1 associada ao menor aporte sanguíneo causaria diminuição da entrada de células imunes e conseqüentemente diminuiria a resposta pró inflamatória (IL-2, IL-6, IL-8, IL- 1β , PGE-2 e proteína C reativa), diminuiria as espécies reativas de oxigênio, e aumentaria a resposta anti-inflamatória (11). Este processo seria responsável em atenuar o dano muscular secundário, contribuindo para a melhora da recuperação da força muscular e diminuição do edema. O menor edema pode diminuir a pressão no local. Como conseqüência da diminuição da pressão, menor seria a ativação dos nociceptores, levando a redução da dor (2). Além disso, por meio da diminuição da temperatura da pele, a CCI pode diminuir a velocidade da condução do estímulo nervoso aferente e também a sensibilidade dos nociceptores, o que poderia contribuir para o alívio da dor (10).

Considerando os efeitos da CCI no processo inflamatório, Pournot et al. (6) avaliaram o efeito de três sessões de CCI (3 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) após o DMIE na resposta inflamatória aguda de corredores treinados. Eles observaram um aumento no receptor antagonista de IL-1 e diminuição na IL- 1β e proteína C-reativa. Adicionalmente, uma sessão de CCI 40 min antes do exercício submáximo diminuiu os níveis de IL-6, IL- 1β , superóxido dismutase e atividade catalítica em comparação ao exercício realizado com ausência da CCI (37). Tem sido reportado que cinco sessões de CCI (30 s a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 2 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) em atletas diminui as moléculas de adesão do tipo I, as

concentrações sanguíneas de enzimas musculares (CK e LDH) e a resposta pró-inflamatória (prostaglandina E2, interleucina IL-2 e IL-8) (5). Em adição, a citocina anti-inflamatória IL-10 foi aumentada (5). Segundo Zieman (36), o uso de duas sessões diárias de CCI durante cinco dias em conjunto com o treino de intensidade moderada é mais efetiva para o processo de recuperação que o método de recuperação passiva. As sessões de CCI resultaram na diminuição da TNF- α e no aumento da IL-6 (36). Outros estudos mostram efeitos positivos da CCI em conjunto com o exercício físico na resposta inflamatória e oxidativa (81-83). Portanto, as exposições à CCI parecem diminuir a resposta inflamatória por meio da vasoconstrição a nível muscular causada pela queda da temperatura muscular. Esta hipótese é suportada por Costello et al. (70), os quais encontraram diminuição de $1,6 \pm 0,6$ °C na temperatura do vasto lateral após a exposição à CCI. Também foi mostrado que a temperatura retal diminuiu $0,3 \pm 0,2$ °C 60 min após a sessão de CCI (70). Apesar da temperatura muscular não ter sido medida no presente estudo, a temperatura da pele da coxa diminuiu de $33,0 \pm 0,9$ °C para $15,7 \pm 3,9$ °C imediatamente após a exposição à CCI. Entretanto, a maior parte dos estudos que investigaram os efeitos da CCI na resposta inflamatória e oxidativa ao exercício físico avaliaram seu efeito após múltiplas sessões de CCI (5, 36, 81-83). Sendo assim, sugere-se que futuros estudos devem ser realizados no intuito de determinar se uma sessão de CCI de fato diminui os níveis de molécula de adesão do tipo 1 (11).

Stanek et al. (75) sugeriram que os efeitos anti-inflamatórios da CCI podem estar relacionados a estabilização da membrana do lisossomo com subsequente inibição de liberação de enzimas ativas do lisossomo, as contribuem para a degradação da membrana celular. Tem sido demonstrado uma diminuição na atividade de enzimas lisossômicas: 32% na fosfatase ácida e 46% na arisulfatase após 6 dias de exposição à CCI (83). Todavia, uma sessão de CCI não alterou a atividade das enzimas lisossômicas e não causou estabilidade da membrana lisossômica (83). Portanto, considerando os resultados desses estudos (75, 83), especula-se que apenas exposições crônicas e não agudas à CCI podem causar uma estabilização da membrana lisossômica e influenciar na resposta anti-inflamatória. Assim, os resultados do presente estudo não poderiam estar relacionados à estabilização da membrana do lisossomo.

Os resultados do presente estudo são similares a outros que avaliaram o efeito da CCI na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício (7, 8). Um estudo prévio mostrou que três sessões de CCI (3 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) após o protocolo de indução do dano muscular em corredores treinados acelerou a recuperação da força muscular e a sensação de bem estar, e também diminuiu a dor muscular e o cansaço (7). Em outro estudo, cinco sessões de CCI (3 min entre -140 e $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$) melhorou a recuperação do pico de torque, potência inicial do salto vertical, e diminuiu a dor muscular (8). Além do número de exposições à CCI, o corrente estudo difere dos outros citados acima (7, 8) em relação ao delineamento experimental. No presente estudo foi usado delineamento com grupos independentes, enquanto que nos outros estudos foi utilizado grupos dependentes (7, 8). De acordo com Fonda e Sarabon (8) e Ferreira-Junior et al. (11), a maior limitação do delineamento cruzado com grupos dependentes para avaliar os efeitos do DMIE é que ele pode ser influenciado pelo efeito da carga repetida (2, 44).

Por outro lado, usando delineamento com grupos independentes, Costello et al. (9) mostraram que uma sessão de CCI (20 s a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 3 min a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) em indivíduos saudáveis não acelerou a recuperação da força muscular nem diminuiu a dor muscular. A principal diferença entre o corrente estudo e o de Costello et al. (9) é o momento de exposição à CCI. No presente estudo os voluntários foram expostos à CCI 10 min após protocolo de indução do dano muscular, enquanto que no outro estudo (9) a exposição à CCI ocorreu 24 h após o exercício. Imediatamente após o DMIE, neutrófilos e linfócitos são mobilizados em direção ao local danificado, e citocinas pro-inflamatórias são produzidas no músculo pelos linfócitos e monócitos mobilizados (1-3, 11). Essas substâncias juntas causam uma degradação intramuscular, a qual amplifica o dano muscular inicial (1-3, 11). Portanto, pode-se sugerir que a CCI aplicada 24 h após o DMIE não evitaria a diminuição do dano muscular secundário causado pelo processo inflamatório agudo (11).

Como esperado, o protocolo de exercício utilizado no presente estudo causou um dano muscular significativo, já que foi observado no grupo controle uma redução de $32 \pm 13,3\%$ no pico de torque, aumento na espessura muscular de $8,5 \pm 5,1\%$ e dor muscular moderada. Este dano muscular observado corrobora os achados de outros estudos que usaram o exercício de salto vertical como protocolo para indução do dano muscular (97, 98).

A maior limitação do presente estudo foi que a temperatura interna e do músculo quadríceps, enzimas musculares (CK, mioglobina e LDH) e marcadores inflamatórios (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) não foram medidos. Assim, o modelo proposto por Ferreira-Junior et al. (11) não pôde ser testado. Futuros estudos são necessários com objetivo de entender os efeitos da CCI no processo inflamatório relacionado ao dano muscular. O corrente estudo avaliou apenas homens jovens fisicamente ativos. A CCI pode ser mais acessível à população de atletas e o dano muscular menos intenso nesta população (12). Em adição, as características antropométricas e sexuais parecem afetar a magnitude do resfriamento após a exposição à CCI (59). Sendo assim, mais estudos neste tópico são necessários com intuito de verificar se a CCI pode acelerar a recuperação após o treinamento físico intenso ou competição em outras populações, tais como atletas e mulheres. Além disso, considerando que existe ambiguidade a respeito do protocolo ideal de CCI em termos de números de sessões, duração e temperatura (57, 58), próximos estudos devem avaliar os efeitos destas questões na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que comparada ao grupo controle, uma exposição de CCI acelerou a recuperação da força muscular, aliviou a dor e evitou o inchaço muscular. Portanto, uma sessão de CCI (3 min à $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$) 10 min após o exercício físico intenso foi efetiva em acelerar a recuperação do dano muscular em homens jovens fisicamente ativos. Do ponto de vista prático, a CCI pode ser aplicada após uma sessão de treinamento físico intenso para melhorar a recuperação muscular. Pode-se sugerir que uma sessão de CCI representa uma alternativa para reduzir os custos e o tempo associado à múltiplas exposições. Entretanto, uma questão que deve ser investigada em futuros estudos é se o mesmo efeito seria observado em atletas que costumam apresentar um dano muscular menos intenso, mas que, em contrapartida podem ter mais acesso à CCI. Adicionalmente, os achados reportados no presente estudo podem ser aplicados apenas quando a CCI é administrada 10 min após o dano muscular induzido pelo exercício.

REFERÊNCIAS

1. Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, Peake JM. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev.* 2012;18:42-97.
2. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002;81(11 Suppl):S52-69.
3. Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev.* 2005;11:64-85.
4. Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Melegati G. Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports Med.* 2010;40(6):509-17.
5. Banfi G, Melegati G, Barassi A, Dogliotti G, d'Eril GM, Dugue B, et al. Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes. *J Therm Biol.* 2009;34(2):55-9.
6. Pournot H, Bieuzen F, Louis J, Mounier R, Fillard JR, Barbiche E, et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. *PLoS One.* 2011;6(7):e22748.
7. Hausswirth C, Louis J, Bieuzen F, Pournot H, Fournier J, Filliard JR, et al. Effects of whole-body cryotherapy vs. far-infrared vs. passive modalities on recovery from exercise-induced muscle damage in highly-trained runners. *PLoS One.* 2011;6(12):e27749.
8. Fonda B, Sarabon N. Effects of whole-body cryotherapy on recovery after hamstring damaging exercise: A crossover study. *Scand J Med Sci Spor.* 2013 Oct;23(5):E270-E8.
9. Costello JT, Algar LA, Donnelly AE. Effects of whole-body cryotherapy (-110 degrees C) on proprioception and indices of muscle damage. *Scand J Med Sci Sports.* 2012;22(2):190-8.
10. Costello JT, Baker PRA, Minett GM, Bieuzen F, Stewart IB, Bleakley C. Whole-body cryotherapy (extreme cold air exposure) for preventing and treating muscle soreness after exercise in adults. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2013;10:CD010789.
11. Ferreira-Junior JB, Bottaro M, Loenneke JP, Vieira A, Vieira CA, Bembem MG. Could whole-body cryotherapy (below -100 degrees C) improve muscle recovery from muscle damage? *Front Physiol.* 2014;5:247.
12. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes - Does it help? *Sports Medicine.* 2006;36(9):781-96.

13. Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* 2003;33(2):145-64.
14. Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med.* 1999;27(1):43-59.
15. Clarkson PM, Sayers SP. Etiology of exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol.* 1999;24(3):234-48.
16. MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC. Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med.* 1995;20(1):24-40.
17. Flores DF, Gentil P, Brown LE, Pinto RS, Carregaro RL, Bottaro M. Dissociated time course of recovery between genders after resistance exercise. *J Strength Cond Res.* 2011;25(11):3039-44.
18. Paddon-Jones DJ, Quigley BM. Effect of cryotherapy on muscle soreness and strength following eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 1997;18(8):588-93.
19. Sellwood KL, Brukner P, Williams D, Nicol A, Hinman R. Ice-water immersion and delayed-onset muscle soreness: a randomised controlled trial. *Br J Sports Med.* 2007;41(6):392-7.
20. Eston R, Peters D. Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage. *J Sports Sci.* 1999;17(3):231-8.
21. Bailey DM, Erith SJ, Griffin PJ, Dowson A, Brewer DS, Gant N, et al. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. *J Sports Sci.* 2007;25(11):1163-70.
22. Chen TC. Effects of a second bout of maximal eccentric exercise on muscle damage and electromyographic activity. *Eur J Appl Physiol.* 2003;89(2):115-21.
23. Chen TC, Nosaka K. Effects of number of eccentric muscle actions on first and second bouts of eccentric exercise of the elbow flexors. *J Sci Med Sport.* 2006;9(1-2):57-66.
24. Clarkson PM, Byrnes WC, McCormick KM, Turcotte LP, White JS. Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *Int J Sports Med.* 1986;7(3):152-5.
25. Chen TC, Lin KY, Chen HL, Lin MJ, Nosaka K. Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(2):211-23.
26. Morgan DL. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J.* 1990;57(2):209-21.
27. Proske U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol.* 2001;537(Pt 2):333-45.

28. Proske U, Allen TJ. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005;33(2):98-104.
29. Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA, Armstrong RB. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. *Exerc Sport Sci Rev.* 2001;29(2):82-7.
30. Allen DG, Whitehead NP, Yeung EW. Mechanisms of stretch-induced muscle damage in normal and dystrophic muscle: role of ionic changes. *J Physiol.* 2005;567(Pt 3):723-35.
31. Newham DJ, McPhail G, Mills KR, Edwards RH. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J Neurol Sci.* 1983;61(1):109-22.
32. Stauber WT, Clarkson PM, Fritz VK, Evans WJ. Extracellular matrix disruption and pain after eccentric muscle action. *J Appl Physiol (1985).* 1990;69(3):868-74.
33. Smith LL, Anwar A, Fragen M, Rananto C, Johnson R, Holbert D. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2000;82(1-2):61-7.
34. Bruunsgaard H, Galbo H, Halkjaer-Kristensen J, Johansen TL, MacLean DA, Pedersen BK. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *J Physiol.* 1997;499 (Pt 3):833-41.
35. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Moller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(2):E433-7.
36. Ziemann E, Olek RA, Kujach S, Grzywacz T, Antosiewicz J, Garszka T, et al. Five-day whole-body cryostimulation, blood inflammatory markers, and performance in high-ranking professional tennis players. *J Athl Train.* 2012;47(6):664-72.
37. Mila-Kierzenkowska C, Jurecka A, Wozniak A, Szpinda M, Augustynska B, Wozniak B. The effect of submaximal exercise preceded by single whole-body cryotherapy on the markers of oxidative stress and inflammation in blood of volleyball players. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:409567.
38. Malm C, Sjodin TL, Sjoberg B, Lenkei R, Renstrom P, Lundberg IE, et al. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *J Physiol.* 2004;556(Pt 3):983-1000.
39. O'Connor PJ, Cook DB. Exercise and pain: the neurobiology, measurement, and laboratory study of pain in relation to exercise in humans. *Exerc Sport Sci Rev.* 1999;27:119-66.
40. Tricoli V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. *Rev Bras Ciên e Mov.* 2001;24(2):189-96.

41. Schoenfeld BJ. Does exercise-induced muscle damage play a role in skeletal muscle hypertrophy? *J Strength Cond Res.* 2012;26(5):1441-53.
42. Russell B, Dix DJ, Haller DL, Jacobs-El J. Repair of injured skeletal muscle: a molecular approach. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24(2):189-96.
43. Zammit PS. All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? *J Cell Sci.* 2008 Sep 15;121(Pt 18):2975-82.
44. McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2003;13(2):88-97.
45. Brentano MA, Martins Kruegel LF. A review on strength exercise-induced muscle damage: applications, adaptation mechanisms and limitations. *J Sports Med Phys Fitness.* 2011;51(1):1-10.
46. Chen TC, Hsieh SS. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(10):1732-8.
47. Takarada Y, Nakamura Y, Aruga S, Onda T, Miyazaki S, Ishii N. Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. *J Appl Physiol (1985).* 2000;88(1):61-5.
48. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Loenneke JP, Naimo MA. Practical blood flow restriction training increases acute determinants of hypertrophy without increasing indices of muscle damage. *J Strength Cond Res.* 2013;27(11):3068-75.
49. Nelson N. Delayed onset muscle soreness: is massage effective? *J Bodyw Mov Ther.* 2013;17(4):475-82.
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(4):233-40.
51. Hill J, Howatson G, van Someren K, Leeder J, Pedlar C. Compression garments and recovery from exercise-induced muscle damage: a meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2014;48(18):1340-6.
52. Bieuzen F, Bleakley CM, Costello JT. Contrast water therapy and exercise induced muscle damage: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(4):e62356.
53. Schoenfeld BJ. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs for exercise-induced muscle damage: implications for skeletal muscle development. *Sports Med.* 2012;42(12):1017-28.
54. Herbert RD, de Noronha M, Kamper SJ. Stretching to prevent or reduce muscle soreness after exercise. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(7):CD004577.

55. Ferreira-Junior JB, Vieira CA, Soares SR, Guedes R, Rocha Junior VA, Simoes HG, et al. Effects of a Single Whole Body Cryotherapy (-110 degrees C) Bout on Neuromuscular Performance of the Elbow Flexors during Isokinetic Exercise. *Int J Sports Med*. 2014[Epub ahead of print].
56. Ferreira-Junior JB, Bottaro M, Vieira CA, Soares SR, Vieira A, Cleto VA, et al. Effects of Partial-body Cryotherapy (- 110 degrees C) on Muscle Recovery between High-intensity Exercise Bouts. *Int J Sports Med*. 2014[Epub ahead of print].
57. Fonda B, De Nardi M, Sarabon N. Effects of whole-body cryotherapy duration on thermal and cardio-vascular response. *J Therm Biol*. 2014;42:52-5.
58. Selfe J, Alexander J, Costello JT, May K, Garratt N, Atkins S, et al. The effect of three different (-135 degrees C) whole body cryotherapy exposure durations on elite rugby league players. *PLoS One*. 2014;9(1):e86420.
59. Hammond LE, Cuttell S, Nunley P, Meyler J. Anthropometric characteristics and sex influence magnitude of skin cooling following exposure to whole body cryotherapy. *Biomed Res Int*. 2014;2014:628724.
60. Rymaszewska J, Tulczynski A, Zagrobelny Z, Kiejna A, Hadrys T. Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms - preliminary report. *Acta Neuropsychiatr*. 2003;15(3):122-8.
61. Metzger D, Zwingmann C, Protz W, Jackel WH. [Whole-body cryotherapy in rehabilitation of patients with rheumatoid diseases--pilot study]. *Rehabilitation (Stuttg)*. 2000;39(2):93-100.
62. Ksiezopolska-Pietrzak K. Cryotherapy in the treatment of rheumatic disease. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2000;2(4):66-9.
63. Rymaszewska J, Ramsey D, Chladzinska-Kiejna S. Whole-body cryotherapy as adjunct treatment of depressive and anxiety disorders. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2008;56(1):63-8.
64. Miller E, Mrowicka M, Malinowska K, Mrowicki J, Saluk-Juszczak J, Kedziora J. The effects of whole-body cryotherapy on oxidative stress in multiple sclerosis patients. *J Therm Biol*. 2010;35(8):406-10.
65. Westerlund T, Oksa J, Smolander J, Mikkelsen M. Thermal responses during and after whole-body cryotherapy (-110 degrees C). *J Therm Biol*. 2003;28(8):601-8.
66. Banfi G, Melegati G, Barassi A, D'Eril GM. Beneficial effects of the whole-body cryotherapy on sport haemolysis. *J Hum Sport Exerc*. 2009;4(2):189-93.

