



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

SILAS SEOLIN DIAS

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS
ASSOCIADOS AO DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO
EXERCÍCIO**

Londrina
2021

SILAS SEOLIN DIAS

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS
ASSOCIADOS AO DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO
EXERCÍCIO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física da Universidade Estadual de Londrina – UEL e Universidade Estadual de Maringá - UEM, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientadora: Profa. Dra. Solange de Paula Ramos

Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Inocente Jussiani

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Dias, Silas.

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS ASSOCIADOS AO DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO / Silas Dias. - Londrina, 2021.
54 f.

Orientador: SOLANGE DE PAULA RAMOS.

Coorientador: EDUARDO INOCENTE JUSSIANI.

Dissertação (Mestrado em Educação Física) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Educação Física e Esportes, Programa de Pós-Graduação em Educação Física, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Exercício - Tese. 2. Elementos traço - Tese. 3. Eletrólitos - Tese. 4. Creatino quinase - Tese. I. DE PAULA RAMOS, SOLANGE. II. INOCENTE JUSSIANI, EDUARDO. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Educação Física e Esportes. Programa de Pós-Graduação em Educação Física. IV. Título.

CDU 796

SILAS SEOLIN DIAS

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS
ASSOCIADOS AO DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO
EXERCÍCIO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física da Universidade Estadual de Londrina – UEL e Universidade Estadual de Maringá - UEM, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Victor Hugo de Freitas
Universidade Federal da Bahia - UFBA

Prof. Dra. Solange Marta Franzói de Moraes
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Londrina, 22 de janeiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por guiar meus caminhos e colocar diante de mim pessoas maravilhosas que me fazem crescer, e também agradecer por todas conquistas até o momento.

À orientadora Professora Doutora Solange de Paula Ramos por aceitar-me como orientando, colaborar com meu crescimento, pelos seus ensinamentos, por mostrar a importância e detalhes de como realizar um bom estudo. E, por incentivar e contribuir na minha formação.

Gostaria de agradecer ao meu Co-orientador Professor Doutor Eduardo Inocente Jussiani pelas orientações, dedicação, comprometimento profissional e incentivo para realização deste estudo.

À minha amada esposa Laís Regina Duarte Borges Seolin, que me acalmou em momentos de tensão, me incentivou e incentiva a ir em frente, que compartilha de cada momento ao meu lado tornando-o mais belo e prazeroso vivenciar.

Aos meus pais, Leonice Seolin Dias e Maurício Dias Marques, que são exemplos na vida acadêmica, que mostraram e mostram a importância dos estudos e aperfeiçoamento dos mesmos. Também pela força e incentivo na busca pelo conhecimento e crescimento.

A todos do grupo GERART que me acolheram e estiveram ao meu lado incentivando, torcendo, orientando e ajudando para meu crescimento profissional e pessoal. Em especial gostaria de agradecer ao meu parceiro de mestrado Martim Gomes Weber, um amigo que ganhei nesse período, o qual esteve ao meu lado apoiando e torcendo para meu crescimento.

Agradeço à banca examinadora composta pelo Professor Doutor Victor Hugo de Freitas e Professora Doutora Solange Marta Franzói de Moraes, que contribuíram com orientações, sugestões para este trabalho e para meu crescimento.

Ao meu amigo Professor Dr. Eduardo Vignoto Fernandes, que esteve ao meu lado, desde que me formei na graduação e me incentivou, aconselhou, orientou e contribuiu na minha vida pessoal e acadêmica.

Agradeço a todos os amigos e familiares que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação, ajudaram-me e ajudam na minha caminhada.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e acadêmico ao programa de pós-graduação.