67. Banfi G, Melegati G, Barassi A, d'Eril GM. Effects of the whole-body cryotherapy on NTproBNP, hsCRP and troponin I in athletes. *J Sci Med Sport*. 2009;12(6):609-10.
68. Banffi G, Krajewska M, Melegati G, Patacchini M. Effects of whole-body cryotherapy on haematological values in athletes. *Br J Sports Med*. 2008;42(10):858.
69. Westerlund T UA, Smolander J, Mikkelsen M. Heart rate variability in women exposed to very cold air (-110 degrees C) during whole-body cryotherapy. *Therm Biol*. 2006;31(4):342-6.
70. Costello JT, Culligan K, Selfe J, Donnelly AE. Muscle, skin and core temperature after -110 degrees c cold air and 8 degrees c water treatment. *PLoS One*. 2012;7(11):e48190.
71. Costello JT, Donnelly AE, Karki A, Selfe J. Effects of whole body cryotherapy and cold water immersion on knee skin temperature. *Int J Sports Med*. 2014;35(1):35-40.
72. Hirvonen HE, Mikkelsen MK, Kautiainen H, Pohjolainen TH, Leirisalo-Repo M. Effectiveness of different cryotherapies on pain and disease activity in active rheumatoid arthritis. A randomised single blinded controlled trial. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(3):295-301.
73. Lubkowska A, Szygula Z, Klimek AJ, Torii M. Do sessions of cryostimulation have influence on white blood cell count, level of IL6 and total oxidative and antioxidative status in healthy men? *Eur J Appl Physiol*. 2010;109(1):67-72.
74. Lubkowska A, Szygula Z, Chlubek D, Banfi G. The effect of prolonged whole-body cryostimulation treatment with different amounts of sessions on chosen pro- and anti-inflammatory cytokines levels in healthy men. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011;71(5):419-25.
75. Stanek A, Cieslar G, Strzelczyk J, Kasperczyk S, Sieron-Stoltny K, Wiczkowski A, et al. Influence of Cryogenic Temperatures on Inflammatory Markers in Patients with Ankylosing Spondylitis. *Pol J Environ Stud*. 2010;19(1):167-75.
76. Ziemann E, Olek RA, Grzywacz T, Antosiewicz J, Kujach S, Luszczyk M, et al. Whole-body cryostimulation as an effective method of reducing low-grade inflammation in obese men. *J Physiol Sci*. 2013;63(5):333-43.
77. Lubkowska A, Dolegowska B, Szygula Z. Whole-body cryostimulation--potential beneficial treatment for improving antioxidant capacity in healthy men--significance of the number of sessions. *PLoS One*. 2012;7(10):e46352.
78. Miller E, Markiewicz L, Saluk J, Majsterek I. Effect of short-term cryostimulation on antioxidative status and its clinical applications in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(5):1645-52.

79. Pobdielska H, Strek K, Bialy D. Whole Body Cryotherapy. Wroclaw: Kriotechnika Medyczna; 2006.
80. Dugue B, Smolander J, Westerlund T, Oksa J, Nieminen R, Moilanen E, et al. Acute and long-term effects of winter swimming and whole-body cryotherapy on plasma antioxidative capacity in healthy women. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005;65(5):395-402.
81. Mila-Kierzenkowska C, Wozniak A, Wozniak B, Drewa G, Rakowski A, Jurecka A, et al. Whole-body cryostimulation in kayaker women: a study of the effect of cryogenic temperatures on oxidative stress after the exercise. *J Sports Med Phys Fitness.* 2009 Jun;49(2):201-7.
82. Wozniak A, Mila-Kierzenkowska C, Szpinda M, Chwalbinska-Moneta J, Augustynska B, Jurecka A. Whole-body cryostimulation and oxidative stress in rowers: the preliminary results. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):303-8.
83. Wozniak A, Wozniak B, Drewa G, Mila-Kierzenkowska C, Rakowski A. The effect of whole-body cryostimulation on lysosomal enzyme activity in kayakers during training. *Eur J Appl Physiol.* 2007;100(2):137-42.
84. Bergh U, Ekblom B. Influence of muscle temperature on maximal muscle strength and power output in human skeletal muscles. *Acta Physiol Scand.* 1979;107(1):33-7.
85. Comeau MJ, Potteiger JA, Brown LE. Effects of environmental cooling on force production in the quadriceps and hamstrings. *J Strength Cond Res.* 2003;17(2):279-84.
86. Drinkwater E. Effects of peripheral cooling on characteristics of local muscle. *Med Sport Sci.* 2008;53:74-88.
87. Oksa J, Rintamaki H, Rissanen S. Muscle performance and electromyogram activity of the lower leg muscles with different levels of cold exposure. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;75(6):484-90.
88. Westerlund T, Oksa J, Smolander J, Mikkelsen M. Neuromuscular adaptation after repeated exposure to whole-body cryotherapy (-110 degrees C). *J Therm Biol.* 2009;34(5):226-31.
89. Fricke R GG, G K. Steigerung von muskelkraft und leistung durch Ganzkörperkältetherapie -110 °C über 1, 2 und 3 minuten. *DRV- Schriften Band.* 1999;12:2.
90. Klimek AT, Lubkowska A, Szygula Z, Fraczek B, Chudecka M. The influence of single whole body cryostimulation treatment on the dynamics and the level of maximal anaerobic power. *Int J Occup Med Environ Health.* 2011;24(2):184-91.

91. Klimek AT, Lubkowska A, Szygula Z, Chudecka M, Fraczek B. Influence of the ten sessions of the whole body cryostimulation on aerobic and anaerobic capacity. *Int J Occup Med Environ Health*. 2010;23(2):181-9.
92. Schaal K, Le Meur Y, Bieuzen F, Petit O, Hellard P, Toussaint JF, et al. Effect of recovery mode on postexercise vagal reactivation in elite synchronized swimmers. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(2):126-33.
93. Vieira A BM, Ferreira-Junior JB, Vieira C, Cleto VA, Cadore EL, et al. Does whole-body cryotherapy improve vertical jump recovery following a high-intensity exercise bout? *Open Access J Sports Med*. 2014;In press.
94. Bleakley CM, Costello JT, Glasgow PD. Should athletes return to sport after applying ice? A systematic review of the effect of local cooling on functional performance. *Sports Med*. 2012;42(1):69-87.
95. Beck TW. The importance of a priori sample size estimation in strength and conditioning research. *J Strength Cond Res*. 2013;27(8):2323-37.
96. Thomas S, Reading J, Shephard RJ. Revision of the Physical Activity Readiness Questionnaire (PAR-Q). *Can J Sport Sci*. 1992;17(4):338-45.
97. Howatson G, Goodall S, van Someren KA. The influence of cold water immersions on adaptation following a single bout of damaging exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2009;105(4):615-21.
98. Miyama M, Nosaka K. Influence of surface on muscle damage and soreness induced by consecutive drop jumps. *J Strength Cond Res*. 2004;18(2):206-11.
99. Chilibeck PD, Stride D, Farthing JP, Burke DG. Effect of creatine ingestion after exercise on muscle thickness in males and females. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(10):1781-8.
100. Bottaro M, Ernesto C, Celes R, Farinatti PTV, Brown LE, Oliveira RJ. Effects of Age and Rest Interval on Strength Recovery. *International Journal of Sports Medicine*. 2010;31(1):22-5.
101. Ferreira-Júnior JB, Vieira CA, Soares SRS, Magalhães IEJ, Rocha-Júnior VA, Vieira A, et al. Effects of different isokinetic knee extension warm-up protocols on muscle performance. *J Sports Med Phys Fitness*. 2013;53(Suppl. 1 to No. 3):25-9.
102. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. ed. Hillsdale (NJ): Lawrence Erlbaum Associates; 1988.
103. Savic M, Fonda B, Sarabona N. Actual temperature during and thermal response after whole-body cryotherapy in cryo-cabin. *J Therm Biol*. 2013;38(4):186-91.

104. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med.* 2006;36(9):781-96.
105. Knight KL. *Cryotherapy in sport injury management.* Champaign, IL: Human Kinetics; 1995.
106. Linthorne NP. Analysis of standing vertical jumps using a force platform. *Am J Phys.* 2001;69(11):1198-204.
107. Guilhem G, Hug F, Couturier A, Regnault S, Bournat L, Filliard JR, et al. Effects of air-pulsed cryotherapy on neuromuscular recovery subsequent to exercise-induced muscle damage. *The American journal of sports medicine.* 2013;41(8):1942-51.
108. Vieira A, Oliveira AB, Costa JR, Herrera E, Salvini TF. Cold Modalities with Different Thermodynamic Properties have Similar Effects on Muscular Performance and Activation. *International Journal of Sports Medicine.* 2013;34(10):873-80.
109. Crowe MJ, O'Connor D, Rudd D. Cold water recovery reduces anaerobic performance. *International Journal of Sports Medicine.* 2007;28(12):994-8.
110. Hopkins JT, Stencil R. Ankle cryotherapy facilitates soleus function. *The Journal of orthopaedic and sports physical therapy.* 2002;32(12):622-7.
111. Dewhurst S, Macaluso A, Gizzi L, Felici F, Farina D, De Vito G. Effects of altered muscle temperature on neuromuscular properties in young and older women. *European journal of applied physiology.* 2010;108(3):451-8.

APÊNDICE

APÊNDICE A – ANAMNESE

Nome: _____

Naturalidade: _____ Data de nascimento: ___/___/___

Endereço: _____

Profissão: _____

1) Você está se sentindo bem no momento? () Sim () Não

Se sim, prossiga com questionário, caso a resposta seja não, excluir o voluntário e anotar o que está sentindo.

2) Você tem ou teve algum problema de saúde? () Sim () Não

Caso seja sim, descreva a doença.

Esta pergunta tem o objetivo de verificar se o voluntário possui alguma doença relacionada às contra-indicações. Caso a resposta sim e o problema de saúde estiver relacionado com a alguma das contra-indicações, excluir o voluntário.

3) Você usa alguma medicação contínua? () Sim () Não

Se sim, qual medicamento é usado? _____

Se for algum medicamento relacionado com alguma das contra-indicações, excluir o voluntário.

Excluir o voluntário caso a resposta seja sim em qualquer uma das perguntas abaixo.

4) Você é portador de asma, bronquite ou DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica)?
(A pergunta também será realizada da seguinte forma: você possui chieira no peito associada a sensação de falta de ar?)

() Sim () Não

5) Você teve nos últimos 2 meses pneumonia, rinite, rinfaringite ou outro tipo de infecção do sistema respiratório? () Sim () Não

- 6) Nos últimos 10 dias você teve gripe ou resfriado? () Sim () Não
- 7) Você tem ou teve algum problema cardiovascular? () Sim () Não
- 8) Você tem hipertensão arterial sistêmica não tratada? () Sim () Não
Aferir PA: _____
- 9) Você tem ou teve angina (dor no peito)? () Sim () Não
- 10) Você tem ou teve problemas na circulação sanguínea? () Sim () Não
- 11) Você tem insuficiência cardíaca? () Sim () Não
- 12) Você teve infarto agudo do miocárdio? () Sim () Não
- 13) Você tem valvulopatia? () Sim () Não
- 14) Você já teve trombose arterial? () Sim () Não
- 15) Você já teve tromboembolismo pulmonar? () Sim () Não
- 16) Você já teve trombose venosa profunda? () Sim () Não
- 17) Você tem síndrome de Raynaud (cianose de extremidades constante por ocasião de frio ou estresse emocional grave)? () Sim () Não
- 18) Você tem ou teve alguma doença do trato urinário? (infecções recorrentes do sistema urinário, pielonefrite, cálculo renal, indagar sobre diurese e jato urinário)
() Sim () Não
- 19) Você é portador de Diabetes? () Sim () Não
- 20) Você tem algum distúrbio da coagulação do sangue? () Sim () Não

- 21) Você tem ou teve anemia recente? () Sim () Não
- 22) Você foi submetido recentemente à transfusão sanguínea? () Sim () Não
- 23) Você tem ou teve alguma neoplasia (doença tumoral, câncer)? () Sim () Não
- 24) Você tem alguma doença da tireóide (hipo ou hipertireoidismo)? () Sim () Não
- 25) Você tem pancreatite? () Sim () Não
- 26) Você tem ou já teve convulsão/ epilepsia? () Sim () Não
- 27) Você já teve dor de cabeça intensa? (que chegasse ao ponto de despertá-lo durante o sono, que não cessasse com uso de analgésicos) () Sim () Não
- 28) Você tem algum problema em ficar em um ambiente fechado, escuro?
() Sim () Não
(Nesta pergunta, caso o voluntário responda não, será solicitado que o ele entre na cabine de crioterapia e verificado sua sensação, conforto. A cabine estará desligada.)
- 29) Você ingere álcool com frequência? (mais que 3x/ semana) () Sim () Não
- 30) Você ingeriu álcool nas últimas 48hs? () Sim () Não
- 31) Você tem alergia ao frio? () Sim () Não
Caso o voluntário responda não, será aplicado o teste do cubo de gelo (DELGADO et al., 2008). Descrição do teste: um cubo de gelo protegido por um plástico é colocado no antebraço do voluntário por 1, 3, 5 e 10 min. A positividade é considerada quando o edema ou manchas vermelhas ainda estão presentes na área após 10 min da retirada do cubo de gelo.

ANEXOS

ANEXO A – QUESTIONÁRIO PAR-Q TRADUZIDO

Questionário Sobre Atividade Física

Revisado em 2002 [traduzido do documento original PAR-Q & YOU]

Este questionário tem objetivo de identificar a necessidade de avaliação clínica antes do início da atividade física. Caso você marque mais de um sim, é aconselhável a realização da avaliação clínica. Contudo, qualquer pessoa pode participar de uma atividade física de esforço moderado, respeitando as restrições médicas.

Por favor, assinale “sim” ou “não” as seguintes perguntas:

Alguma vez seu médico disse que você possui algum problema de coração e recomendou que você só praticasse atividade física sob prescrição médica?

sim não

1) Você sente dor no peito causada pela prática de atividade física?

sim não

2) Você sentiu dor no peito no último mês?

sim não

3) Você tende a perder a consciência ou cair como resultado do treinamento?

sim não

4) Você tem algum problema ósseo ou muscular que poderia ser agravado com a prática de atividades físicas?

sim não

5) Seu médico já recomendou o uso de medicamentos para controle de sua pressão arterial ou condição cardiovascular?

sim não

6) Você tem consciência, através de sua própria experiência e/ou de aconselhamento médico, de alguma outra razão física que impeça a realização de atividades físicas?

sim não

7) Gostaria de comentar algum outro problema de saúde seja de ordem física ou psicológica que impeça a sua participação na atividade proposta?

Assinatura

Data

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar, como voluntário, da pesquisa “Efeito da crioterapia de corpo inteiro no desempenho neuromuscular” sob responsabilidade dos Profs. Herbert Gustavo Simões e Martim Francisco Bottaro Marques e do aluno João Batista Ferreira Júnior. O objetivo deste estudo é obter informações a respeito do efeito da crioterapia de corpo inteiro no desempenho neuromuscular, tornando possível definir se é benéfico ou não aplicá-la no treino, conhecimento que será útil para profissionais da área desportiva assim como da reabilitação. As informações obtidas neste experimento serão utilizadas como dados de pesquisa científica, podendo ser publicados e divulgados, sendo resguardada a identidade dos participantes. Você poderá ter acesso aos seus resultados por intermédio do pesquisador responsável.

Para participar deste projeto, você fará 5 visitas ao laboratório com intervalo aproximado de 24 horas entre elas. A pesquisa deverá ter início em uma segunda-feira e encerrar-se a na sexta-feira da mesma semana. O protocolo experimental será realizado no Laboratório de Treinamento de Força da Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília. Você permanecerá no laboratório aproximadamente 1 hora e 30 min no primeiro dia (segunda-feira) e 20 minutos nos dias subsequentes (terça-feira a sexta-feira). Os horários de sua participação serão agendados previamente respeitando os intervalos acima citados bem como sua disponibilidade. Em cada visita será realizada avaliação da dor muscular, da amplitude de movimento, da espessura muscular (ultrassonografia) e da força muscular.

Caso você seja alocado no grupo experimental, após realização do treinamento de força, primeira visita, você será submetido a uma sessão de crioterapia de corpo inteiro (-110° C por 3 min), na qual você vestirá apenas uma sunga de natação, meias e luvas. A sunga e as meias deverão ser levadas por você. A criocabine não possui travas o que permite ao voluntário deixá-la a qualquer momento. Caso você seja incluído no grupo controle, você ficará sentado em uma cadeira por 3 min depois da sessão de treino. O treinamento de força consistirá na realização de um exercício no braço direito em um aparelho. As medidas descritas anteriormente serão repetidas 1, 24, 48, 72 e 96 h após a sessão de treino (totalizando 5 visitas). Você deverá estar nos locais designados nos dias e horários marcados e informar aos pesquisadores

Assinatura do voluntário: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Você não terá gasto para participar do estudo. Todos os materiais e equipamentos necessários para os testes serão providenciados pelos pesquisadores. Além disso, o exercício a ser realizado não tem contra-indicações à população considerada no estudo (pessoas saudáveis). Contudo, exercícios físicos podem gerar dor muscular tardia que desaparece em poucos dias. A crioterapia não causa riscos à saúde. Esta técnica não deve ser aplicada em pessoas com as seguintes condições: hipertensão não tratada, doença cardiovascular e respiratória, angina, oclusão arterial periférica, trombose, doenças do trato urinário, anemia severa, alergia ao frio, doença tumorais, infecções virais e bacterianas, síndrome de Reynaud, claustrofobia e convulsões.

O pesquisador responsável suspenderá a pesquisa imediatamente se perceber algum risco ou dano à saúde do participante, tanto os previstos quanto os não previstos neste termo. No improvável dano físico resultante da participação neste estudo, o tratamento será viabilizado no local mais próximo e apropriado de assistência médica, porém, nenhum benefício especial será concedido, para compensação ou pagamento de um possível tratamento.

A sua permissão para participar desta pesquisa é voluntária. Você estará livre para negá-la ou para, em qualquer momento, desistir da mesma se assim desejar. No caso de aceitar fazer parte do estudo, após ter lido e esclarecido sobre as informações acima, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra ficará com o pesquisador responsável. Em caso de dúvida ou reclamação, o senhor poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis: Herbert Gustavo Simões -(61) 3356 9350, ou Martim Bottaro - (61) 8128-8855 e (61) 3107-2526, ou João Batista Ferreira Júnior - (61) 3107-2522 e (38) 9184-4473. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos também pelo telefone: (61) 3356-9784. Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UCB, número do protocolo 71484/201.

Nome / assinatura

Nome/ assinatura do pesquisador responsável

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO C – APROVAÇÃO DO PROJETO NO CEP

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

UCB

PROJETO DE PESQUISA

Título: EFEITO DA CRIOTERAPIA DE CORPO INTEIRO NO DESEMPENHO NEUROMUSCULAR

Área Temática:

Pesquisador: Herbert Gustavo Simões

Versão: 2

Instituição: Universidade Católica de Brasília - UCB

CAAE: 02837112.1.0000.0029

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 71484

Data da Relatoria: 06/08/2012

Apresentação do Projeto:

Os voluntários serão divididos aleatoriamente em dois grupos: crioterapia de corpo inteiro (CCI) e controle (GC). No primeiro dia, será realizada a avaliação antropométrica e efetuadas as medidas basais (TB) das variáveis de dano muscular (pico de torque, sinal eletromiográfico, inchaço muscular, dor muscular tardia, amplitude de movimento e CK). Após 10 min de repouso, os voluntários realizarão uma sessão de treinamento de força. Esta sessão consistirá em 4 séries de 10 repetições concêntricas/ excêntricas máximas de flexão do cotovelo direito a 120°.s-1 no isocinético, com 1 min e 30 s de repouso entre as séries. Ao final do treinamento, os voluntários do grupo CCI terão o corpo (exceto a cabeça) exposto por 2 min ao ar extremamente frio (-110 °C). Para realização da CCI será utilizada uma criocabine (Kryos Tecnologia, Brasília, Brasil) e seguidos os procedimentos descritos por Banfi et al. (2010). Já os voluntários do GC ficarão sentados em uma cadeira por 2 min depois da sessão de treino. A medição das variáveis de dano muscular será repetida 1 (T1), 24 (T2), 48 (T3), 72 (T4) e 96 (T5) horas após a sessão de treino (totalizando 5 visitas).