DIAS, Silas Seolin. **Concentração sérica de elementos químicos associados ao dano muscular induzido pelo exercício**. 2021. 52 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Introdução: o dano muscular induzido por exercício (DMIE) ocorre quando o sujeito realiza exercícios excêntricos ou de alta carga, que provocam lesões mecânicas e alterações metabólicas e inflamatórias. Os sinais clínicos do DMIE são a perda de função temporária, dor muscular de acometimento tardio (DOMS) e aumento dos níveis séricos de creatino quinase (CK), num período médio de 72 horas após a sessão de exercício, quando ocorre DMIE considerado de magnitude leve a moderada. No entanto, após o período de recuperação, o mesmo exercício não promove DMIE, sendo que todos os sinais e sintomas da lesão são atenuados. Este fenômeno é conhecido como efeito do exercício repetido (EER). Uma sessão de exercício físico induz a modulação dos níveis circulantes de elementos químicos, no entanto, não está estabelecido se estas alterações ocorrem quando há dano DMIE e se são modificadas quando ocorre EER. **Objetivo:** avaliar os níveis circulantes de elementos químicos de massa atômica 11 (Na) ao 45 (Rb), durante o período de recuperação após DMIE e uma segunda sessão do mesmo exercício, após 14 dias, para avaliar o EER. **Métodos:** 7 sujeitos fisicamente ativos ($26,5 \pm 4,0$ anos) foram submetidos a uma primeira sessão de saltos pliométricos tipo *drop jump* (5 séries de 20 saltos) para indução de DMIE e, uma segunda sessão, após 14 dias, para avaliação do EER. Coletas de sangue, salto vertical com contramovimento (CMJ) e agachamento (SJ) e DOMS foram realizados antes (Pré), após (Pós), em 24, 48 e 72 horas da sessão do exercício. A CK foi detectada por análise bioquímica e a concentração elementar por fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF). Diferenças em sintomas DMIE e na concentração sérica de elementos químicos foram estatisticamente analisadas com teste ANOVA de medidas repetidas com post hoc de Bonferroni (dados normais) ou teste de Friedman com post hoc de Dunn, considerando $p < 0,05$. O tamanho do efeito de Cohen foi utilizado para avaliar a modulação da concentração de íons entre momentos de coleta e entre sessões de exercício. **Resultados:** a primeira sessão de saltos induziu redução da altura do SJ Pós ($P < 0,05$), aumento da DOMS em 24h ($P < 0,01$) e 48 h ($P < 0,01$), e aumento de CK em 72 h ($P < 0,05$). Houve um tamanho de efeito (TE) grande a muito grande para a redução de zinco (Zn) em 24h (TE:-1,37) e 72 h (TE:-0,93). No EER foram observados efeitos de grande a muito grande para o aumento de fósforo (P) em 48 h (TE:0,92), cloro (Cl) em 24 h (TE:1,04), potássio (K) em 24 h (TE:0,91), 48 h (TE:1,10) e 72 h (TE:0,96), cálcio (Ca) em 72 h (TE:0,92) e ferro (Fe) em 24 h (TE:0,85). **Conclusões:** a adaptação ao EER promove alterações na concentração sérica de elementos químicos associados à fadiga (K, Ca, Cl), à resposta inflamatória e metabolismo da glicose (Zn).

Palavras-chave: exercício; elementos traço; eletrólitos; creatina quinase; TXRF.