Objetivo da Pesquisa:

Investigar o efeito da crioterapia de corpo inteiro na recuperação e no desempenho neuromuscular e metabólico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo o autor: Não foram encontrados na literatura riscos para a saúde dos participantes de estudos anteriores, desde que atendidos os critérios de exclusão.

Resposta a pendência: Os autores relatam que não foram encontrados na literatura riscos para a saúde dos participantes de estudos anteriores, desde que atendidos os critérios de exclusão: histórico de hipertensão arterial, doença cardiovascular e respiratória, angina, oclusão arterial periférica, trombose, doenças do trato urinário, anemia severa, alergia ao frio, doença tumorais, infecções virais e bacterianas, síndrome de Reynaud, claustrofobia e convulsões. Também serão excluídos os voluntários que estiverem tomando medicamentos que possam afetar a função muscular.

Os participantes receberão relatório sobre seu desempenho neuromuscular (resultados de pico de torque), permitindo comparar com resultados de outros estudos. Receberão ainda orientações para sua prática de exercícios resistidos, e conhecerão um método alternativo para acelerar a recuperação entre treinos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está adequada aos princípios científicos que a justifiquem e com possibilidades concretas de responder a incertezas atendendo a RES 196/96 Item III.3ª.

E apresenta antecedente científico e dado que justifiquem a pesquisa (RES 196/96 Item VI.2b).

O trabalho esta escrito de forma clara, porém necessita alguns esclarecimentos:

1. Solicita-se uma maior clareza da relevância do estudo.
2. Solicita-se justificar a temperatura utilizada.
3. Solicita-se descrever quais testes alérgicos serão utilizados antes de submeter os voluntários a baixas temperaturas.

Resposta a pendência: os itens 1,2 e 3 foram respondidos e estão adequados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1.É necessário definir os riscos que podem ocorrer durante a coleta e as medidas para minimizar tais riscos.
- 2.Solicita-se apresentar o termo de compromisso da instituição co-participante.
3. Solicita-se descrever o aparato e os procedimentos que serão realizados, caso ocorra alguma intercorrência e seja necessário realizar atendimento de urgência e emergência. Esclarecemos que o procedimento de: "chamar o SAMU" não é suficiente neste caso, pois o SUS não pode ser honerado(Res 196/96) e descrever quem irá arcar com os custos caso haja alguma intercorrência.

Resposta a pendência: Após a primeira revisão do CEP, todos os termos de apresentação obrigatória encontram-se adequados. A carta participação da Instituição co-participantes foi anexada, bem como o termo de compromisso do pesquisador co-participante. TCLE também atende a todos os requisitos da RES 196/96.

Recomendações:

1. Sugere-se colocar todos os sujeitos como controle ou caso opte por manter dois grupos, que o grupo controle entre dentro da cabine sem adição de resfriamento.

Resposta a pendência: As respostas ao primeiro parecer do CEP foram atendidas. O detalhamento metodológico foi melhorado e o atendimento a qualquer em caso de urgência foi esclarecido.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O documento apresentado, responde às exigências feitas. O projeto atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS 196/96 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UCB.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após a conclusão da pesquisa é compromisso dos/das proponentes a entrega de relatório final ou versão final do trabalho.

BRASILIA, 10 de Agosto de 2012

Assinado por:
Yomara Lima Mota

ANEXO D – ARTIGOS PUBLICADOS

frontiers in
PHYSIOLOGY**OPINION ARTICLE**
published: 02 July 2014
doi: 10.3389/fphys.2014.00247

Could whole-body cryotherapy (below -100°C) improve muscle recovery from muscle damage?

Joao B. Ferreira-Junior^{1,2*}, Martim Bottaro¹, Jeremy P. Loenneke³, Amilton Vieira¹, Carlos A. Vieira¹ and Michael G. Bemben³

¹ College of Physical Education, University of Brasília, Brasília, Brazil

² Federal Institute of Triângulo Mineiro, Paracatu, Brazil

³ Neuromuscular Research Laboratory, Department of Health and Exercise Science, The University of Oklahoma, Norman, OK, USA

*Correspondence: jbfjunior@gmail.com

Edited by:

Julio L. Vergara, University of California, Los Angeles, USA

Reviewed by:

Kenneth Harrington McKeever, Rutgers, The State University of New Jersey, USA

Joseph T. Costello, Queensland University of Technology, Australia

Keywords: muscle function, inflammation, oxidative stress, recovery modalities, adhesion molecules

Muscle performance might be temporarily impaired by high-intensity exercise performed during a competition or training session. The attenuation in muscular strength may be transitory, lasting minutes, hours, or several days following training or competition (Barnett, 2006). Longer-lasting impairment in muscle strength accompanied by a reduction in range of motion, an increase in muscle proteins in the blood, an inflammatory response, muscle swelling, and delayed onset muscle soreness is referred to as exercise induced muscle damage (EIMD) (Clarkson and Hubal, 2002; Barnett, 2006; Paulsen et al., 2012).

Different modalities have been used to improve recovery from a damaging bout of exercise (Barnett, 2006). Among the most common treatment approaches used to reestablish muscular function are active recovery, compression garments, massage, stretching, anti-inflammatory drugs, and cryotherapy (Cheung et al., 2003; Barnett, 2006; Bishop et al., 2008). A relatively novel modality of cryotherapy is whole-body cryotherapy (WBC), which consists of brief exposure (2–3 min) to extremely cold air (-100 to -195°C) in a temperature-controlled chamber or cryocabin (Banfi et al., 2010; Hausswirth et al., 2011; Fonda and Sarabon, 2013). Sessions of partial-body cryotherapy (PBC), in which the head is not exposed to cold, has also been used as a similar modality of WBC (Hausswirth et al., 2013). According to Hausswirth et al. (2013),

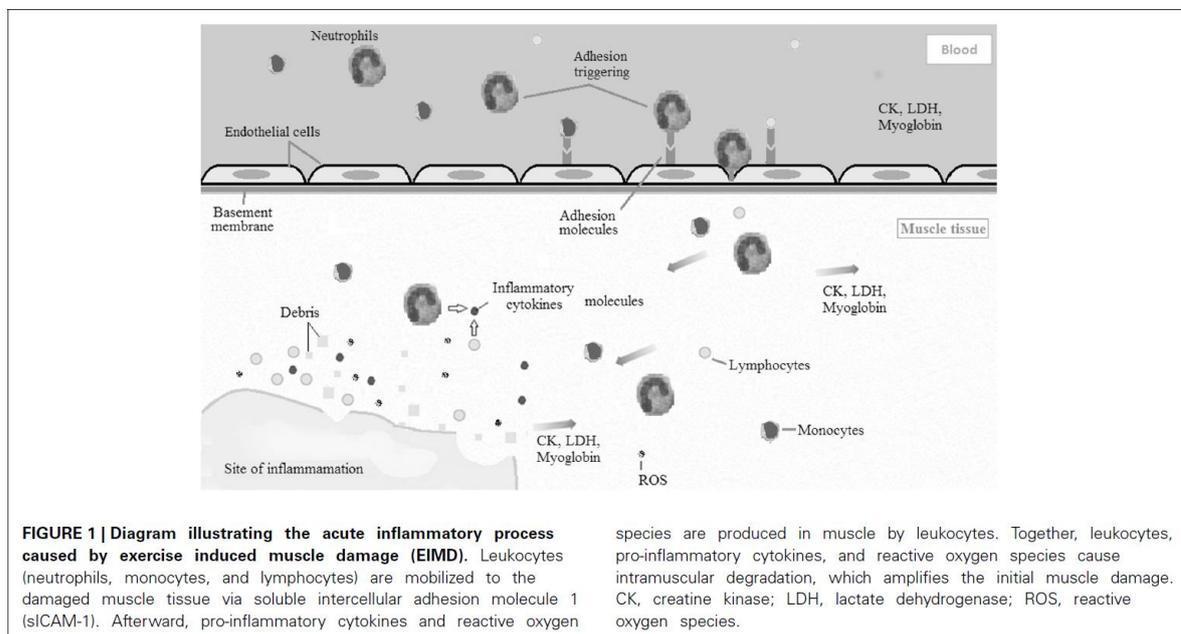
WBC and PBC session decreased skin temperature, however, WBC induced a greater decrease compared to PBC. In addition, the tympanic temperature was reduced only after the WBC session. Moreover, parasympathetic tone stimulation was greater following the WBC session. Although WBC has been used since the end of the 1970s in the treatment of rheumatic diseases (Ksiezopolska-Pietrzak, 2000; Metzger et al., 2000; Rymaszewska et al., 2003), it has only recently been used with the purpose of hastening recovery from muscle damage by decreasing the inflammatory process linked to EIMD (Banfi et al., 2010). A logic model proposed by Costello et al. (2013) consisted of the physiological, neuromuscular, and perceptual effects following exposure to WBC which may interact to increase performance. However, a mechanistic model for how WBC may improve symptoms related to EIMD has to this point not been provided (Costello et al., 2013). Thus, the purpose of this manuscript was to briefly address a possible mechanism related to improved recovery from muscle damage by WBC.

MUSCLE DAMAGE INDUCED BY EXERCISE

The “popping-sarcomere” hypothesis, first proposed by Morgan in (1990), provided an explanation for the muscle damage response following a series of eccentric contractions. Since then, this “popping-sarcomere” hypothesis has garnered support from several other authors

(Clarkson and Hubal, 2002; Peake et al., 2005; Paulsen et al., 2012). It’s hypothesized that during an eccentric contraction, myofibrils within a muscle fiber are stretched and those weaker sarcomeres absorb most of the stretch. Following several eccentric contractions, the myofilaments of overstretched weaker sarcomeres fail to reconnect because they are disrupted. This disruption may extend to other sarcomeres, resulting in cell membrane and sarcoplasmic reticulum damage. This process appears responsible for the symptoms associated with EIMD, such as the prolonged loss in muscle strength, delayed-onset muscle soreness, increase of muscle protein in blood circulation, intracellular calcium release and onset of the inflammatory response (Clarkson and Hubal, 2002; Peake et al., 2005; Paulsen et al., 2012).

Immediately after sarcomeres are disrupted, leukocytes are mobilized to the injured tissue via soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1). Thereafter, pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species are produced in muscle by neutrophils, lymphocytes, and monocytes (Clarkson and Hubal, 2002; Peake et al., 2005; Paulsen et al., 2012). Additionally, macrophages produced by monocytes and neutrophils phagocytize damaged myofibers and muscle debris (Peake et al., 2005; Saclier et al., 2013). Together (Figure 1), leukocytes, pro-inflammatory cytokines, and reactive oxygen species cause intramuscular degradation, which amplifies the initial



muscle damage (Clarkson and Hubal, 2002; Peake et al., 2005; Paulsen et al., 2012). This can be observed by an increase in muscle proteins in systemic circulation 24–48 h following the initial bout of exercise. Additionally, the magnitude of the secondary muscle damage response may depend upon the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines (Clarkson and Hubal, 2002).

PREVIOUSLY REPORTED MECHANISMS TO WBC IMPROVES MUSCLE DAMAGE RECOVERY

To the best of our knowledge, four studies have evaluated the effects of WBC on the recovery from muscle damage (Hauswirth et al., 2011; Pournot et al., 2011; Fonda and Sarabon, 2013). Hauswirth et al. (2011) suggested that three sessions of WBC (3 min at -110°C) after EIMD in well-trained runners improved muscle strength, perceived sensation, and also decreased muscle pain. Additionally, five WBC exposures (3 min at -140 to -190°C) may improve the recovery of peak torque, rate of torque development, squat jump start power, and decreased muscle soreness after damaging exercise for the hamstrings (Fonda and Sarabon, 2013). Further, Pournot et al. (2011) found that three sessions of WBC

(3 min at -110°C) following EIMD was effective in reducing the inflammatory response.

It is acknowledged that many of these reported effects of WBC on recovery from severe exercise are small (Bleakley et al., 2014). However, it is also acknowledged that those studies (Hauswirth et al., 2011; Pournot et al., 2011; Fonda and Sarabon, 2013) have been collected using a cross-over design and could have been influenced by the repeated bout effect. Preliminary data from our laboratory showed that a single WBC session performed immediately after EIMD relieved pain, prevented muscle swelling, and resulted in quicker recovery of muscle strength 72 h after EIMD. In contrast, the control group did not recover from muscle swelling and pain until 24 and 96 h following EIMD, respectively. Further, muscle strength in the control group was still depressed from baseline 96 h post exercise. In apparent contrast to our findings, Costello et al. (2012a) reported that one session of WBC (20 s at -60°C and 3 min at -110°C) applied 24 h after EIMD in healthy subjects did not hasten muscle strength nor decrease muscle soreness. However, the acute inflammatory process is triggered immediately following EIMD. Thus, it stands to reason that WBC

applied 24 h after exercise may be too late to have a beneficial physiologic response. Therefore, WBC may decrease symptoms related to EIMD produced by mechanical stress if applied immediately after exercise (Hauswirth et al., 2011; Pournot et al., 2011; Fonda and Sarabon, 2013).

The aforementioned studies (Hauswirth et al., 2011; Pournot et al., 2011; Costello et al., 2012a; Fonda and Sarabon, 2013) were conducted with the assumption that WBC could accelerate the recovery from muscle damage by decreasing the inflammatory process. However, the mechanism behind this effect is largely unknown. Stanek et al. (2010) suggested that the anti-inflammatory effects of WBC may be linked to lysosomal membrane stabilization with a consequent inhibition of active enzymes released. Wozniak et al. (2007) showed a decrease in lysosomal enzyme activity: 32% in acid phosphatase and 46% in arylsulphatase after 6 days of WBC, but they were not altered after one session of WBC. Similarly, a single session of WBC did not cause a stabilization of lysosomal enzymes (Wozniak et al., 2007). Thus, considering the results of these studies (Dugue et al., 2005; Wozniak et al., 2007; Lubkowska et al., 2009), the hypothesis that lysosomal membrane stabilization is responsible

for the anti-inflammatory effect of WBC might make sense after chronic exposure to WBC but not following an acute session.

WBC IMPROVES MUSCLE DAMAGE RECOVERY BY REDUCING sICAM-1?

We hypothesize that the thermoregulatory response to WBC may hasten the recovery from EIMD by reducing serum sICAM-1. The first step of this thesis is dependent upon the drop in core temperature, which would likely cause constriction of local arterioles and venules. In support of this, WBC exposure has been observed to result in a decrease in muscle and core temperature (Westerlund et al., 2003; Costello et al., 2012b). Costello et al. (2012b) observed a reduction of 0.3°C in rectal temperature 60 min after WBC and a similar decrease of 0.24°C was observed 20 min after WBC (Westerlund et al., 2003). It also has been reported that vastus lateralis temperature decreases 1.6 ± 0.6°C after WBC session (Costello et al., 2012b).

The next phase in this proposed mechanism is blocking the migration of leukocytes (neutrophils, lymphocytes, and monocytes) from blood circulation to the damaged tissue. It is known that leukocytes initiate the acute inflammatory process following EIMD (Clarkson and Hubal, 2002; Peake et al., 2005; Paulsen et al., 2012; Saclier et al., 2013). According to our hypothesis, the thermoregulatory response to WBC hastens the recovery from EIMD by reducing serum sICAM-1. Consequently, fewer neutrophils and lymphocytes would transmigrate into muscle tissue resulting in a decreased pro-inflammatory response (i.e., interleukin [IL]-2, IL-6, IL-8, IL-1β, prostaglandin [PGE]-2, and C-reactive protein), reactive oxygen species and an increased anti-inflammatory response (i.e., IL-10 and IL-1ra). The results reported by Pournot et al. (2011) and Mila-Kierzenkowska et al. (2013) corroborate this hypothesis. Pournot et al. (2011) observed an increase in IL-1ra and a decrease in IL-1β and C-reactive protein after the first session of WBC performed immediately following EIMD in well-trained runners. In addition, Mila-Kierzenkowska et al. (2013) found that a single session of WBC prior to 40 min of submaximal exercise

decreased the level of IL-6, IL-1β, superoxide dismutase, and catalase activity when compared to exercise completed in the absence of WBC.

Further, it has been found that five sessions of WBC (30 s at 60°C and 2 min at -110°C) in athletes decreased adhesion molecule sICAM-1, blood concentrations of muscular enzymes (creatin kinase and lactate dehydrogenase), and the pro-inflammatory response (prostaglandin E2, interleukin IL-2, and IL-8) to 5 days of high intensity training (Banfi et al., 2009). In addition, the anti-inflammatory cytokine IL-10 was increased (Banfi et al., 2009). Nevertheless, these data should be interpreted with some degree of caution since this study did not evaluate a control group, and it evaluated chronic effect of WBC. Most studies investigating WBC and the inflammatory/oxidative response to exercise evaluated its effect following multiple sessions of WBC (Dugue et al., 2005; Wozniak et al., 2007, 2013; Leppaluoto et al., 2008; Banfi et al., 2009, 2010; Lubkowska et al., 2009, 2010, 2011, 2012; Mila-Kierzenkowska et al., 2009; Miller et al., 2012; Ziemann et al., 2012, 2013). Future research should investigate this further to determine if one application of WBC can in fact decrease sICAM-1. Nevertheless it stands to reason that WBC may attenuate symptoms of EIMD by decreasing sICAM-1, subsequently reducing the migration of leukocytes into the damaged tissue.

CONCLUSION

We wish to suggest that the attenuation in serum sICAM-1 caused by WBC exposure immediately following EIMD may be responsible for the decreased acute inflammatory response to muscle damage. In addition, repeated bouts of WBC may also further reduce the secondary inflammation occurring days after the damaging bout of exercise. However, the mechanisms in which the thermoregulatory effects of WBC exposure lead to a reduction in sICAM-1 remain unknown. Thus, further studies on this topic are necessary in order to better understand the thermoregulatory effects of WBC on muscle inflammatory process caused by EIMD. Future research could investigate this hypothesis assessing sICAM-1, oxidative stress, neutrophils, lymphocytes, monocytes, and cytokines

cells following WBC applied immediately after EIMD. In addition, future work could investigate the effects of repeated WBC on long term muscle adaptation. Although potentially beneficial in the short term, it is unknown if suppressing the acute inflammatory response may negatively affect the muscles ability to adapt to exercise.

ACKNOWLEDGMENT

This study was partially supported by CAPES-Brazil.