DIAS, Silas Seolin. **Serum concentration of chemical elements associated with the damage muscle induced for exercise**. 2021. 52 f. Dissertation (Master in Physical Education) - State University of Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Introduction: The exercise-induced muscle damage (EIMD) occurs when the subject performs eccentric or high-load exercises, leading to mechanical injuries and metabolic stress, and inflammatory reactions. The clinical signs of EIMD are temporary loss of muscle function, delayed-onset muscle soreness (DOMS), and increased serum levels of creatine kinase (CK), up to 72 hours after the exercise session, in low to moderate signs and symptoms of EIMD. However, after the recovery period, the same exercise does not promote EIMD, and all signs and symptoms are mitigated. This phenomenon is known as repeated-boot effect (RBE). A session of physical exercise induces the modulation of the circulating level of chemical elements, however, it is not established whether these changes occur when there is EIMD damage and if they are modified when RBE occurs. **Objective:** To evaluate the circulating levels of chemical elements with atomic mass ranging from 11 (Na) to 45 (Rb), during the recovery period after EIMD and a second session of the same exercise, after 14 days, to evaluate the BE. **Methods:** 7 physically active subjects (26.5 ± 4.0 years) underwent the first session of plyometric drop jumps (5 series of 20 jumps) to induce EIMD and the second session after 14 days, for RBE evaluation. Blood sampling, vertical jump with countermovement (CMJ) and squats (SJ), and DOMS were performed before (Pre), after (Post), in 24, 48, and 72 hours of the exercise session. The CK was detected by biochemical analysis and the elemental concentration was determined by total reflection X-ray fluorescence (TXRF). The EIMD symptoms and the serum concentration of chemical elements were statistically analyzed with ANOVA test of repeated measures with post hoc of Bonferroni (normal data) or Friedman test with post hoc of Dunn, considering $p < 0.05$. The Cohen's effect size was calculated to verify the magnitude of effect changes of chemical elements concentration between recovery times and between exercise sessions. **Results:** the first jumping session induced a reduction in SJ height Post ($P < 0.05$), an increase in DOMS in 24h ($P < 0.01$) and 48h ($P < 0.01$), and an increase in CK in 72h ($P < 0.05$). There was a large to very large effect size (ES) for the reduction of zinc (Zn) in 24h (ES: -1.37) and 72 h (ES: -0.93). Effects from large to very large were observed in the RBE to increased phosphorus (P) in 48 h (ES: 0.92), chlorine (Cl) in 24 h (ES: 1.04), potassium (K) in 24 h (ES: 0.91), 48 h (ES: 1.10) and 72 h (ES: 0.96), calcium (Ca) in 72 h (ES: 0.92) and iron (Fe) in 24 h (ES: 0.85). **Conclusions:** The RBE adaptation modulated the serum concentration of chemical elements associated with fatigue (K, Ca, Cl), and with the inflammatory response and glucose metabolism (Zn).

Key words: exercise; trace elements; electrolytes; creatine kinase; TXRF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Salto vertical com contra movimento (a), salto com agachamento (b), dor muscular (c) e creatina quinase (d). Média e desvio padrão.....	31
Figura 2	Concentração (média \pm DP) plasmática de macromelementos antes (Pré), imediatamente após e 24, 48 e 72 horas após protocolo de saltos pliométricos na primeira e segunda sessão do exercício	33
Figura 3	Concentração (média \pm DP) plasmática de macromelementos antes (Pré), imediatamente após e 24, 48 e 72 horas após protocolo de saltos pliométricos na primeira e segunda sessão do exercício	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência de elementos químicos detectada nas amostras de sangue em diferentes sessões de exercício e tempos de acompanhamento32
Tabela 2	Tamanho do efeito (intervalo de confiança de 95%) das alterações em concentrações de elementos químicos séricos em relação ao momento Pré e entre a primeira e segunda sessão de exercício pliométrico35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B	Boro
Br	Bromo
Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
CK	Creatino Quinase
Cl	Cloro
CMJ	Salto Vertical com Contramovimento
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMIE	Dano Muscular Induzido pelo Exercício
DOMS	Dor de Acometimento Tardio
EER	Efeito do Exercício Repetido
Fe	Ferro
K	Potássio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Na	Sódio
Ni	Níquel
P	Fósforo
Rb	Rubídio
S	Enxofre
Se	Selênio
SJ	Salto Vertical com Agachamento
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TXRF	Fluorescência de Raios X por Reflexão Total
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVO	21
4	METODOLOGIA	22
5	RESULTADOS	23
5.1	ARTIGO	23
5.2	RESUMO.....	24
5.3	INTRODUÇÃO	25
5.4	METODOLOGIA	26
5.5	RESULTADOS	29
5.6	DISCUSSÃO	36
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXOS	48
	ANEXO A – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos	49

1 INTRODUÇÃO

O dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) é um fenômeno que ocorre quando são realizados exercícios físicos em que o músculo não está adaptado, especialmente, com a prática de contrações excêntricas (DAMAS *et al.*, 2016; HOWATSON; VAN SOMEREN, 2008; OWENS *et al.*, 2019). O DMIE resulta em perda de função, dor de acometimento tardio (DOMS) e aumento dos níveis séricos de marcadores bioquímicos de dano muscular (CHEN *et al.*, 2016; DAMAS *et al.*, 2016). O aumento dos níveis séricos de marcadores bioquímicos ocorre porque o DMIE provoca danos estruturais nas fibras musculares e alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, resultando no extravasamento de moléculas intracelulares na circulação sanguínea (CARMONA *et al.*, 2015; CLARKSON; HUBAL, 2002; KANDA *et al.*, 2014; KOCH; PEREIRA; MACHADO, 2014).

Diversos marcadores bioquímicos circulatórios têm sido utilizados para o monitoramento do DMIE, incluindo a mioglobina, a lactato desidrogenase, a creatina quinase (CK), miosina, troponina, citocinas inflamatórias e marcadores de estresse oxidativo (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007; CARMONA *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020; CLARKSON; HUBAL, 2002; DAMAS *et al.*, 2016; KANDA *et al.*, 2014; KOCH; PEREIRA; MACHADO, 2014). No entanto, a presença destes marcadores não está diretamente correlacionada à magnitude de perda de função. Eles ocorrem em momentos tardios após a realização do exercício, apresentam alta variabilidade entre os indivíduos e também não predizem a susceptibilidade ao DMIE (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007; CHEN *et al.*, 2020; CLARKSON; HUBAL, 2002; KANDA *et al.*, 2014; KOCH; PEREIRA; MACHADO, 2014).

Outro sinal e sintoma importante do DMIE é a perda de função muscular, resultado da lesão mecânica e desequilíbrio da homeostase do Cálcio (Ca) intracelular (HOWATSON; VAN SOMEREN, 2008; OWENS *et al.*, 2019; PAULSEN *et al.*, 2012). A lesão mecânica provoca a desorganização das estruturas da fibra muscular (miofilamento, miofibrila, endomísio, perimísio e epimísio), afetando os túbulos T, linha Z, membrana celular e retículo sarcoplasmático (HOWATSON; VAN SOMEREN, 2008; HYLDAHL; CHEN; NOSAKA, 2017).

A lesão mecânica da fibra muscular promove influxo do Ca extracelular e elevação dos níveis intracelulares, o que desencadeia a ativação de enzimas catabólicas, como as calpaínas e fosfolipase, e aumento da formação de espécies reativas de oxigênio, provocando desorganização do citoesqueleto celular e acentuando a redução da capacidade contrátil. (RATTRAY *et al.*, 2013; SHERK *et al.*, 2017; TAKAGI *et al.*, 2018).

Durante o período de recuperação após o DMIE, é observado a desorganização dos sarcômeros próximos à região de linha Z e a infiltração de células inflamatórias no perimísio e epimísio (PAULSEN *et al.*, 2012). A inflamação no tecido muscular e conjuntivo provoca edema, que associado ao dano e reorganização da fibra muscular, limitam a amplitude do movimento (PAULSEN *et al.*, 2012). O DMIE também é acompanhado da produção de neurotrofinas, que apresentam um pico entre 12 a 48 horas, provocando os sintomas da hiperalgesia mecânica característicos da DOMS (MIZUMURA; TAGUCHI, 2016).