REFERENCES

- Banfi, G., Lombardi, G., Colombini, A., and Melegati, G. (2010). Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports Med.* 40, 509–517. doi: 10.2165/11531940-000000000-00000
- Banfi, G., Melegati, G., Barassi, A., Dogliotti, G., d'Eril, G. M., Dugue, B., et al. (2009). Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes. *J. Therm. Biol.* 34, 55–59. doi: 10.1016/j.jtherbio.2008.10.003
- Barnett, A. (2006). Using recovery modalities between training sessions in elite athletes - does it help? *Sports Med.* 36, 781–796. doi: 10.2165/00007256-200636090-00005
- Bishop, P. A., Jones, E., and Woods, A. K. (2008). Recovery from training: a brief review. *J. Strength Cond. Res.* 22, 1015–1024. doi: 10.1519/JSC.0b013e31816eb518
- Bleakley, C. M., Bieuzen, F., Davison, G. W., and Costello, J. T. (2014). Whole-body cryotherapy: empirical evidence and theoretical perspectives. *Open Access J. Sports Med.* 5, 25–36. doi: 10.2147/OAJSM.S41655
- Cheung, K., Hume, P. A., and Maxwell, L. (2003). Delayed onset muscle soreness - treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* 33, 145–164. doi: 10.2165/00007256-200333020-00005
- Clarkson, P. M., and Hubal, M. J. (2002). Exercise-induced muscle damage in humans. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 81, S52–S69. doi: 10.1097/00002060-200211001-00007
- Costello, J. T., Algar, L. A., and Donnelly, A. E. (2012a). Effects of whole-body cryotherapy (-110 degree C) on proprioception and indices of muscle damage. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 22, 190–198. doi: 10.1111/j.1600-0838.2011.01292.x
- Costello, J. T., Baker, P. R. A., Minett, G. M., Bieuzen, F., Stewart, I. B., and Bleakley, C. (2013). Whole-body cryotherapy (extreme cold air exposure) for preventing and treating muscle soreness after exercise in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* 10:CD010789. doi: 10.1002/14651858.CD010789
- Costello, J. T., Culligan, K., Selfe, J., and Donnelly, A. E. (2012b). Muscle, skin and core temperature after -110 degrees C cold air and 8 degrees C water treatment. *PLoS ONE* 7:e48190. doi: 10.1371/journal.pone.0048190
- Dugue, B., Smolander, J., Westerlund, T., Oksa, J., Nieminen, R., Moilanen, E., et al. (2005). Acute and long-term effects of winter swimming and whole-body cryotherapy on plasma

- antioxidative capacity in healthy women. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 65, 395–402. doi: 10.1080/00365510510025728
- Fonda, B., and Sarabon, N. (2013). Effects of whole-body cryotherapy on recovery after hamstring damaging exercise: a crossover study. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 23, E270–E278. doi: 10.1111/sms.12074
- Hauswirth, C., Louis, J., Bieuzen, F., Pournot, H., Fournier, J., Filliard, J. R., et al. (2011). Effects of whole-body cryotherapy vs. far-infrared vs. passive modalities on recovery from exercise-induced muscle damage in highly-trained runners. *PLoS ONE* 6:e27749. doi: 10.1371/journal.pone.0027749
- Hauswirth, C., Schaal, K., Le Meur, Y., Bieuzen, F., Filliard, J. R., Volondati, M., et al. (2013). Parasympathetic activity and blood catecholamine responses following a single partial-body cryostimulation and a whole-body cryostimulation. *PLoS ONE* 8:e72658. doi: 10.1371/journal.pone.0072658
- Ksiezopolska-Pietrzak, K. (2000). Cryotherapy in the treatment of rheumatic disease. *Ortop. Traumatol. Rehabil.* 2, 66–69.
- Leppaluoto, J., Westerlund, T., Huttunen, P., Oksa, J., Smolander, J., Dugue, B., et al. (2008). Effects of long-term whole-body cold exposures on plasma concentrations of ACTH, beta-endorphin, cortisol, catecholamines and cytokines in healthy females. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 68, 145–153. doi: 10.1080/00365510701516350
- Lubkowska, A., Banfi, G., Dolegowska, B., d'Eril, G. V. M., Luczak, J., and Barassi, A. (2010). Changes in lipid profile in response to three different protocols of whole-body cryostimulation treatments. *Cryobiology* 61, 22–26. doi: 10.1016/j.cryobiol.2010.03.010
- Lubkowska, A., Dolegowska, B., and Szygula, Z. (2012). Whole-body cryostimulation - potential beneficial treatment for improving antioxidant capacity in healthy men - significance of the number of sessions. *PLoS ONE* 7:e46352. doi: 10.1371/journal.pone.0046352
- Lubkowska, A., Dolegowska, B., Szygula, Z., and Klimek, A. (2009). Activity of selected enzymes in erythrocytes and level of plasma antioxidants in response to single whole-body cryostimulation in humans. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 69, 387–394. doi: 10.1080/00365510802699246
- Lubkowska, A., Szygula, Z., Chlubek, D., and Banfi, G. (2011). The effect of prolonged whole-body cryostimulation treatment with different amounts of sessions on chosen pro- and anti-inflammatory cytokines levels in healthy men. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 71, 419–425. doi: 10.3109/00365513.2011.580859
- Metzger, D., Zwimgmann, C., Protz, W., and Jackel, W. H. (2000). Whole-body cryotherapy in rehabilitation of patients with rheumatoid diseases-pilot study. *Rehabilitation (Stuttg.)* 39, 93–100. doi: 10.1055/s-2000-14442
- Mila-Kierzenkowska, C., Jurecka, A., Wozniak, A., Szpinda, M., Augustynska, B., and Wozniak, B. (2013). The effect of submaximal exercise preceded by single whole-body cryotherapy on the markers of oxidative stress and inflammation in blood of volleyball players. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013:409567. doi: 10.1155/2013/409567
- Mila-Kierzenkowska, C., Wozniak, A., Wozniak, B., Drewna, G., Rakowski, A., Jurecka, A., et al. (2009). Whole-body cryostimulation in kayaker women: a study of the effect of cryogenic temperatures on oxidative stress after the exercise. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 49, 201–207.
- Miller, E., Markiewicz, L., Saluk, J., and Majsterek, I. (2012). Effect of short-term cryostimulation on antioxidative status and its clinical applications in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 112, 1645–1652. doi: 10.1007/s00421-011-2122-x
- Morgan, D. L. (1990). New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys. J.* 57, 209–221. doi: 10.1016/S0006-3495(90)82524-8
- Paulsen, G., Mikkelsen, U. R., Raastad, T., and Peake, J. M. (2012). Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc. Immunol. Rev.* 18, 42–97.
- Peake, J., Nosaka, K., and Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc. Immunol. Rev.* 11, 64–85.
- Pournot, H., Bieuzen, F., Louis, J., Fillard, J. R., Barbiche, E., and Hauswirth, C. (2011). Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. *PLoS ONE* 6:e22748. doi: 10.1371/journal.pone.0022748
- Rymaszewska, J., Tulczynski, A., Zagrobelny, Z., Kiejna, A., and Hadrys, T. (2003). Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms - preliminary report. *Acta Neuropsychiatr.* 15, 122–128. doi: 10.1034/j.1601-5215.2003.00023.x
- Saclier, M., Cuvellier, S., Magnan, M., Mounier, R., and Chazaud, B. (2013). Monocyte/macrophage interactions with myogenic precursor cells during skeletal muscle regeneration. *FEBS J.* 280, 4118–4130. doi: 10.1111/febs.12166
- Stanek, A., Cieslar, G., Strzelczyk, J., Kasperczyk, S., Sieron-Stoltny, K., Wiczowski, A., et al. (2010). Influence of cryogenic temperatures on inflammatory markers in patients with ankylosing spondylitis. *Pol. J. Environ. Stud.* 19, 167–175.
- Westerlund, T., Oksa, J., Smolander, J., and Mikkelsen, M. (2003). Thermal responses during and after whole-body cryotherapy (-110 degrees C). *J. Therm. Biol.* 28, 601–608. doi: 10.1016/j.jtherbio.2003.08.006
- Wozniak, A., Mila-Kierzenkowska, C., Szpinda, M., Chwalbinska-Moneta, J., Augustynska, B., and Jurecka, A. (2013). Whole-body cryostimulation and oxidative stress in rowers: the preliminary results. *Arch. Med. Sci.* 9, 303–308. doi: 10.5114/aoms.2012.30835
- Wozniak, A., Wozniak, B., Drewna, G., Mila-Kierzenkowska, C., and Rakowski, A. (2007). The effect of whole-body cryostimulation on lysosomal enzyme activity in kayakers during training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100, 137–142. doi: 10.1007/s00421-007-0404-0
- Ziemann, E., Olek, R. A., Grzywacz, T., Antosiewicz, J., Kujach, S., Luszczyk, M., et al. (2013). Whole-body cryostimulation as an effective method of reducing low-grade inflammation in obese men. *J. Physiol. Sci.* 63, 333–343. doi: 10.1007/s12576-013-0269-4
- Ziemann, E., Olek, R. A., Kujach, S., Grzywacz, T., Antosiewicz, J., Garszka, T., et al. (2012). Five-day whole-body cryostimulation, blood inflammatory markers, and performance in high-ranking professional tennis players. *J. Athl. Train.* 47, 664–672. doi: 10.4085/1062-6050-47.6.13

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Received: 14 May 2014; accepted: 13 June 2014; published online: 02 July 2014.

Citation: Ferreira-Junior JB, Bottaro M, Loenneke JP, Vieira A, Vieira CA and Bemben MG (2014) Could whole-body cryotherapy (below -100°C) improve muscle recovery from muscle damage? *Front. Physiol.* 5:247. doi: 10.3389/fphys.2014.00247

This article was submitted to *Striated Muscle Physiology*, a section of the journal *Frontiers in Physiology*.

Copyright © 2014 Ferreira-Junior, Bottaro, Loenneke, Vieira, Vieira and Bemben. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Effects of a Single Whole Body Cryotherapy (-110°C) Bout on Neuromuscular Performance of the Elbow Flexors during Isokinetic Exercise

Authors

J. B. Ferreira-Junior^{1,2}, C. A. Vieira², S. R. S. Soares², R. Guedes², V. A. Rocha Junior², H. G. Simoes³, L. E. Brown⁴, M. Bottaro²

Affiliations

¹ Department of Education, Federal Institute of Triângulo Mineiro, Paracatu, Brazil

² College of Physical Education, University of Brasília, Brasília, Brazil

³ Department of Physical Education, Catholic University of Brasília, Distrito Federal, Brazil

⁴ Department of Kinesiology, California State University, Fullerton, United States

Key words

- peak torque
- power
- total work
- amplitude of electromyographic activity

Abstract

It has been demonstrated that body cooling may decrease neuromuscular performance. However, the effect of a single session of whole body cryotherapy (-110°C) on neuromuscular performance has not been well documented. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of a single exposure of WBC on elbow flexor neuromuscular performance. Thirteen physically active, healthy young men (age = 27.9 ± 4.2 years, mass = 79.4 ± 9.7 kg, height = 176.7 ± 5.2 cm) were randomly exposed to 2 different experimental conditions separated by a minimum of 72 h: 1) whole body cryotherapy- 3 min at -110°C ; 2)

control- 3 min at 21°C . All subjects were tested for maximal isokinetic elbow flexion at $60^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ 30 min before and 10 min after each condition. There were no significant differences in peak torque, average power, total work or muscle activity between conditions. Peak torque was lower at post-test compared to pre-test in both conditions ($F=6.58$, $p=0.025$). However, there were no differences between pre-test and post-test for any other variables. These results indicate that strength specialists, athletic trainers and physical therapists might utilize whole body cryotherapy before training or rehabilitation without compromising neuromuscular performance of the elbow flexors.

Introduction

Cryotherapy is a therapeutic technique which consists of application of cold in liquid, solid or gas form on regions of the body. A more recent form of cold therapy, called whole body cryotherapy (WBC), consists of brief exposure (2–3 min) to extremely cold air in a special temperature-controlled cryochamber or cryocabin, where the air is maintained at approximately -110 to -195°C [2, 13]. This cold therapy was used for the first time at the end of the 1970s by Toshiro Ymauchi in the treatment of rheumatoid arthritis [27]. Thereafter, it has seen extensive use in clinics to treat rheumatic diseases. Patients with this type of disease, when exposed to WBC, showed a decrease in pain [22], edema and inflammation, as well as musculoskeletal relaxation and an increase in range of motion [20]. Recently, WBC has gained wider acceptance in sports medicine venues as a method to enhance recovery from muscle damage, to prevent overuse syndrome, and to improve recovery between training sessions [2]. The WBC appears to have beneficial effects such as a decrease in the inflammatory response [3]. Moreover, it has been

shown that WBC may decrease muscular enzymes related to muscle damage, such as creatine kinase [3, 32] and lactate dehydrogenase [3]. However, the effects of WBC on recovery of muscle damage are still ambiguous [8, 13, 16]. It has also been reported that WBC treatment did not affect maximal voluntary isometric contraction of the knee extensors [8]. Westerlund et al. [30] observed that a single WBC session impaired drop-jump exercise performance. However, it did not affect neuromuscular performance of the wrist flexor muscles [30]. In contrast, Fricke et al. [14] observed that peak torque of the knee extensor and flexor muscles increased after a single session of WBC in healthy subjects. These conflicting results may be due to methodological differences, such as exercise protocol, type of muscle/joint measured, time elapsed between WBC and start of exercise, and time of exposure and number of sessions of WBC. Despite these controversies, WBC has also been used in clinical settings immediately before exercise to reduce pain, edema and inflammation [8, 31]. According to Westerlund et al. [31] and Costello et al. [8], these reductions would improve exercise session performance. Conversely, some

accepted after revision
March 25, 2014

Bibliography
DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1374602>
Published online: 2014
Int J Sports Med
© Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0172-4622

Correspondence
Prof. João Batista Ferreira-Junior
Department of Education
Federal Institute of Triângulo Mineiro
Road MG 188, km 167,
CEP: 38600-000
Paracatu
Brazil
Tel.: +55/383/6798 200
Fax: +55/38/36798 200
jbfjunior@gmail.com

studies have reported a decrease in muscle performance due to body cooling by cold air exposure or cold water immersion [5, 7, 10, 21, 24]. However, the results from cold water immersion may not be applied to WBC [9]. In addition, the previous studies on WBC were on lower-body performance and their results may not be applied to upper-body performance [10]. Thus, the aim of the present study was to evaluate the effects of a single exposure of WBC on elbow flexor neuromuscular performance in healthy subjects. It was hypothesized that WBC exposure would impair neuromuscular performance.

Methods

Subjects

The sample size test for both WBC and control experimental conditions was determined in GPower (version 3.1.2; Franz Faul, University of Kiel, Germany). The following design specifications were taken into account: $\alpha=0.05$; $(1-\beta)=0.8$; effect size $f=0.4$; test family=F; test and statistical test=ANOVA repeated measures, within-between interaction. The sample size estimated according to these specifications was 12 subjects. 13 recreationally strength-trained young men (age=27.9±4.2 years, mass=79.4±9.7 kg, height=176.7±5.2 cm) volunteered to participate. Their training routine included 4–6 resistance training sessions per week, performing 6–16 sets per muscle group, and 6–15 maximum repetitions per set with 60–120 s of rest between sets. The minimum overall resistance training experience required to enter the study was one year. Subjects were informed of the purpose, procedures, possible discomforts, risks and benefits of the study prior to signing the written informed consent form. They were considered healthy and fit for physical exercise by answering no to all PAR-Q questions [28]. In addition, this study adopted the following exclusion criteria on the basis of Pobjielska et al. [26]: untreated arterial hypertension, cardiovascular and respiratory diseases, angina, peripheral artery occlusive disease, venous thrombosis, urinary tract diseases, severe anemia, allergy to cold, tumorous diseases, viral and bacterial infections, Raynaud's syndrome, claustrophobia or convulsions. The present study was performed in accordance with the ethical standards of the IJSM [15] and approved by the Institutional Ethics Committee (Protocol: 71484/2012).

Experimental design

One week prior to beginning the study, subjects visited the laboratory for a familiarization session regarding the experimental procedures and for weight and height assessment. To test the effects of WBC on isokinetic elbow flexion neuromuscular performance, volunteers participated in 2 experimental conditions: 1) whole body cryotherapy (WBC) condition, exposure to WBC and 2) control (CON), without exposure to WBC. During the WBC condition, subjects were exposed to -110°C for 3 min in a head out cryochamber (Fig. 1) based on gaseous nitrogen (Kryos Tecnologia, Brasília, Brazil). The temperature and duration of WBC exposure were based on Costello et al. [8]. The volunteers wore bathing suits, gloves, socks and shoes with thermic protection to protect the extremities. In the CON condition, subjects remained in the cryochamber for 3 min at 21°C . A random number table was used to randomize the order of each condition. All volunteers performed a standard isokinetic elbow flexion test 30 min before and 10 min after each condition. The

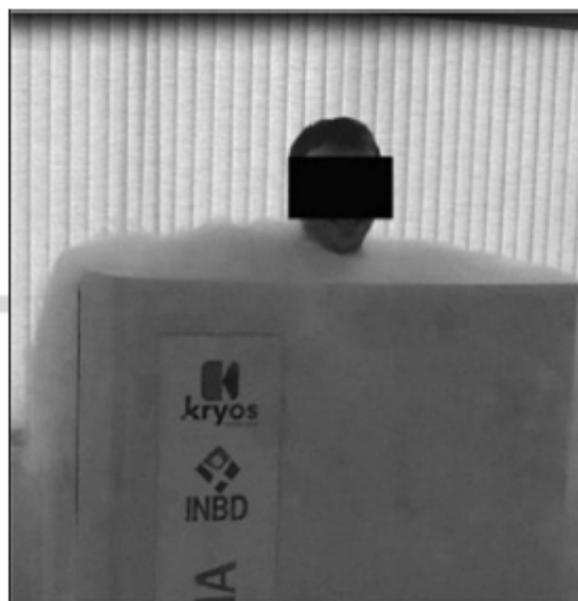


Fig. 1 Subject during whole body cryotherapy (WBC): 3 min at -110°C .

isokinetic test consisted of 2 sets of 4 repetitions at $60^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ with 60 s rest between sets. To avoid circadian influence, subjects performed both conditions at the same time of day. Volunteers were instructed to avoid caffeine and alcohol intake for 24 h before testing and not to perform upper limb exercises for 72 h before testing.

Isokinetic assessment

Elbow flexion isokinetic peak torque, total work and average power were measured by the Biodex System 3 Isokinetic Dynamometer (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY, USA). Subjects were comfortably seated with their elbow on a Scott Bench (i.e. Preacher curl). The lateral epicondyle of the humerus was used as a marker to align elbow rotation to the dynamometer's lever arm. The forearm remained in a supinated position throughout the test. Gravity correction was obtained by measuring the torque exerted by the lever arm and the participant's relaxed arm at full extension. Values for the isokinetic variables were automatically adjusted for gravity within the Biodex Advantage software. All procedures were in accordance with Flores et al. [12]. Calibration of the Biodex dynamometer was carried out according to the manufacturer's specifications in the instruction manual. Participants received verbal encouragement throughout the testing session and all test procedures were performed by the same examiner for all participants.

Muscle activity

Surface electromyographic signals (EMG) were recorded from the biceps brachii by active bipolar electrodes (Ag/AgCl) with a 15 mm diameter and an interelectrode distance of 20 mm. The signals were digitally converted and amplified 100 times by Miotool (Miotec, Brazil – gain of 2000 V/V and common rejection mode of 110 dB). Sampling frequency was 2000 Hz, and all SENIAM [17] recommendations for electrode position and aseptis for surface EMG for non-invasive assessment of muscles were followed. The skin was shaved and cleaned with alcohol. The

electrodes were placed on the line between the medial acromion and the fossa cubit at 1/3 from the fossa cubit. Data for mechanical variables were extracted from the isokinetic dynamometer and synchronized with EMG signals by the EMG equipment interface.