Após a recuperação do DMIE inicial, uma segunda sessão do mesmo exercício não apresenta os sinais e sintomas de DMIE ou os sintomas são atenuados, um fenômeno conhecido como efeito do exercício repetido (EER) (CLARKSON; HUBAL, 2002; CORATELLA; CHEMELLO; SCHENA, 2016; GOODALL *et al.*, 2017; HOWATSON; VAN SOMEREN; HORTOBAGYI, 2007; HYLDAHL; CHEN; NOSAKA, 2017). O EER parece estar associado às adaptações neurais no padrão de recrutamento das fibras musculares, alterações na composição da matriz extracelular do tecido conjuntivo associado ao músculo, à redução do recrutamento de fibras mais susceptíveis ao DMIE e adaptações da resposta imune inflamatória ao dano metabólico e mecânico inicial (CLARKSON; HUBAL, 2002; GOODALL *et al.*, 2017; HOWATSON; VAN SOMEREN; HORTOBAGYI, 2007; HYLDAHL; CHEN; NOSAKA, 2017). Como consequência, há menor perda de função, redução da dor muscular e redução dos níveis circulantes de marcadores de dano muscular, incluindo a CK, na segunda sessão do mesmo exercício (CHEN *et al.*, 2019). É possível que a alteração no ambiente intramuscular promovida pelo EER, com redução das alterações estruturais e inflamatórias, possa reduzir o extravasamento de componentes celulares na corrente circulatória. O EER ocorre após a recuperação do DMIE, durante um período que deve durar cerca

de 7 a 14 dias para um dano inicial muito grave (PAULSEN *et al.*, 2012). O fenômeno pode conferir efeito protetor contra o DMIE que pode durar até 10 semanas (NOSAKA *et al.*, 1991).

Diversos elementos químicos circulantes podem potencialmente ser alterados em resposta ao exercício físico. A regulação dos níveis séricos de eletrólitos, minerais e elementos traço é necessária para manutenção da saúde e adaptação ao treinamento físico (JABLAN *et al.*, 2017; KARAKUKCU *et al.*, 2013; MALLIAROPOULOS *et al.*, 2013; MAYNAR *et al.*, 2018; MILIAS *et al.*, 2006; OTAG *et al.*, 2014; PADOIN *et al.*, 2020; SORIA; ANSON; ESCANERO, 2016; SPEICH; PINEAU; BALLEREAU, 2001). Alterações em diversos elementos químicos circulantes têm sido associadas à realização de uma sessão de exercício físico em atletas, sujeitos fisicamente ativos e indivíduos sedentários. As alterações agudas provocadas pelo exercício físico sobre os níveis circulantes de elementos químicos envolvem os íons **Boro (B)** (PATLAR *et al.*, 2011), **Sódio (Na)** (CASUSO *et al.*, 2018; DOKER *et al.*, 2014; HEW-BUTLER; STUEMPFLE; HOFFMAN, 2013; PATLAR *et al.*, 2011; SCHWELLNUS *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2012), **Magnésio (Mg)** (DEUSTER; SINGH, 1993; DOKER *et al.*, 2014; KARAKUKCU *et al.*, 2013; MALLIAROPOULOS *et al.*, 2013; SCHWELLNUS *et al.*, 2004), **Fósforo (P)** (KARAKUKCU *et al.*, 2013; MALLIAROPOULOS *et al.*, 2013; PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011), **Enxofre (S)** (PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011), **Cloro (Cl)** (PADOIN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2012), **Potássio (K)** (CASUSO *et al.*, 2018; DEUSTER e SINGH, 1993; DOKER *et al.*, 2014; MCKENNA *et al.*, 1996; PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011; SCHWELLNUS *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2012), **Cálcio (Ca)** (BARRY *et al.*, 2011; DEUSTER; SINGH, 1993; DOKER *et al.*, 2014; KARAKUKCU *et al.*, 2013; KOHRT *et al.*, 2018; MCKENNA *et al.*, 1996; PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011; SCHWELLNUS *et al.*, 2004; THORSEN *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 2012), **Cromo (Cr)** (DOKER *et al.*, 2014; PATLAR *et al.*, 2011), **Manganês (Mn)** (PATLAR *et al.*, 2011), **Ferro (Fe)** (DOKER *et al.*, 2014; KARAKUKCU *et al.*, 2013; PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011; TAN, DAWSON; PEELING, 2012; WANG *et al.*, 2012), **Cobalto (Co)** (PATLAR *et al.*, 2011), **Níquel (Ni)** (PATLAR *et al.*, 2011) **Cobre (Cu)** (KARAKUKCU, *et al.*, 2013; PATLAR *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012), **Zinco (Zn)** (KARAKUKCU *et al.*, 2013; PADOIN *et al.*, 2020; PATLAR *et al.*, 2011;

WANG *et al.*, 2012), **Selênio (Se)** (WANG *et al.*, 2012) **Bromo (Br)** (PADOIN *et al.*, 2020), **Rubídio (Rb)** (PADOIN *et al.*, 2020) **Cádmio (Cd)** (PATLAR *et al.*, 2011). No entanto, a associação de alterações na concentração de elementos circulantes com o DMIE não foi identificada. Apenas o estudo de Milias e colaboradores (2006) determinou que baixos níveis de Se pré-exercício estavam correlacionados com maior aumento dos níveis séricos de CK e maior perda funcional na contração máxima isométrica, após uma sessão de exercícios excêntricos.

O uso da técnica da fluorescência de Raios X por reflexão total (TXRF) pode ser uma alternativa para o estudo de macromelementos (necessidade dietética diária > 100mg) e microelementos ou elementos traço (<100mg) circulantes, pois a técnica detecta simultaneamente múltiplos elementos químicos, utilizando pequena quantidade de amostra, sem necessidade de processamento da amostra, o que resulta em mais segurança ao operador e menos risco de erros operacionais (PADOIN *et al.*, 2020). O uso da técnica permite que sejam identificadas alterações nas concentrações séricas de elementos que variam, do peso molecular do alumínio (Z=13) ao ítrio (Z = 39), com o uso de um filtro para a linha K de valência dos átomos. Ou seja, permite a análise de vários elementos químicos que são modulados pelo exercício físico. Outros elementos, de maiores números de massa atômica (Z), podem ser determinados pelas linhas L ou M nos espectros de TXRF.

Embora já tenham sido estabelecidas alterações na concentração circulante de minerais e elementos traço em atletas com o uso da técnica TXRF, os autores não associaram as alterações nos elementos químicos com sinais e sintomas de DMIE (PADOIN *et al.*, 2020). Portanto, as alterações iônicas decorrentes do dano muscular ainda não foram estabelecidas. Também não está estabelecido se o EER resulta em modulação dos níveis circulantes de elementos químicos.

A seguir são descritas alterações em macro e microelementos circulantes já descritas na literatura que sugerem que o exercício físico agudo e o treinamento físico (adaptação muscular e EER) possam modular a concentração circulante de elementos químicos.

Fósforo

O P ($Z=15$) é um elemento químico presente na constituição de moléculas de sinalização, fosfatos de alta energia, na matriz de tecidos calcificados e no equilíbrio ácido-base dos líquidos corporais. O P circulante pode ser modulado por uma sessão aguda de exercício, embora as alterações provocadas pelo treinamento tenham sido observadas apenas quando há suplementação com Zn (KARAKUKCU, *et al.*, 2013). No entanto, em atletas de *endurance*, altos níveis de P circulante foram observados em 18% dos homens e 15% das mulheres, sendo que nos homens houve correlação com os níveis de CK circulante (MALLIAROPOULOS *et al.*, 2013). Considerando a presença de P em diversos componentes celulares, bem como na matriz óssea e conjuntiva, é possível que o dano aos tecidos possa provocar a liberação de P (JAKSE *et al.*, 2020). A possível associação do P com a CK e adaptação ao treinamento, observado por Malliaropoulos *et al.* (2013) sugerem que este elemento químico pode ter associação com o DMIE.