Digital signalling process

Digital signal processing was performed using computational routines written in Matlab 6.5 (Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Initially, the torque signal was filtered by a fourth order, zero-lag Butterworth low-pass filter with cut off frequencies of 15 Hz [1]. For EMG data, the same filter was applied, but the band-pass cut-off frequencies were 20–500 Hz.

The peak torque burst for pre- and post-testing of WBC and CON conditions were chosen as a reference to identify changes in muscular recruitment due to WBC. The EMG analysis was performed in the signal corresponding to the concentric phase of the muscle action. The onset and end of the EMG burst were delimited through the angle signal [11]. A window of 2 000 samples (1 s) corresponding to the middle part of the concentric action (○ Fig. 2) was used as a reference for the EMG parameters estimation.

The signals from the biceps brachii were normalized to the mean value of the pre-test EMG rectified burst of each measurement day/condition. After establishment of the burst boundaries and normalization, the amplitude of the EMG signal was calculated by root mean square (EMG-RMS).

Statistical analyses

Data are presented as mean ± standard deviation. The Shapiro-Wilk test was used to check data for normal distribution. Considering that data presented normal distribution, separate 2-way repeated measures ANOVAs [condition (WBC and CON) × exercise time (pre and post-test)] were used to analyse peak torque, total work, average power and EMG (RMS) across time. Intraclass correlation coefficient (ICC) was used to measure intra-rater reliability. The significance level was set at $P < 0.05$. Complementarily, the effect size (ES) calculation was used to examine the magnitude of each condition effect. Cohen's ranges of 0.2, 0.5, and 0.8 were used to define small, medium and large d values obtained from differences between pre- and post-test scores divided by the pooled standard deviation [4].

Results

Baseline test/retest reliability ICC and coefficient of variation values for peak torque, total work, average power and for amplitude of the EMG (RMS) signal were 0.93 and 14%, 0.90 and 14.3%, 0.92 and 15.9%, 0.73 and 19.2%, respectively.

For peak torque, there was no significant interaction ($F = 0.0002$, $p = 0.99$). There was no main effect for condition ($F = 0.69$, $p = 0.42$). The effect size for control and WBC condition were small (○ Table 1). However, there was a main effect for time with peak torque being lower in the post-test when compared to the pre-test ($F = 6.58$, $p = 0.025$; ○ Table 1).

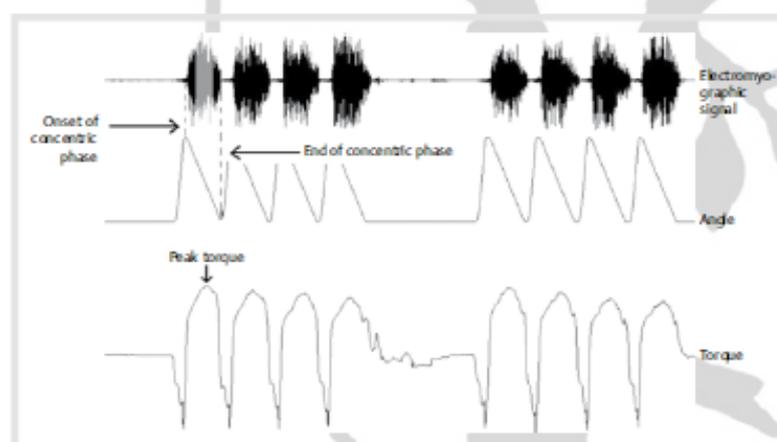


Fig. 2 Determination of the onset and the end of concentric phase based on angle signal. The electromyographic signal corresponding to the central part of the concentric phase of the peak torque contraction (gray part of the signal burst) was used as reference for the comparisons between the experimental conditions.

Table 1 Means ± SD and [95% confidence intervals] of total work, power output and root mean square (EMG-RMS) during a standard test for isokinetic elbow flexion before and after whole body cryotherapy (WBC) and control (CON) conditions.

	CON				WBC				Difference between condition (p)
	Pre-test	Post-test	Difference*	ES	Pre-test	Post-test	Difference*	ES	
Peak torque (N.m)	66.3 ± 9.3 [61.3, 71.3]	64.8 ± 10.1*	1.5 ± 2.9 [-0.1, 3.1]	0.16	65.5 ± 9.2 [60.5, 70.6]	64.0 ± 9.4*	1.6 ± 4.1 [-0.7, 3.8]	0.17	0.42
Total work (J)	451.0 ± 61.3 [417.7, 484.3]	445.1 ± 64.1 [410.0, 479.9]	5.8 ± 20.6 [-5.4, 17.0]	0.09	456.0 ± 68.9 [418.5, 493.5]	447.9 ± 70.2 [409.7, 486.1]	8.1 ± 22.8 [-4.4, 20.5]	0.11	0.56
Average power (W)	49.5 ± 7.5 [45.4, 53.6]	48.7 ± 7.3 [44.7, 52.7]	0.8 ± 2.4 [-0.5, 2.1]	0.10	48.9 ± 8.2 [44.4, 53.4]	48.2 ± 7.6 [44.1, 52.3]	0.8 ± 2.5 [-0.6, 2.1]	0.10	0.47
RMS (% of peak EMG burst)	125.2 ± 4.1 [122.9, 127.4]	120.1 ± 24.6 [106.8, 133.5]	5.0 ± 22.7 [-7.3, 17.3]	1.21	127.2 ± 3.3 [125.4, 128.9]	126.8 ± 32.5 [109.1, 144.5]	1.0 ± 30.6 [-15.7, 17.6]	0.3	0.72

Difference*: pre-test – post-test. ES: Cohen's d effect size. Difference between condition – main effect condition. (*) $p < 0.05$, lower than pre-test

Values for total work, average power and EMG (RMS) are presented in **Table 1**. There were no significant interactions for total work ($F=0.068$, $p=0.80$), average power ($F=0.0003$, $p=0.98$) or EMG (RMS) ($F=2.38$, $p=0.18$). There were no significant main effects for condition for total work ($F=0.35$, $p=0.56$), average power ($F=0.55$, $p=0.47$) and EMG (RMS) ($F=0.25$, $p=0.65$). Moreover, there were no significant main effect for time for total work ($F=2.7$, $p=0.12$), average power ($F=2.1$, $p=0.17$) or EMG (RMS) ($F=0.80$, $p=0.39$).

Discussion



The aim of this study was to evaluate the effects of a single WBC session (3 min at -110°C) on neuromuscular performance in young men. Since other cold modalities using ice or cold water reported detrimental effects on performance [29], we hypothesized that WBC would result in a decrease in neuromuscular performance of the elbow flexors. However, we found no statistically significant differences between conditions. Although our hypothesis was rejected, these findings have a clinical relevance to those treating soft-tissue injuries and may also help decisions related to return to play after using this treatment modality.

Klimek et al. [19] examined the effect of a single session of WBC on maximal anaerobic power of the lower limbs. Subjects (15 men and 15 women) were exposed to 6 WBC treatments (3 min at -130°C) once a day. After leaving the chamber in each session they performed a single Wingate test at 15, 30, 45, 60, 75 and 90 min post. There was no change in anaerobic power at any of the time points tested. However, they observed a shorter time to reach anaerobic power in men until 45 min and until 90 min in women compared to the initial time. According to the authors, repeated exposure to cold and the accompanying shivering thermogenesis cause an adaptable increase in the activity of anaerobic glycolytic enzymes. On the other hand, another study reported that flight time decreased during a drop-jump exercise after a single WBC exposure (2 min at -110°C) [30]. Similar to the results of the present study, knee joint position perception, force proprioception and maximal voluntary isometric contraction of the knee extensors were not affected by WBC (3 min at -110°C) [8]. Additionally, WBC did not affect maximal isometric contraction force of the wrist flexors [30]. Thus, it appears that the discrepancies when comparing the results of studies can also reflect differences in contraction type, muscle group and muscle fiber type composition [10].

Interestingly, studies on the effects of body cooling using different techniques have reported different findings on neuromuscular performance [5,7,21,24]. They have shown a decrease in quadriceps and hamstring peak torque after 40 min of exposure to 10 and 5°C cold air [7]. The flight time, average force production and take-off velocity of a maximal rebound jump (stretch-shortening cycle) decreased in a dose-dependent manner after 60 min of 20, 15 and 10°C cold air exposure [24]. Likewise, a reduction in peak torque, power and total work of the plantar flexors was observed after 20 min of cold water immersion (15°C) [21]. Thus, it is important to highlight that the type of cold exposure may be one of the reasons for the difference between the present study and others reported here. Previous studies [5,7,21,24] exposed subjects to cold water immersion or cold air, ranging in time from 20 to 60 min and in temperature from 5 to 27°C . In the present study, our subjects were exposed to extremely cold air (-110°C) for only 3 min. Hence, the

discrepancies among temperature gradients, exposure time, and the conductivity of water and air must be considered when results from different modalities of cryotherapy are compared.

Furthermore, in the present study, we investigated the effects of cold on upper-body muscle performance. Thus, the difference in results may be also related to the type of muscle action and muscle type/joint measured (upper-body vs lower-body) [10].

In the present study, there was no significant difference in muscle activity between the WBC and CON conditions. Thus, it seems that WBC exposure does not affect EMG signals of the elbow flexors. This is supported by Westerlund et al. [30] who did not observe any effect of a single WBC session on the EMG signals of the tibialis anterior or gastrocnemius medialis muscles during a drop-jump exercise, or on the carpi radialis during maximal isometric wrist flexion. In contrast, a negative effect of another type of cold exposure (water immersion) on EMG signals has been reported by other studies [6,23,25]. These studies revealed lower muscle activity of the forearm flexors during an isometric handgrip contraction at a muscle temperature of 20°C compared to 27 and 35°C [6]. A slight reduction in EMG amplitude during a maximal isometric handgrip test was observed after immersing the forearm in 20°C water for 30 min compared to 30°C water [25]. However, the EMG signal was markedly decreased after immersion in 10°C water [25]. Mucke and Heuer [23] also reported a decline in EMG amplitude at 30% of maximal voluntary contraction of the elbow flexors after exposure to temperatures below 20°C .

Thus, the main reason for similar neuromuscular performances between WBC and CON conditions observed in the present study may be related to the thermoregulatory effects of WBC. A mild reduction in tympanic temperature from 36.9°C to 36.6°C after WBC has been reported [8]. This temperature returned to basal level 15 min after WBC exposure. Westerlund et al. [31] measured rectal and skin temperature in healthy subjects before, during and after WBC exposure (2 min at -110°C). Rectal temperature was unchanged during WBC exposure and maintained at 37.4°C . However, after WBC, there was a slight continuous decrease in rectal temperature (37.16°C).

The limitation of the present study is that it did not assess muscle temperature, skinfold thickness and other populations, such as women. It has been suggested that adipose tissue thickness may affect the cooling of underlying tissue [18]. Furthermore, it is known that muscle temperature can affect muscle performance [5,10]. In accordance with Westerlund et al. [30], it is possible that WBC exposure caused a decrease in temperature of only the superficial muscles. Additionally, due to strong vasoconstriction and a short period of exposure (2–3 min), the critical muscle temperature that results in a decline of muscle strength ($<27^{\circ}\text{C}$) [10] was probably not reached. This supposition is supported by Costello et al. [9]. They measured muscle temperature of the vastus lateralis before and 60 min after WBC (20 s at $-60\pm 3^{\circ}\text{C}$ followed by 3 min and 40 s at $-110\pm 3^{\circ}\text{C}$). Baseline muscle temperature at a probe depth of 3 cm was $35.7\pm 0.7^{\circ}\text{C}$. Compared to this, muscle temperature decreased 20 min after WBC exposure with the greatest reduction observed 60 min after treatment ($1.6\pm 0.6^{\circ}\text{C}$). According to Costello et al. [9] it appears that muscle temperature starts to decrease 20 min after WBC. We could speculate that the 10 min rest interval between WBC exposure and the strength test may have been responsible for the results of the present study. However, our study aimed to apply a protocol used in clinical rehabilitation and training facilities. In these settings, patients and athletes usually begin resistance exercise 10 to 15 min following treatment.

In conclusion, the present study demonstrated that young men exposed to a single bout of WBC (3 min at -110°C) did not decrease neuromuscular performance of the elbow flexors during isokinetic exercise. Thus, WBC may be an alternative modality of cryotherapy for use in clinical and sports settings without impairing upper-body muscular performance. Additionally, with regard to practicality, WBC may be an effective alternative to cold water or cold air therapy due to lower exposure time. However, this consideration did not support the recommendation of using WBC before training and rehabilitation to improve recovery as well as to treat pain or injury. For the same reason, we assert that further studies on this topic are necessary to arrive at more precise conclusions and an improved understanding of the effects of WBC on the neuromuscular performance of different muscle groups. It is important to evaluate whether WBC is efficient in hastening recovery as well as treating pain or injury.

Conflict of interest: There are no conflict of interest declared among authors.

References

- Aagaard P, Simonzen ER, Andersen JL, Magnusson P, Dyhre-Poulsen P. Increased rate of force development and neural drive of human skeletal muscle following resistance training. *J Appl Physiol* 2002; 93: 1318–1326
- Banfi C, Lombardi C, Colombini A, Melegati C. Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports Med* 2010; 40: 509–517
- Banfi C, Melegati C, Barazzi A, Dogliotti C, d'Eril CM, Dugue R, Corzi MM. Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes. *J Therm Biol* 2009; 34: 55–59
- Reck TW. The importance of a priori sample size estimation in strength and conditioning research. *J Strength Cond Res* 2013; 27: 2323–2337
- Bergh U, Ekblom B. Influence of muscle temperature on maximal muscle strength and power output in human skeletal-muscles. *Acta Physiol Scand* 1979; 107: 33–37
- Clarke RSJ, Hellon RF, Lind AR. The duration of sustained contractions of the human forearm at different muscle temperatures. *J Physiol (Lond)* 1958; 143: 454–473
- Comeau MJ, Potteiger JA, Brown LE. Effects of environmental cooling on force production in the quadriceps and hamstrings. *J Strength Cond Res* 2003; 17: 279–284
- Castello JT, Algar LA, Donnelly AE. Effects of whole-body cryotherapy (-110°C) on proprioception and indices of muscle damage. *Scand J Med Sci Spor* 2012; 22: 190–198
- Castello JT, Culligan K, Selfe J, Donnelly AE. Muscle, skin and core temperature after -110°C cold air and 8°C water treatment. *PLoS One* 2012; 7: e48190
- Drinkwater E. Effects of peripheral cooling on characteristics of local muscle. *Med Sport Sci* 2008; 53: 74–88
- Finucane SD, Rafiee T, Kuez J, Lamb RL, Mayhew TP. Reproducibility of electromyographic recordings of submaximal concentric and eccentric muscle contractions in humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 109: 290–296
- Flores DF, Gentil P, Brown LE, Pinto RS, Carregaro RL, Bottaro M. Dissociated time course of recovery between genders after resistance exercise. *J Strength Cond Res* 2011; 25: 3039–3044
- Fonda R, Sarabon N. Effects of whole-body cryotherapy on recovery after hamstring damaging exercise: a crossover study. *Scand J Med Sci Spor* 2013; 23: E270–E278
- Fricke R, Crapo WC, Knauer C. Steigerung von Muskelkraft und Leistung durch Ganzkörperkältetherapie -110°C über 1, 2 und 3 Minuten. *DRV-Schriften Band* 1999; 12: 166–167
- Harriz DJ, Atkinson G. Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2014 Update. *Int J Sports Med* 2013; 34: 1025–1028
- Hauzwirth C, Louis J, Bieuzen F, Pournat H, Fournier J, Filliard JR, Brizzwalter J. Effects of whole-body cryotherapy vs. far-infrared vs. passive modalities on recovery from exercise-induced muscle damage in highly-trained runners. *PLoS One* 2011; 6: e27749
- Hermens HJ, Freriks B, Dizzelhorst-Klug C, Rau G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *J Electromyogr Kinesiol* 2000; 10: 361–374
- Jutte LS, Merrick MA, Ingersoll CD, Edwards JE. The relationship between intramuscular temperature, skin temperature, and adipose thickness during cryotherapy and rewarming. *Arch Phys Med Rehab* 2011; 82: 845–850
- Klimek AT, Lubkowska A, Szygula Z, Fraczek B, Chudecka M. The influence of single whole body cryostimulation treatment on the dynamics and the level of maximal anaerobic power. *Int J Occup Med Env* 2011; 24: 184–191
- Krzyszpolka-Pietrzak K. Cryotherapy in the treatment of rheumatic disease. *Orthop Traumatol Rehabil* 2000; 2: 66–69
- Mattacola CG, Perrin DH. Effects of cold water application on isokinetic strength of the plantar flexors. *Isokinet Exerc Sci* 1993; 3: 152–154
- Metzger D, Zwingmann C, Protz W, Jackel WH. Whole-body cryotherapy in rehabilitation of patients with rheumatoid diseases-pilot study. *Rehabilitation (Stuttg)* 2000; 39: 93–100
- Mucke R, Heuer D. Behavior of EMG-parameters and conduction-velocity in contractions with different muscle temperatures. *Biomed Biochim Acta* 1989; 48: 5459–5464
- Okša J, Rintamaki H, Rissanen S. Muscle performance and electromyogram activity of the lower leg muscles with different levels of cold exposure. *Eur J Appl Physiol* 1997; 75: 484–490
- Petrofsky JS, Lind AR. The influence of temperature on the amplitude and frequency components of the EMG during brief and sustained isometric contractions. *Eur J Appl Physiol* 1980; 44: 189–200
- Pobdińska H, Strek K, Biały D (eds.). *Whole Body Cryotherapy*. Wrocław: Kriotechnika Medyczna, 2006; 110
- Rymaszewska J, Tulczyński A, Zagrobelny Z, Kiejna A, Hadryk T. Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms – preliminary report. *Acta Neuropsychiatr* 2003; 15: 122–128
- Thomas S, Reading J, Shephard RJ. Revision of the physical-activity readiness questionnaire (Par-Q). *Can J Sport Sci* 1992; 17: 338–345
- Vieira A, Oliveira AB, Costa JR, Herrera E, Salvini TF. Cold modalities with different thermodynamic properties have similar effects on muscular performance and activation. *Int J Sports Med* 2013; 34: 873–880
- Westerlund T, Okša J, Smolander J, Mikkelsen M. Neuromuscular adaptation after repeated exposure to whole-body cryotherapy (-110°C). *J Therm Biol* 2009; 34: 226–231
- Westerlund T, Okša J, Smolander J, Mikkelsen M. Thermal responses during and after whole-body cryotherapy (-110°C). *J Therm Biol* 2003; 28: 601–608
- Wozniak A, Wozniak B, Drewa C, Mila-Kierzenkowska C, Rakowski A. The effect of whole-body cryostimulation on lysosomal enzyme activity in kayakers during training. *Eur J Appl Physiol* 2007; 100: 137–142

Effects of Partial-body Cryotherapy (-110°C) on Muscle Recovery between High-intensity Exercise Bouts

Authors J. B. Ferreira-Junior^{1,2}, M. Bottaro², C. A. Vieira², S. R. S. Soares², A. Vieira², V. A. Cleto², E. L. Cadore², D. B. Coelho², H. G. Simoes², L. E. Brown²

Affiliations Affiliation addresses are listed at the end of the article

Key words

- peak torque
- total work
- training session recovery
- recovery modality
- muscle performance

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of a single partial-body cryotherapy bout between training sessions on strength recovery. 12 young men (23.9 ± 5.9 years) were randomly exposed to 2 different conditions separated by 7 days: 1) Partial-body cryotherapy (subjects were exposed to 3 min of partial-body cryotherapy at -110°C between 2 high-intensity training sessions); 2) Control (subjects were not exposed to partial-body cryotherapy between 2 high-intensity training sessions). Subjects were exposed to partial-body cryotherapy after the first training session. The 2 knee extension high-intensity training sessions were separated by a

40-min rest interval. Knee extension training consisted of 6 sets of 10 repetitions at $60^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ for concentric actions and 6 sets of 10 at $180^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ for eccentric actions. The decrease in eccentric peak torque and total work was significantly ($p < 0.05$) less after partial-body cryotherapy (5.6 and 2%, respectively) when compared to control (16 and 11.6%, respectively). However, the decrease in concentric peak torque and total work was not different ($p > 0.05$) between partial-body cryotherapy (9.4 and 6.5%, respectively) and control (7.5 and 5.2%, respectively). These results indicate that the use of partial-body cryotherapy between-training sessions can enhance eccentric muscle performance recovery.