Enxofre

O S ($Z=16$) está presente em diversos aminoácidos, constituintes de elementos estruturais celulares, bem como em enzimas de ação antioxidante (PARCELL, 2002; SAWA *et al.*, 2020). A ligação do íon S, formando persulfetos e polissulfetos regula a função de diversas vias enzimáticas, antioxidantes, a regulação de cálcio intracelular e da função da cadeia respiratória mitocondrial (SAWA *et al.*, 2020). Tanto uma sessão aguda, quanto o treinamento crônico diminuem os níveis plasmáticos de aminoácidos contendo S em sujeitos diabéticos resistentes a insulina (LEE *et al.*, 2018). No entanto, uma sessão de treino simulando um jogo em atletas de futsal não provocou alterações nos níveis circulantes de S (PADOIN *et al.*, 2020). É possível que o extravasamento de componentes celulares e a ativação de sistemas enzimáticos anti e pró-oxidantes durante o exercício que causa DMIE promovam alterações nas concentrações séricas de S.

Cloro

O íon Cl ($Z = 17$) está presente em sistemas enzimáticos celulares e é utilizado por fagócitos, especialmente os neutrófilos, para produção de ácido hipocloroso durante as respostas imunes (WANG, 2016). Após o DMIE,

neutrófilos infiltram os tecidos musculares danificados e podem liberar ácido hipocloroso, alterando a concentração circulantes de proteínas cloradas (PEAKE *et al.*, 2017; WINTERBOURN; KETTLE, 2000).

Um estudo em atletas de futsal não demonstrou alterações nas concentrações plasmáticas de Cl após o exercício (PADOIN *et al.*, 2020). No entanto, uma sessão de treino intenso, com aumento significativo de CK, promoveu um aumento significativo de Cl imediatamente e duas horas após o exercício, em atletas de basquetebol (WANG *et al.*, 2012). Uma razão para este aumento circulante pode estar relacionada ao aumento de Cl extracelular no treinamento resistido, o que favorece a excitação das fibras musculares esqueléticas, durante o exercício (CAIRNS; LINDINGER, 2008; MCKELVIE *et al.*, 1989; MCKENNA; BANGSBO; RENAUD, 2008). Embora a associação do Cl com reações inflamatórias seja conhecida, não está estabelecido se existe alterações dos níveis circulantes deste elemento quando ocorre DMIE e durante o EER.

Potássio

O K (Z=19) também é um elemento químico associado à despolarização das membranas celulares em células excitáveis, e durante a contração muscular (MCKENNA *et al.*, 1996). Os níveis de K são modulados em resposta a um exercício agudo (CASUSO *et al.*, 2018) e às adaptações do treinamento físico (DOKER *et al.*, 2014) e ao tipo de modalidade esportiva (CASUSO *et al.*, 2018). Os níveis circulantes de K são mais elevados em atletas de elite, em relação aos amadores (natação) e sujeitos destreinados (DOKER *et al.*, 2014), sugerindo que as adaptações físicas sejam acompanhadas de alterações dos níveis de K circulante.

Durante o exercício, há uma redução dos níveis circulantes de K, possivelmente associada à recaptção pelo músculo em contração (MCKENNA *et al.*, 1996). No entanto, o treinamento físico, especialmente de *endurance*, promove uma menor alteração dos níveis séricos de K, sugerindo uma melhor homeostasia do K durante o exercício, especialmente da resistência à fadiga (MCKENNA *et al.*, 1996). Em sujeitos bem treinados, duas horas de corrida promovem o aumento dos níveis circulantes de K (DEUSTER; SINGH, 1993). Porém, *sprints* repetidos de corrida e de natação promoveram a redução

dos níveis séricos de K (CASUSO *et al.*, 2018). Neste último estudo, os atletas apresentaram menor resposta inflamatória e estresse metabólico no exercício de natação, bem como menores reduções de K circulante, sugerindo que as alterações podem estar associadas com o nível de lesão ou estresse fisiológico provocado pelo exercício (CASUSO *et al.*, 2018).