Introduction

High-level athletes or physically active individuals may temporarily experience impaired muscular performance following high-intensity exercise bouts or competition. According to Barnett [4], the decline in strength performance might be temporary, lasting minutes, hours or several days. Short-term neuromuscular performance impairment may result from several factors, such as: 1) decreased muscle pH [10,37,38], 2) depletion of phosphocreatine [11,37,39], ATP [11,16] and muscle glycogen stores [1], 3) metabolic products accumulation from muscle contractions [16,27,39] or 4) reduction in brain signals to muscle fibers [6,41]. In this way, several recovery strategies between training sessions or competition have been used to accelerate muscle recovery, such as massage, active recovery, compression garments, and cryotherapy, among others [4,6]. A relatively novel modality of cryotherapy is whole-body cryotherapy (WBC). WBC refers to a brief exposure (2–3 min) to extremely cold air (-110 to -140°C) in a temperature-controlled chamber called a cryocabin [2]. Sessions of par-

tial-body cryotherapy (PBC), in which the head is not exposed to cold, have also been used as a similar modality of WBC [21]. In addition, some studies have reported temperatures as low as -160°C [20] and -195°C [17]. WBC was used for the first time in the treatment of rheumatoid arthritis in the late 1970s by Toshiro Yamauchi [36]. Since then, it has been reported to reduce spasticity in some neurological diseases [24], pain, edema, inflammation, as well as promote musculoskeletal relaxation and increase range of motion in patients with rheumatic diseases [24,26].

Furthermore, studies have reported that WBC improves muscle damage recovery after exercise [2,20,33]. Banfi et al. [3] showed that 5 WBC sessions decreased muscular enzymes related to muscle damage, such as creatine kinase and lactate dehydrogenase, reduced prostaglandin PGE₂, cytokines IL-8, IL-2, and increased cytokine IL-10. However, Costello et al. [13] showed that one session of WBC did not enhance muscle recovery from exercise-induced muscle damage. Moreover, the results reported by Fonda and Sarabon [17] did not completely support the use

accepted after revision
April 30, 2014

Bibliography

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1382057>
Published online: 2014
Int J Sports Med
© Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0172-4622

Correspondence

Prof. João Batista
Ferreira-Junior
Department of Education
Federal Institute of Triângulo
Mineiro
Road MG 188, km 167, CEP:
38600-000
38600-000 Paracatu
Brazil
Tel.: +55/383/6798 200
Fax: +55/383/6798 200
jbfjunior@gmail.com

of WBC as a recovery modality. It is important to note that these studies aimed to evaluate the effects of WBC on muscle damage recovery. Moreover, cryotherapy between training sessions has been used to improve recovery for athletes who sometimes do work out twice daily [4,6]. Similarly, competitive sports with heats and finals in the same day have also been using cryotherapy to accelerate muscle recovery [4,6]. However, to the best of our knowledge, only one study investigated the effects of WBC on recovery between 2 training sessions on the same day. Schaal et al. [40] examined the effect of WBC on the parasympathetic reactivation and metabolic parameters of recovery between 2 synchronized swimmers simulated competition separated by 70 min. The effects of WBC on neuromuscular recovery between successive same-day training sessions therefore require further investigation.

We hypothesized that the physiological responses to cold exposure from WBC will improve neuromuscular recovery in subjects or athletes who compete or train more than once on the same day. The rationale for our hypothesis is that cryotherapy causes a vasoconstriction associated with decreased muscle temperature [23]. A secondary vasodilation occurs after the muscles have been exposed to cryotherapy [23]. This vasodilation increases capillary blood flow, oxygen and nutrients into the muscles and enhances removal of metabolic products from muscle contractions [23]. In addition, hastening muscular recovery is especially important when subjects perform more than one training session per day [4,6] or when the sport requires several maximal performances in the same day. For instance, athletes of various sports, such as swimming, athletics, judo, jiu-jitsu, among others frequently perform several bouts with 30 min rest interval between matches. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of a single PBC treatment between 2 high-intensity resistance training sessions on strength recovery.

Materials and Methods

Subjects

The sample size test for both WBC and control experimental condition was determined in GPower (version 3.1.2; Franz Faul, Universität Kiel, Germany). The following design specifications were taken into account: $\alpha=0.05$; $(1-\beta)=0.8$; effect size $f=0.4$; test family=F test and statistical test=ANOVA repeated measures, within-between interaction. The sample size estimated according to these specifications was 10 subjects. 12 well-trained young men (23.9 ± 5.9 years, 92.5 ± 10.4 kg and 180.5 ± 5.8 cm) volunteered to participate in this study. Their training routine included 4–6 resistance training sessions per week, performing 6–10 sets per muscle group, and 6–12 maximum repetitions with 60–120 s of rest interval between sets. The minimum overall resistance training experience required to enter the study was one year. They were informed of the purpose, procedures, possible discomforts, risks and benefits of the study prior to signing the written informed consent term. Subjects were considered healthy and fit for physical exercise by answering no to all the PAR-Q questions [42]. Additionally, the following exclusion criteria were adopted based on Pobdielska et al. [32]: untreated arterial hypertension, cardiovascular or respiratory diseases, angina, peripheral artery occlusive disease, venous thrombosis, urinary tract diseases, severe anemia, allergy to cold, tumor diseases, viral and bacterial infections, Raynaud's

syndrome, claustrophobia or convulsions. The present study was performed in accordance with the ethical standards of the IJSM [19] and approved by the local Ethics Committee (Ethics Committee from Catholic University of Brasília, Brazil; Protocol: 71484/2012).

Experimental design

In order to test the hypothesis that a single PBC treatment between 2 high-intensity resistance exercise sessions would improve muscle recovery, subjects were asked to visit the laboratory on 3 occasions. The first visit consisted of a familiarization of experimental procedures and anthropometric assessment. Familiarization was performed one week prior to the second visit. Thereafter, volunteers participated in 2 experimental conditions: 1) PBC (subjects were exposed to 3 min of PBC at -110 °C between 2 high-intensity resistance training sessions); 2) Control (CON, subjects were not exposed to a WBC between 2 high-intensity resistance training sessions). Subjects were exposed to partial-body cryotherapy immediately after the first training session, and 37 min after PBC performed second training session. Thus, the 2 knee extension training sessions were separated by a 40-min rest interval. Order of conditions was randomized with 7 days between conditions. A diagram of the experimental design for both CON and WBC is presented in Fig. 1. To avoid circadian influence, subjects performed both conditions at the same time of day. Volunteers were instructed to avoid caffeine and alcohol intake for 24 h before testing and to not perform lower-limb exercises for 72 h before experimental exercise sessions. Additionally, they were instructed to not take supplements, nonsteroidal anti-inflammatory drugs or similar products over the course of the study.

Training session protocol

Each knee extension exercise session consisted of 6 sets of 10 repetitions at 60 °.s⁻¹ for concentric actions and 6 sets of 10 repetitions at 180 °.s⁻¹ for eccentric actions, with 1 min interser rest interval. All exercise was performed in a Biodex System 3 Isokinetic Dynamometer (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY, USA). Subjects were positioned comfortably on the dynamometer seat with belts fastened across the trunk, pelvis and thigh to minimize extraneous body movements which could affect peak torque and power values. The lateral epicondyle of the femur was used to align the knee with the dynamometer's lever arm, allowing free and comfortable knee flexion and extension from 80 ° flexion to full extension. With the participants positioned on the seat, the following measures were recorded to standardize the test position for each participant: seat height, backrest

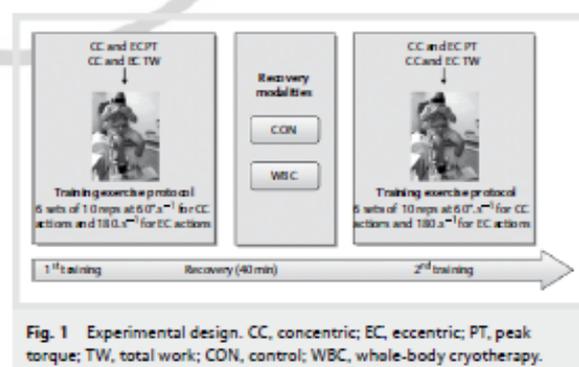


Fig. 1 Experimental design. CC, concentric; EC, eccentric; PT, peak torque; TW, total work; CON, control; WBC, whole-body cryotherapy.



Fig. 2 Subject during whole body cryotherapy (WBC): 3 min at -110°C .

inclination, dynamometer height and lever arm length in order. Gravity correction was obtained at full extension by measuring the torque exerted by the lever arm and the participant's relaxed leg. All isokinetic variables were automatically adjusted for gravity within the Biodex Advantage software. All procedures were in accordance with Bottaro et al. [9].

Calibration of the dynamometer was carried out according to manufacturer's specifications. During training sessions, participants were asked to cross their arms across the chest. Moreover, they received verbal encouragement throughout the training sessions, and all training procedures were performed by the same examiner. Baseline test/retest reliability ICC values for knee extension concentric and eccentric peak torque were 0.91 and 0.93, respectively. Additionally, baseline test/retest reliability ICC values for knee extension concentric and eccentric total work were 0.8 and 0.87, respectively.

Recovery modalities

During the PBC condition (Fig. 2), subjects stood in a head-out cryochamber using gaseous nitrogen (Kryos Tecnologia, Brasília, Brazil) at -110°C for 3 min. The temperature and duration of PBC exposure were based on Banfi et al. [2]. They wore bathing suits, gloves, socks and shoes with thermic protection to protect their extremities. The CON condition consisted of passive recovery, during which subjects stood in the cryochamber for 3 min at 21°C . Thigh temperature (anterior central area) was measured by an infrared thermometer (Fluke, 566, China) before and immediately after PBC and CON condition. The measurement area was marked with a pen (Pilot 2 mm, Brazil) before each condition.

Statistical analyses

Data are presented as mean \pm standard deviation. The Shapiro-Wilk test was used to check data for normal distribution. Considering that data presented normal distribution, 2×6 [condition (PBC and CON) \times training sets (1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th)] 2-way repeated measures ANOVAs were used to analyze knee

Table 1 Mean \pm SD of knee extension concentric and eccentric peak torque and total work throughout 1st training session before WBC and CON conditions.

	CON	WBC	P-value
CC PT (N.m)			
1 st set	299 \pm 34 ^{*(#)(§)}	294 \pm 28 ^{*(#)(§)}	
2 nd set	254 \pm 29 ^{*(#)(§)}	256 \pm 37 ^{*(#)(§)}	
3 rd set	226 \pm 37 ^{*(#)}	230 \pm 35 ^{*(#)}	set effect < 0.001
4 th set	212 \pm 40 [*]	203 \pm 40 [*]	condition effect = 0.61
5 th set	196 \pm 36	190 \pm 31	set \times condition = 0.67
6 th set	188 \pm 37	182 \pm 26	
CC TW (J)			
1 st set	2324 \pm 411 ^{*(#)(§)}	2397 \pm 314 ^{*(#)(§)}	
2 nd set	1925 \pm 297 ^{*(#)(§)}	2028 \pm 327 ^{*(#)(§)}	
3 rd set	1721 \pm 263 ^{*(#)}	1724 \pm 320 ^{*(#)}	set effect < 0.001
4 th set	1605 \pm 341	1538 \pm 299	condition effect = 0.43
5 th set	1452 \pm 322	1437 \pm 263	set \times condition = 0.38
6 th set	1365 \pm 282	1362 \pm 261	
EC PT (N.m)			
1 st set	340 \pm 43 ^{*(#)(§)}	311 \pm 71 ^{*(#)(§)}	
2 nd set	325 \pm 47 ^{*(#)(§)}	302 \pm 74 ^{*(#)(§)}	
3 rd set	294 \pm 73 [*]	282 \pm 77 [*]	time effect < 0.001
4 th set	289 \pm 78	267 \pm 77	condition effect = 0.07
5 th set	279 \pm 79	268 \pm 74	set \times condition = 0.94
6 th set	275 \pm 81	249 \pm 77	
EC TW (J)			
1 st set	2193 \pm 610 ^{*(#)}	1937 \pm 637 ^{*(#)}	
2 nd set	2115 \pm 573 ^{*(#)}	1806 \pm 606 ^{*(#)}	
3 rd set	1857 \pm 661 [*]	1750 \pm 671 [*]	time effect < 0.001
4 th set	1753 \pm 679	1524 \pm 609	condition effect = 0.10
5 th set	1631 \pm 656	1499 \pm 637	set \times condition = 0.87
6 th set	1557 \pm 651	1308 \pm 544	

CC PT, concentric peak torque; CC TW, concentric total work; EC PT, eccentric peak torque; EC TW, eccentric total work; CON, control condition; WBC, whole body cryotherapy condition; Set \times condition, Set \times condition interaction. (*) $p < 0.05$, higher than 6th set; (#) $p < 0.05$, higher than 5th set; (§) $p < 0.05$, higher than 4th set; (¶) $p < 0.05$, higher than 3rd set; (||) $p < 0.05$, higher than 2nd set

extension concentric and eccentric peak torque and total work. In the case of significant differences, a Tukey' post hoc test was used. Significance level was set a priori at $P < 0.05$.

Results

There were no significant differences in baseline values (1st training session) between PBC and CON conditions for any of the variables measured (Table 1). Normalized concentric peak torque and total work throughout 2nd training session after each condition (PBC and CON) are presented in Fig. 3, 4, respectively. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. There were no significant interactions for knee extension concentric peak torque ($F = 0.58$, $p = 0.71$) or total work ($F = 0.7$, $p = 0.63$). There were also no significant main effects for condition for knee extension concentric peak torque ($F = 0.53$, $p = 0.48$) or total work ($F = 0.22$, $p = 0.64$) and no significant main effect for training sets for knee extension concentric total work ($F = 1.72$, $p = 0.15$). However, there was a main effect for training sets for knee extension concentric peak torque ($F = 7.6$, $p < 0.001$). In both conditions, knee extension peak torque was higher in the 4th, 5th and 6th sets when compared to the 1st set ($p < 0.001$). Additionally, the 5th set was higher when compared to the 2nd set ($p < 0.001$).

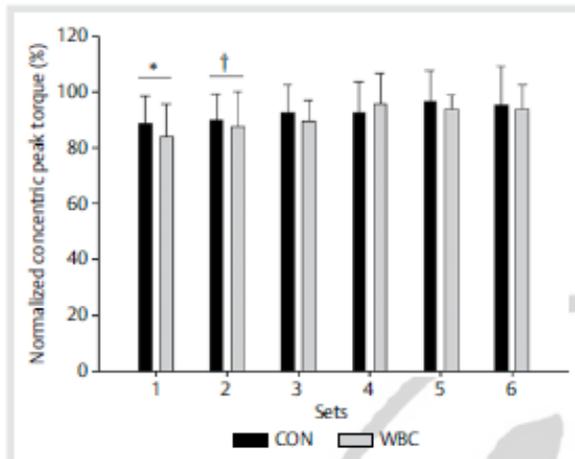


Fig. 3 Normalized knee extension concentric peak torque throughout 2nd training session. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. CON, control condition. WBC, whole body cryotherapy condition. (*) $p < 0.05$, lower than 4th, 5th and 6th sets. (†) $p < 0.05$, lower than 5th set.

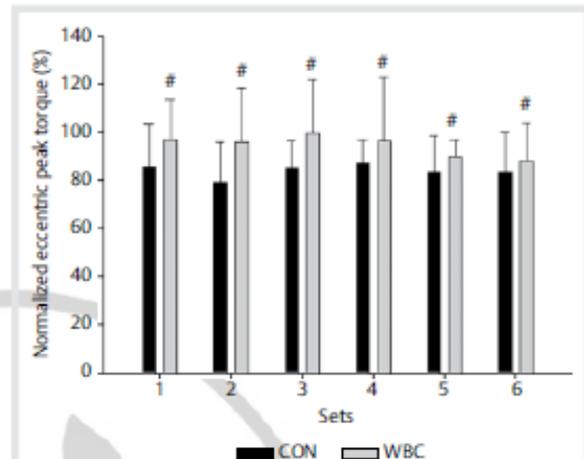


Fig. 5 Normalized knee extension eccentric peak torque throughout 2nd training session. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. CON, control condition. WBC, whole body cryotherapy condition. (#) $p < 0.05$, higher than CON.

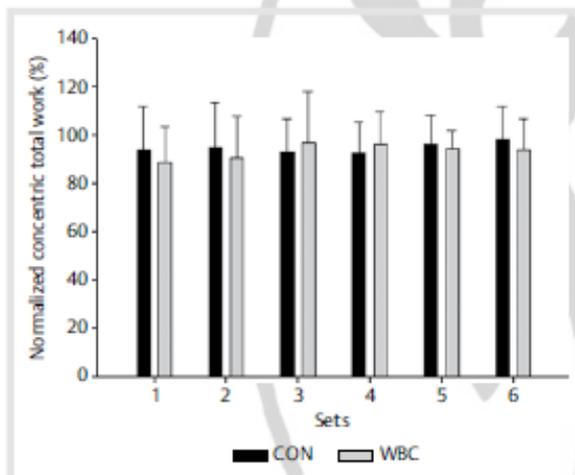


Fig. 4 Normalized knee extension concentric total work throughout 2nd training session. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. CON, control condition. WBC, whole body cryotherapy condition. $p > 0.05$.

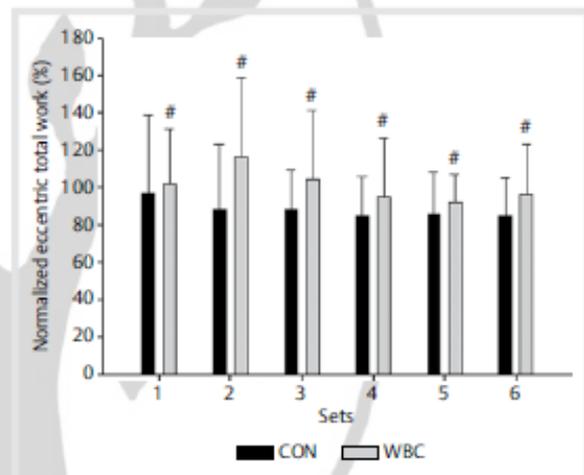


Fig. 6 Normalized knee extension eccentric total work throughout 2nd training session. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. CON, control condition. WBC, whole body cryotherapy condition. (#) $p < 0.05$, higher than CON.

Normalized knee extension eccentric peak torque and total work throughout the 2nd training session after PBC and CON conditions are presented in Fig. 5, 6, respectively. Baseline relative strength (throughout 1st training session) was expressed as 100%. There were no significant interactions for knee extension eccentric peak torque ($F=0.36$, $p=0.87$) or total work ($F=0.77$, $p=0.57$). There were also no significant main effects for training sets for knee extension eccentric peak torque ($F=1.06$, $p=0.39$) or total work ($F=0.58$, $p=0.71$). However, there were main effects for condition for knee extension eccentric peak torque ($F=9.26$, $p=0.011$) and total work ($F=4.92$, $p=0.048$), which were higher in the PBC condition when compared to the CON condition.

Discussion

The aim of this study was to evaluate the effects of a single PBC session (3 min at -110°C) on strength recovery between training sessions on the same day in young men. The main finding was that PBC improved eccentric muscle recovery 40 min after a high-intensity exercise bout. In contrast, concentric muscle recovery between high-intensity training sessions was not hastened by PBC. While it was hypothesized that a PBC session would improve concentric and eccentric muscle recovery, improvement was observed only during eccentric actions. Klimek et al. [23] suggested that cryotherapy causes an increase in blood flow, oxygen and nutrients to the muscles and also enhances removal of metabolic products from muscle contrac-

tions due to a secondary vasodilation that occurs after exposure to cryotherapy. However, PBC did not improve concentric recovery in the present study. A possible reason for similar decreases in concentric muscle performance from the first to the second training sessions in both conditions may be related to the thermoregulatory effects (drop in muscle temperature) of WBC [14]. Additionally, cold exposure may cause deleterious effects due to decrease in nerve conduction and reduced rate of enzymatic activity, which would cause a decrease in cross-bridge attachment/detachment during muscle contraction [8]. Thus, any possible positive effects of PBC on concentric muscle recovery could have been masked by detrimental effects of body cooling. Indeed, some studies have reported a decrease in muscle performance due to body cooling [5,12,15,25,31]. Costello et al. [14] measured muscle temperature of the vastus lateralis before and 60 min after WBC (20 s at $-60 \pm 3^\circ\text{C}$ followed by 3 min and 40 s at $-110 \pm 3^\circ\text{C}$). They observed that the vastus lateralis temperature decreased 20 min after WBC exposure with the greatest reduction observed 60 min after treatment ($1.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$). Thus, according to Costello et al. [14] it appears that muscle temperature starts to decrease 20 min after WBC. Because our second training session was performed 30 min after WBC exposure, we could speculate that quadriceps temperature might have been decreased at the onset of the second training session, which could have influenced concentric muscle performance. Alternatively, the thermoregulatory effects of PBC exposure might be responsible for hastening eccentric muscle recovery. Eccentric muscle actions produce greater torque and require less energy compared to concentric and isometric muscle actions because they also include passive tension from the elastic properties of the muscle, not just active tension from cross-bridge cycling [28,35]. Increases in muscle-tendon stiffness resulting from cold exposure have been well documented [18,29,34]. Garcia-Manso et al. [18] evaluated the vastus lateralis in 12 professional soccer players who were exposed to 4 cold-water immersion sessions at 4°C lasting 4 min each. They observed a decrease in vastus lateralis muscle deformation from the control condition ($5.12 \pm 2.27\text{ mm}$) to the 3rd ($3.64 \pm 2.27\text{ mm}$) and 4th immersions ($3.38 \pm 1.34\text{ mm}$). The authors concluded that muscle stiffness increased after cold exposure. In addition, it was demonstrated in a systematic review that cold exposure could increase both elastic and viscous tissue stiffness [7]. The mechanisms underlying the effects of cold on muscle-tendon stiffness may be related to an increase in viscoelastic properties of the muscle [18,30,34] and titin protein stiffness during eccentric actions [22]. Price and Lehmann [34] found an increase in passive resistance of muscle caused by a decrease in muscle viscosity in response to cooling. According to Herzog et al. [22], there is an increase in stiffness of the titin protein during eccentric actions. Although muscle temperature was not measured, skin thigh temperature in the present study dropped $11.9 \pm 1.3^\circ\text{C}$ immediately after and $3.7 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 12 min after PBC compared to the basal level. Thus, the improvement in eccentric muscle performance observed may be due to increases in muscle-tendon stiffness associated with PBC (-110°C). However, future studies are needed to elucidate the mechanisms involved in eccentric and concentric muscle actions after cryotherapy. A major limitation of the present study was that quadriceps muscle temperature and metabolic products from muscle contractions were not measured.

In summary, a single dose of PBC (3 min at -110°C) enhanced recovery of eccentric muscle performance between 2 resistance training sessions in young men. However, PBC did not affect concentric muscle recovery. From a practical standpoint, PBC might be applied in those athletes who compete or train more than once in the same day in order to improve eccentric muscle recovery and performance. However, further studies on this topic are necessary in order to arrive at more precise conclusions and an improved understanding of the effects of PBC on muscle recovery between successive workouts or competitions.

Conflicts of interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Affiliations

- ¹ Department of Education, Federal Institute of Triângulo Mineiro, Paracatu, Brazil
- ² College of Physical Education, University of Brasília, Brasília, Brazil
- ³ Sport Center, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, Brazil
- ⁴ Department of Physical Education, Catholic University of Brasília, Distrito Federal, Brazil
- ⁵ Department of Kinesiology, California State University Fullerton, Fullerton, United States

References

- 1 Balzom PD, Gaitanos GC, Soderlund K, Ekblom B. High-intensity exercise and muscle glycogen availability in humans. *Acta Physiol Scand* 1999; 165: 337-345
- 2 Ranfi G, Lombardi G, Colombini A, Melegati C. Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports Med* 2010; 40: 509-517
- 3 Ranfi G, Melegati C, Barazzi A, Dogliotti C, d'Eril CM, Dugue B, Corzi MM. Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes. *J Therm Biol* 2009; 34: 55-59
- 4 Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes – Does it help? *Sports Med* 2006; 36: 781-796
- 5 Bergh U, Ekblom B. Influence of Muscle Temperature on Maximal Muscle Strength and Power Output in Human Skeletal-Muscles. *Acta Physiol Scand* 1979; 107: 33-37
- 6 Rishop PA, Jones E, Woods AK. Recovery from training: a brief review. *J Strength Cond Res* 2008; 22: 1015-1024
- 7 Bleakley CM, Costello JT. Do thermal agents affect range of movement and mechanical properties in soft tissues? A systematic review. *Arch Phys Med Rehab* 2013; 94: 149-163
- 8 Bleakley CM, Costello JT, Glasgow PD. Should athletes return to sport after applying ice? A systematic review of the effect of local cooling on functional performance. *Sports Med* 2012; 42: 69-87
- 9 Bottaro M, Ernesto C, Celes R, Farinatti PTV, Brown LE, Oliveira RJ. Effects of age and rest interval on strength recovery. *Int J Sports Med* 2010; 31: 22-25
- 10 Cairns SP. Lactic acid and exercise performance: culprit or friend? *Sports Med* 2006; 36: 279-291
- 11 Casey A, Constantin-Teodorescu D, Howell S, Hultman E, Greenhaff PL. Metabolic response of type I and II muscle fibers during repeated bouts of maximal exercise in humans. *Am J Physiol* 1996; 271: 38-43
- 12 Comeau MJ, Potteiger JA, Brown LE. Effects of environmental cooling on force production in the quadriceps and hamstrings. *J Strength Cond Res* 2003; 17: 279-284
- 13 Costello JT, Algar LA, Donnelly AE. Effects of whole-body cryotherapy (-110°C) on proprioception and indices of muscle damage. *Scand J Med Sci Sports* 2012; 22: 190-198
- 14 Costello JT, Culligan K, Selfe J, Donnelly AE. Muscle, skin and core temperature after -110°C cold air and 8°C water treatment. *PLoS One* 2012; 7: e48190
- 15 Drinkwater E. Effects of peripheral cooling on characteristics of local muscle. *Med Sport Sci* 2008; 53: 74-88
- 16 Dutka TL, Lamb GD. Effect of low cytoplasmic [ATP] on excitation-contraction coupling in fast-twitch muscle fibres of the rat. *J Physiol* 2004; 560: 451-468
- 17 Fonda B, Sarabon N. Effects of whole-body cryotherapy on recovery after hamstring damaging exercise: a crossover study. *Scand J Med Sci Sports* 2013; 23: 270-278

- 18 Garcia-Manzo JM, Rodriguez-Matoso D, Rodriguez-Ruiz D, Sarmiento S, de Saa Y, Calderon J. Effect of cold-water immersion on skeletal muscle contractile properties in soccer players. *Am J Phys Med Rehabil* 2011; 90: 356-363
- 19 Harriss DJ, Atkinson G. Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2014 Update. *Int J Sports Med* 2013; 34: 1025-1028
- 20 Hausswirth C, Louis J, Bieuzen F, Pournot H, Fournier J, Filliard JR, Brisswalter J. Effects of whole-body cryotherapy vs. far-infrared vs. passive modalities on recovery from exercise-induced muscle damage in highly-trained runners. *PLoS One* 2011; 6: e27749
- 21 Hausswirth C, Schaal K, Le Meur Y, Bieuzen F, Filliard JR, Volondar M, Louis J. Parasympathetic activity and blood catecholamine responses following a single partial-body cryostimulation and a whole-body cryostimulation. *PLoS One* 2013; 8: e72658
- 22 Herzog W, Leonard TR, Joumaa V, Mehta A. Mysteries of muscle contraction. *J Appl Biomech* 2008; 24: 1-13
- 23 Klimek AT, Lubkowska A, Szygula Z, Fraczek B, Chudecka M. The influence of single whole body cryostimulation treatment on the dynamics and the level of maximal anaerobic power. *Int J Occup Med Env* 2011; 24: 184-191
- 24 Kziazkowska-Pietrzak K. Cryotherapy in the treatment of rheumatic disease. *Ortop Traumatol Rehabil* 2000; 2: 66-69
- 25 Mattacola CC, Perrin DH. Effects of cold water application on isokinetic strength of the plantar flexors. *Isokinet Exerc Sci* 1993; 3: 152-154
- 26 Metzger D, Zwingmann C, Protz W, Jackel WH. Whole-body cryotherapy in rehabilitation of patients with rheumatoid diseases – pilot study. *Rehabilitation (Stuttg)* 2000; 39: 93-100
- 27 Moopanar TR, Allen DC. Reactive oxygen species reduce myofibrillar Ca²⁺ sensitivity in fatiguing mouse skeletal muscle at 37°C. *J Physiol* 2005; 564: 189-199
- 28 Morgan DL. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J* 1990; 57: 209-221
- 29 Muraoka T, Omuro K, Wakahara T, Muramatsu T, Kanehisa H, Fukunaga T, Kanazue K. Effects of muscle cooling on the stiffness of the human gastrocnemius muscle in vivo. *Cells Tissues Organs* 2008; 187: 152-160
- 30 Mutungi C, Ranatunga KW. Temperature-dependent changes in the viscoelasticity of intact resting mammalian (rat) fast- and slow-twitch muscle fibres. *J Physiol* 1998; 508: 253-265
- 31 Okazaki J, Rintamaki H, Rissanen S. Muscle performance and electromyogram activity of the lower leg muscles with different levels of cold exposure. *Eur J Appl Physiol* 1997; 75: 484-490
- 32 Poddzielska H, Strek K, Riaty D. *Whole Body Cryotherapy*. Wrocław: Kriotechnika Medyczna, 2006; 110
- 33 Pournot H, Bieuzen F, Louis J, Mounier R, Filliard JR, Barbiche E, Hausswirth C. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. *PLoS One* 2011; 6: e22748
- 34 Price R, Lehmann JF. Influence of muscle cooling on the viscoelastic response of the human ankle to sinusoidal displacements. *Arch Phys Med Rehabil* 1990; 71: 745-748
- 35 Proke U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol* 2001; 537: 333-345
- 36 Rymaszewska J, Tulczyński A, Zagrobelny Z, Kiejna A, Hadrys T. Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms – preliminary report. *Acta Neuropsychiatr* 2003; 15: 122-128
- 37 Sahlin K. Metabolic factors in fatigue. *Sports Med* 1992; 13: 99-107
- 38 Sahlin K. Muscle fatigue and lactic acid accumulation. *Acta Physiol Scand* 1986; 556: 83-91
- 39 Sahlin K, Tonkonogi M, Soderlund K. Energy supply and muscle fatigue in humans. *Acta Physiol Scand* 1998; 162: 261-266
- 40 Schaal K, Le Meur Y, Bieuzen F, Petit O, Hellard P, Toussaint JF, Hausswirth C. Effect of recovery mode on postexercise vagal reactivation in elite synchronized swimmers. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38: 126-133
- 41 St Clair Gibson A, Lambert ML, Noakes TD. Neural control of force output during maximal and submaximal exercise. *Sports Med* 2001; 31: 637-650
- 42 Thomas S, Reading J, Shephard RJ. Revision of the Physical-Activity Readiness Questionnaire (Par-Q). *Can J Sport Sci* 1992; 17: 338-345



Dear Mr Vieira,

I am pleased to inform you that your submission, "Does Whole-Body Cryotherapy Improve Vertical Jump Recovery Following A High-Intensity Exercise Bout?", has been accepted for publication in "Open Access Journal of Sports Medicine". The publication processing fee is now payable and an invoice is accessible here: http://www.dovepress.com/invoice.php?pa=edit&invoice_id=13154&l=PaGrnnAveH16u6QswHWYhH2436953

(If you require any amendments to your invoice please reply to this email.)

Your manuscript will be sent for copy editing and typesetting. After typesetting has been completed author proofs will be sent to you for correction as needed. We will then send your corrections to be incorporated into the author proofs by the typesetter. You have the option of seeing the corrected proofs again or approving your paper for publication immediately after the corrected proofs have been received.

You will be notified as soon as your paper is published, and a new article notification will be emailed to all opt-in users for the journal.

If you have any questions about your paper please contact us at any time, we welcome your feedback.

Yours sincerely

Jeanette Pearce

Dove Medical Press www.dovepress.com - open access to scientific and medical research

70263

DOES WHOLE-BODY CRYOTHERAPY IMPROVE VERTICAL JUMP RECOVERY FOLLOWING A HIGH-INTENSITY EXERCISE BOUT?

RUNNING HEAD: Whole-Body Cryotherapy and Vertical Jump Recovery

AMILTON VIEIRA¹; MARTIM BOTTARO¹; JOAO B. FERREIRA-JUNIOR, ^{1,4}; CARLOS VIEIRA¹; VITOR A. CLETO¹; EDUARDO L. CADORE, ²; HERBERT G. SIMÕES³; JAKE DO CARMO, ¹; LEE E. BROWN, ⁵.

1 - College of Physical Education, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil

2 - College of Physical Education, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

3 - College of Physical Education, Catholic University of Brasília, Brasília, DF, Brazil

4 - Federal Institute of Triângulo Mineiro, Paracatu, MG, Brazil

5 - Department of Kinesiology, California State University, Fullerton, Fullerton, CA, USA

Address for correspondence

Amilton Vieira, MsC

College of Physical Education

University of Brasília

QD 107 LT 2/4 Apt-102C

71919-700 Brasília, Brasil

Phone.: 55-61-82805500

Fax: 55-61-33072085

amilton_educacao@hotmail.com

DOES WHOLE-BODY CRYOTHERAPY IMPROVE VERTICAL JUMP RECOVERY FOLLOWING A HIGH-INTENSITY EXERCISE BOUT?

ABSTRACT

Whole-body cryotherapy (WBC) has been used as a recovery strategy following different sports activities. Thus, the aim of this study was to examine the effect of WBC on vertical jump recovery following a high-intensity exercise (HIE) bout. Twelve trained men (23.9 ± 5.9 years) were randomly exposed to two different conditions separated by 7 days: 1) WBC (3 min of WBC at $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ immediately after the HIE); 2) Control (CON, no WBC after the HIE). The HIE consisted of 6 sets of 10 repetitions of knee extensions at $60^{\circ} \cdot \text{s}^{-1}$ concentric and $180^{\circ} \cdot \text{s}^{-1}$ eccentric on an isokinetic dynamometer. The vertical jump test was used to evaluate the influence of HIE on lower extremity muscular performance. The vertical jump was performed on a force platform before HIE (T1) and 30 min after (T2) the WBC and CON conditions. As a result of HIE, jump height, muscle power, and maximal velocity (V_{max}) had significant decreases between T1 and T2, however no significance was found between the WBC and CON conditions. The results indicate that one session of WBC had no different effect on vertical jump following a HIE compared to a CON condition. WBC may not improve muscle function (dependent on stretch-shortening cycle) recovery in very short periods (i.e., 30 minutes) following HIE.

Keywords: Functional Performance, Muscular Recovery, Countermovement Jump.

INTRODUCTION

High-intensity exercise (HIE) performed during a training session or competition may temporarily impair human performance, this impairment may last minutes, hours or several days following the exercise bout.(104) Thus, several treatment strategies have been suggested to optimize muscle recovery.(13) Among the most common approaches used to restore muscle function are nonsteroidal anti-inflammatory drugs, massage techniques, stretching, exercise, compression garments, ultrasound, electrical current and cryotherapy.(13, 104) For decades cryotherapy has been used as a post-exercise recovery strategy(4, 105) and a recent meta-analysis concluded that cold water immersion is an efficient strategy to reduce delayed onset muscle soreness (DOMS) following different exercise bouts.(50)

Whole-body cryotherapy (WBC) was originally proposed for the treatment of rheumatic disorders in the 1970s.⁶ WBC consists of exposure to very cold air (-110 to 195°C) for 2-4 minutes.⁷ The claims made on the benefit of WBC to human performance are based on positive effect on hematological profile⁸, antioxidant system⁹, improve lipid profile (LDL decrease and HDL increase)¹⁰, and an increased body's immunity⁹. These beneficial responses have reasoned the use of WBC as a recovery strategy following different sports activities⁷.

Despite an increased number of researches on the effects of WBC on human body a few amount of studies has investigated the effectiveness of WBC on muscle performance recovery¹¹⁻¹³. Among these studies, Hausswirth et al¹³ compared WBC to passive recovery in hastening muscular recovery within the 48 hours after a running protocol designed to induce muscle damage. Results of this study, suggested greater muscle strength after the WBC session (post 1 h) compared to passive recovery. On the other hand, Costello et al¹⁴ showed that WBC is ineffective in alleviating muscle soreness or enhancing muscle strength recovery following exercise when WBC treatment was performed 24 hours after an eccentric muscle damage exercise protocol. Thus, remain controversial the results regarding the potential effect of WBC on muscle recovery after HIE.

Therefore, the purpose of this study was to compare the effect of WBC on jump performance recovery following a HIE session. Our hypothesis was that WBC exposure may improve muscle performance after exercise.

METHODS

Subjects

Sample size was determined a priori using G*Power (version 3.1.6; University of Trier, Trier, Germany) with the level of significance set at 0.05 and power 0.80. A pilot study was conducted with four subjects to find the magnitude of the difference between means of the CON and WBC

condition. An effect size of 0.49 and 0.61 for power output and jump height were found, respectively. Based on these calculations twelve resistance trained males (age 23.9 ± 5.9 years, body mass 92.5 ± 10.4 kg, height 180.5 ± 5.8 cm and body mass index (BMI) 28.4 ± 2.8 kg.cm⁻²) were recruited to participated of this study. To ensure comparable responses to WBC exposure, subjects with similar features, like training history and BMI were recruited.¹⁵ Subjects who had practiced noncompetitive resistance exercise for the purpose of muscle hypertrophy for at least 1 year, with no interruptions longer than 20 consecutive days and for at least 2 years before the study were recruited. Their training routine included 4 to 6 split-training sessions per week, performing 6 to 8 sets per muscle group, and 6 to 12 maximum repetitions per set with 60 to 120 seconds of rest interval between sets. They were informed of the purpose, procedures, possible discomforts, risks and benefits of the study prior to signing the written informed consent form. Subjects were considered healthy and fit for physical exercise by answering the Physical Activity Readiness Questionnaire (PAR-Q).¹⁶ Also, based on Ferreira-Junior et al¹⁷ the following exclusion criteria were adopted: untreated arterial hypertension, cardiovascular or respiratory diseases, angina, peripheral artery occlusive disease, venous thrombosis, urinary tract diseases, severe anemia, allergy to cold, tumor diseases, viral and bacterial infections, Raynaud's syndrome, claustrophobia or convulsions. During testing schedule, the subjects were instructed to maintain their normal hydration and their normal diet practices. This study was approved by the local Institutional Research Ethics Committee (Protocol: 71484/2012) and has been performed in accordance with the ethical standards.

Experimental Design

This study was a randomized controlled crossover design. The subjects were assigned, using a random numbers generator (randomization.com), to start with either the WBC or CON. Seven days later the subject repeated the other treatment. Firstly, subject's visited the testing laboratory for anthropometric measurements and experiment procedure familiarization. Then, subject's performed the first exercise session and seven days after the second session. Each exercise session consisted of muscle function testing involving a first vertical jump tests (T1), HIE followed by a rest period of 30 minutes, and then a second vertical jump test (T2) (Figure 1). The WBC exposure was administered immediately after HIE for 3 minutes and the volunteers were allowed to sit and drink water ad libitum during remaining 27 minutes between WBC and T2 in a room with temperature between 21°C and 25°C. For the CON session the subjects remain seated in the same room for 30 minutes before perform T2.

Vertical Jump Test

Two vertical jump tests (each vertical jump test comprises 3 jumps) were performed pre HIE (baseline) and 30 min post recovery from HIE, no warm-up or stretching exercise were allowed before jump test. The jumps were measured on an AMTI force plate (Advanced Mechanical Technology, Inc., Watertown, MA), sampling at 1000 Hz, and stored on a computer. Data were processed using a routine written in Matlab software (version R2008a7, The MathWorks Inc, Natick, MA).

For the vertical jump, the subjects placed their hands on their hips, performing three countermovement jumps as high as possible. A self-determined range of motion was permitted and the rest period between each jump was one minute.¹⁸ Data obtained during vertical jumps were captured from manufactured software (AMTI acquisition software, version 4.2). Ground reaction force was calculated from math models described by (106) After this, curves of acceleration, velocity, and displacement were extrapolated. The velocity curve was obtained by dividing the resultant ground reaction force by the body mass of the subjects which produced the acceleration curve. The displacement was obtained by numerically integrating the velocity signal. Finally, the displacement curve was integrated to obtain the displacement of center of mass at each instant of movement; the greatest vertical displacement was considered jump height. Power was obtained as the product of ground reaction force and velocity and maximal velocity (V_{max}) was identified as the greatest value in the velocity curve.

High intensity exercise (HIE) protocol

After baseline jump performance, subjects completed a reciprocal exercise bout consisting of 60 maximal concentric and eccentric actions of the right knee extensors. The knee extension exercise consisted of 6 sets of 10 repetitions with two minutes rest between sets. The velocity was set at $60^{\circ} \cdot s^{-1}$ for concentric and at $180 \cdot s^{-1}$ for eccentric actions. Each concentric action was followed by an eccentric contraction to knee extensors muscles. A range of motion of 80° flexion-extension (excursion between 10° and 90° relative to a 0° at full knee extension) was used. All exercise was performed on a Biodex System 3 Isokinetic Dynamometer (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY, USA). The calibration and positioning procedures followed manufacturer's recommendations. Subjects sat in the chair in a manner that allowed the rotational axis of the dynamometer to remain aligned with the lateral epicondyle of the femur during exercise sessions. The lever arm was adjusted and fixed 5 cm above the calcaneus. The chair and dynamometer adjustments for each subject were recorded to ensure that the position remained constant throughout the testing period. Verbal encouragement and visual feedback through the dynamometer computer monitor were provided to encourage subjects to reach their maximum exertion level.²⁰

Recovery modalities

For the WBC condition, subjects stood in a head out cryo-cabin based on gaseous nitrogen (Kryos Tecnologia, Brasília, Brazil) at $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 3 min. In order to protect body extremities, subjects wore bathing suits, gloves, socks and shoes with thermic protection. They were instructed to move around the cryo-cabin and to flex and extend their elbows and fingers throughout the 3 min. For the CON condition, subjects followed the same procedures as the WBC condition however the chambers temperature was $21\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Skin temperature measurement

Skin temperature was measured immediately before (pre-cooling) and after (post-cooling) the application of WBC. The temperature was measured on the anterior midline of the thigh, midway between the proximal border of the patella and the inguinal crease. The infrared thermometer (Fluke, 566, China) was perpendicularly positioned and kept as close as possible to the skin without touching.

Statistical analyses

Descriptive statistics (mean and standard deviation) were used to report jump height, power and maximal velocity data. The Shapiro-Wilks test showed that all data were normally distributed. Two-way repeated measures ANOVAs [condition (WBC and CON) x time (T1 and T2)] were used to analyze each variable. In the case of significant difference, a Tukey' Post Hoc was performed. SigmaPlot version 11 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA) was used for statistical analysis with an alpha level set at 0.05. Complementarily, the effect size (ES) calculation was used to examine the magnitude of the treatment effect. Cohen's ranges of 0.2, 0.5, and 0.8 were used to define small, medium, and large d values obtained from differences between pretest and posttest scores divided by the pooled standard deviation.²¹

RESULTS

There was no significant difference in initial skin temperature of $33.5 \pm 0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ among participants in the experimental groups ($p > 0.05$). WBC exposures caused a decrease in skin temperature after 3 min of application ($p < 0.001$), after the WBC exposures the skin temperature was $18.3 \pm 7.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, while in the control group no significant change was observed ($p > 0.05$).

The effect of HIE on vertical jump parameters (height, power, and Vmax) are presented in Figure 2. Jump height decreased significantly ($p < 0.05$) after the two conditions, 6.7%, ES=0.41 and 10.1%, ES=0.47 for CON and WBC, respectively. However, no main effect for condition was found ($p = 0.13$). Power also decreased after both conditions ($p < 0.05$), 7.4%,

ES=0.40 and 9.7%, ES=0.44 for CON and WBC, respectively. No main effect for condition ($p = 0.16$). Vmax decreased after both conditions ($p < 0.05$), 2.8%, ES=0.34 and 6.6%, ES=0.49 for CON and WBC, respectively. No main effect for condition ($p = 0.37$).

DISCUSSION

The main findings of the present study were that WBC had no effect on vertical jump (height, muscle power and Vmax) recovery 30 minutes after an intense training session composed of concentric and eccentric actions when compared with a control condition. These results are in opposition to our hypothesis that WBC would improve muscle recovery. Our findings are relevant because short term recovery is very important in sports activities that require at least two maximal performances with short rest intervals (i.e., judo competitions, fast triathlons, half time between basketball, soccer, and American football games). Therefore, the potential benefits of recovery strategies such as WBC need to be further explored, and to the best of the authors' knowledge, this is the first study to investigate the potential short-term benefits of WBC on stretch-shortening exercise performance following a HIE. Studies by Hausswirth et al¹³ and Fonda & Sarabon¹² demonstrated that WBC accelerates recovery from exercise-induced muscle damage (EIMD) to a greater extent than passive recovery. Fonda & Sarabon¹² examined the effects of WBC on muscle performance parameters during a five day recovery period. WBC was applied everyday (immediately, 24, 48, 72 and 96 h) during the recovery period and the exposures lasted 3-min at very low temperatures (-140 to -195 °C). Functional performance was evaluated by squat jump, counter movement jump, maximal isometric torque production, and rate of torque development (RTD). A significant improvement was observed in RTD recovery after the WBC condition. Hausswirth et al¹³ reported that three sessions of WBC performed within the 48 h after a damaging running exercise bout accelerated recovery. These authors used a counter-balanced design to evaluate nine runners that performed 48-min of running on a treadmill, designed to induce muscle damage. Markers of muscle damage (knee extensor strength, plasma creatine kinase and perceived sensations [i.e. pain, tiredness, well-being]) were recorded before, immediately after (post), post 1 h, post 24 h, and post 48 h after exercise. WBC enhanced muscle strength 1 h after exercise, whereas the same was not observed in the control condition. In addition, WBC also improved perceived sensations compared to the control condition. Moreover, no difference in plasma CK activity was observed between conditions.

In contrast, our results demonstrated that WBC performed immediately after high-intensity concentric-eccentric exercise had no effect on jump performance recovery. Costello et al¹⁴

showed that WBC is ineffective in alleviating muscle soreness or enhancing muscle force recovery. They observed that, after 100 eccentric knee extensions at a velocity of 90°/s, WBC did not improve knee strength, power output, or muscle soreness at any time point when WBC was administered 24 h after the eccentric exercise. These contradictory results are probably due to differences in cooling application time (i.e. immediate application or 24 h after exercise) and different exercise type, duration and intensity of the protocol used to induce muscle damage. Previous study suggested that WBC exposure at -110°C decreases muscle temperature for at least 60 minutes after exposure.^{14,22} This decrease promotes physiological responses such as decreased cell metabolism, post-traumatic capillary dysfunction, and enzymatic activity.^(105, 107) Collectively, these responses may preserve muscle fiber function and reduce exercise-induced muscle damage (EIMD) symptoms.²³ On the other hand, cold application may transiently impair muscular performance. This transitory impairment may last some minutes to one hour following the cold application.^{24,25}^(108, 109) Thus, our results may be explained, at least in part, due the time to subsequent test was performed (30-min after WBC application). A possible benefit of WBC treatment could be masked by deleterious effect of cold on muscular performance.

Studies investigating cooling effects using other cold modalities (ice or water immersion) also present contradictory results in force generation.^{26,27}^(110, 111) Hopkins & Stencil²⁶ investigated the effects of ice application on the ankle joint. H-reflex and concentric torque were measured pre, immediately post and 30, 60, and 90 minutes following the ice application. They found increased H-reflex and plantar flexion torque at all time points following ice application. In contrast, Dewhurst et al²⁷ verified a decrease in isokinetic torque immediately after muscular cooling in a wide range of velocities (30 to 240°/s). Recently, Vieira et al²⁴ verified that cooling affects isometric and isokinetic torque production differently. They found an improvement in isometric torque, but a decrease in concentric isokinetic torque. Taken together, these results suggest that force development after muscular cooling is dependent on the cooled area (joint or muscle) and the muscle action performed (static or dynamic), all of which may influence the results.

The present results suggest that WBC is ineffective to accelerate jump performance recovery 30 minutes after an intense training session composed of concentric and eccentric actions. However, caution should be taken when interpreting the present results because WBC was applied immediately after exercise and then the subsequent activity was performed 30 minutes after the exercise bout. Also, one possible limitation of the study was that we trained just the right leg and both legs were used for the jump test.

In this view, if exercise is performed soon after cold application may decrease exercise performance, particularly in high-intensity and explosive exercises.²⁸ It should be recommended that subject allow sufficient time for rewarm tissue temperature. In this case, a warm-up before exercise performance could be useful. Also, we can only suggest that WBC is ineffective in similar conditions, and one cannot exclude the possibility that WBC generates positive effects when used for pain alleviation or administered several times in the subsequent days following HIE to treat symptom of muscle damage.

CONCLUSION

WBC had no effect on jump height, muscle power output or Vmax recovery following a high-intensity concentric-eccentric exercise bout when compared with a control condition. From a practical standpoint, WBC does not improve muscle function recovery in very short periods (i.e., 30 minutes) following high-intensity concentric-eccentric exercise.

Acknowledgments

The authors would like to thank CAPES-Brazil and CNPq-Brazil for their financial support.

REFERENCES

1. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med.* 2006;36(9):781-796.
2. Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* 2003;33(2):145-164.
3. Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Melegati G. Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports Med.* 2010;40(6):509-517.
4. Knight KL. *Cryotherapy in sport injury management.* Champaign, IL: Human Kinetics; 1995.
5. Leeder J, Gissane C, van Someren K, Gregson W, Howatson G. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. *Brit J Sport Med.* 2012;46(4):233-240.
6. Yamauchi T, Kim S, Nogami S, et al. Extreme cold treatment (-150°C) on the whole body in rheumatoid arthritis [abstract]. *Rev Rhum.* 1981;48(suppl):P1054.
7. Selfe J, Alexander J, Costello JT, et al. The effect of three different (-135°C) whole body cryotherapy exposure durations on elite rugby league players. *PLoS One.* 2014;9(1): e86420.
8. Lombardi G, Lanteri P, Porcelli S, et al. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation. *PLoS One.* 2013;8(2): e55803.

9. Lubkowska A, Szygula Z, Klimek A, et al. Do sessions of cryostimulation have influence on white blood cell count, level of IL6 and total oxidative and antioxidative status in healthy men? *Eur J Appl Physiol.* 2010;109(1):67-72
10. Lubkowska A, Banfi G, Dolegowska B, et al. Changes in lipid profile in response to three different protocols of whole-body cryostimulation treatments. *Cryobiology.* 2010;61: 22-26.
11. Ziemann E, Olek A, Kujach S, Grzywacz T, et al. Five-day whole body cryostimulation, blood inflammatory markers and performance in high-ranking professional tennis players. *J Ath Train.* 2012;47(6):664-672.
12. Fonda B, Sarabon N. Effects of whole-body cryotherapy on recovery after hamstring damaging exercise: A crossover study. *Scand J Med Sci Sports.* 2013;23(5):270-278.
13. Hausswirth C, Louis J, Bieuzen F, et al. Effects of whole-body cryotherapy vs. far-infrared vs. passive modalities on recovery from exercise-induced muscle damage in highly-trained runners. *PloS one.* 2011;6(12):e27749.
8. Pournot H, Bieuzen F, Louis J, et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. *PloS one.* 2011;6(7):e22748.
14. Costello JT, Algar LA, Donnelly AE. Effects of whole-body cryotherapy (-110 degrees C) on proprioception and indices of muscle damage. *Scandinavian journal of medicine & science in sports.* 2012;22(2):190-198.
15. Cholewka A, Stanek A, Sieroń A, et al. Thermography study of skin response due to whole-body cryotherapy. *Skin Res Technol.* 2012;18(2):180-187.
16. Thomas S, Reading J, Shephard RJ. Revision of the Physical-Activity Readiness Questionnaire (Par-Q). *Can J Sport Sci.* 1992;17(4):338-345.
17. Ferreira-Junior JB, Vieira CA, Soares SRS, et al. Effects of a single whole body cryotherapy (- 110 °C) bout on neuromuscular performance of the elbow flexors during isokinetic exercise. *Int J Sports Med* 2014;35:1-5.
18. Markovic G, Dizdar D, Jukic I, Cardinale M. Reliability and factorial validity of squat and counter movement jump tests. *J Strength Cond Res.* 2004;18(3):551-555.
19. Linthorne NP. Analysis of standing vertical jumps using a force platform. *Am J Phys.* 2001;69(11):1198-1204.
20. Brown LE, Whitehurst M, Bryant JR, et al. Reliability of the Biodex System 2 Isokinetic Dynamometer Concentric Mode. *Isokinetics and Exercise Science.* 1993;3(3):160-163.
21. Beck TW. The importance of a priori sample size estimation in strength and conditioning research. *J Strength Cond Res.* 2013;27(8):2323-2337.

22. Costello JT, Culliga K, Selfe J, et al. Muscle, skin and core temperature after -110°C cold air and 8°C water treatment. *PLoS One*. 2012;7(11):e48190.
23. Guilhem G, Hug F, Couturier A, et al. Effects of air-pulsed cryotherapy on neuromuscular recovery subsequent to exercise-induced muscle damage. *Am J Sports Med*. 2013;41(8):1942-1951.
24. Vieira A, Oliveira AB, Costa JR, et al. Cold modalities with different thermodynamic properties have similar effects on muscular performance and activation. *Int J Sports Med*. 2013;34(10):873-880.
25. Crowe MJ, O'Connor D, Rudd D. Cold water recovery reduces anaerobic performance. *Int J Sports Med*. 2007;28(12):994-998.
26. Hopkins JT, Stencil R. Ankle cryotherapy facilitates soleus function. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2002;32(12):622-627.
27. Dewhurst S, Macaluso A, Gizzi L, et al. Effects of altered muscle temperature on neuromuscular properties in young and older women. *Eur J Appl Physiol*. 2010;108(3):451-458.
28. Versey NG, Halson SL, Dawson BT. Water immersion recovery for athletes: effect on exercise performance and practical recommendations. *Sports Med*. 2013;43(11):1101-1130.

FIGURES LEGENDS

Figure 1. Design Experimental. T1: Pre-exercise vertical jump test; T2: Post-exercise vertical jump test; HIE: High-intensity exercise; CON: Control condition; WBC: 3-min of Whole-body cryotherapy treatment at -110°C

Figure 2. Vertical jump parameters before HIE and after whole-body cryotherapy and control conditions. A: Jump height; B: Muscle power; C: Maximal Velocity (V_{max}). * lower than pre value ($p < 0.05$).

Figure 1

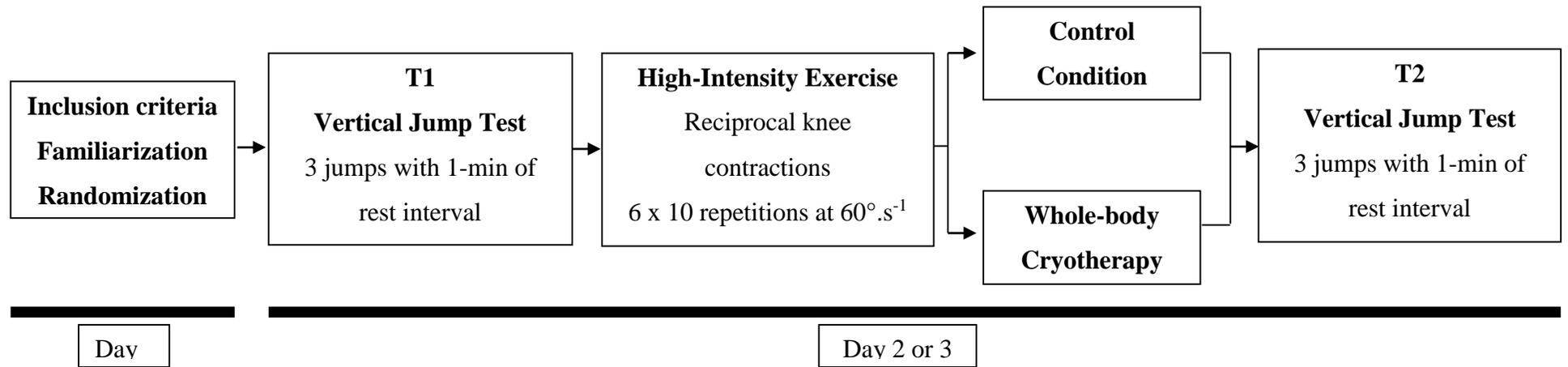


Figure 2