Cálcio

O Ca ($Z = 20$) é um elemento químico associado a excitabilidade nervosa e muscular, contração muscular e remodelamento tecidual. Alterações nos níveis circulantes de Ca foram descritas em resposta aguda ao exercício e em resposta ao treinamento físico (CHENG; PLACE; WESTERBLAD, 2018; KARAKUKCU *et al.*, 2013; KOHRT *et al.*, 2018). Uma sessão aguda de alta intensidade ou longa duração pode promover redução dos níveis séricos de Ca total durante o exercício, em sujeitos treinados e atletas (KARAKUKCU *et al.*, 2013; KOHRT *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2012). Os níveis de Ca podem permanecer reduzidos em até 5 horas após o exercício, em atletas bem treinados (KOHRT *et al.*, 2018). Por outro lado, não foram observadas alterações nos níveis séricos de Ca em esforços de jogos de futsal em atletas profissionais (PADOIN *et al.*, 2020). Em mulheres jovens sedentárias, níveis reduzidos de Ca circulante foram observados até três dias após a realização de uma corrida de média intensidade durante 45 minutos (THORSEN *et al.*, 1997). No entanto, outros autores não encontraram diferenças significativas nos níveis de Ca após uma ultramaratona de 56 km (SCHWELLNUS *et al.*, 2004). A suplementação de Ca, 30 minutos ou durante a realização de um *time-trial* de 35 km, não atenua o declínio de Ca pós-exercício, embora atenua o aumento de paratormônio associado à redução de Ca sérico, em atletas de ciclismo de estrada e triatletas (BARRY *et al.*, 2011; SHERK *et al.*, 2017).

Os níveis circulantes de Ca podem estar associados a adaptações ao treinamento físico. Atletas de elite de natação apresentam níveis mais altos de Ca circulante em relação aos atletas amadores e sujeitos destreinados (DOKER *et al.*, 2014). A suplementação com piruvato de cálcio, em mulheres adultas destreinadas, durante um período de 30 dias de treinamento resistido e de caminhada, não demonstrou efeitos sobre a melhora no desempenho físico, em relação ao grupo placebo (KOH-BANERJEE *et al.*, 2005). No entanto,

o exercício aeróbico por si só, aumentou os níveis circulantes Ca, após 12 semanas de treino, em mulheres idosas com ou sem perda óssea mineral (AL DAHAMSHEH *et al.*, 2019). O mesmo efeito foi observado em atletas de boxe, após 4 semanas de treino (KARAKUKCU, *et al.*, 2013). Parte das alterações do Ca induzido pelo treinamento físico pode estar associado à melhora da função da cadeia respiratória mitocondrial, diminuindo o aumento do conteúdo de Ca mitocondrial e a ativação de calpaínas (RATTRAY *et al.*, 2013).

No entanto, a relação entre as alterações nos níveis circulantes de Ca e o DMIE e EER ainda não está estabelecida.

Ferro

O Fe (Z=26) é um elemento essencial no metabolismo energético, participando do metabolismo da glicose e biodisponibilidade de oxigênio para os tecidos (HALON-GOLABEK *et al.*, 2019). O exercício físico afeta a expressão de hepcidina podendo diminuir o Fe circulante. A hepcidina é um regulador do equilíbrio do Fe, e quando inibida permite aumento do Fe circulante, melhorando o transporte de oxigênio e o metabolismo oxidativo muscular (BURATTI *et al.*, 2015; HINTON, 2014). A presença de Fe na mioglobina, um marcador de DMIE liberado precocemente após o exercício, além da hemólise provocada por exercícios de alto impacto, podem potencialmente alterar os níveis de Fe em líquidos corporais (GIANDOLINI *et al.*, 2016; LINDSAY *et al.*, 2015; LIPPI; SANCHIS-GOMAR, 2019). Alterações nos níveis de Fe podem ser observadas em resposta a uma sessão aguda de exercício. Uma sessão de treinamento de futebol provoca hemólise (TAN; DAWSON; PEELING, 2012), o que pode contribuir para o aumento dos níveis de Fe circulante. Níveis reduzidos de Fe foram observados em atletas de basquete submetidos a um período de intensificação de cargas de treino, comparado a um período subsequente de redução de cargas (OLECHNOWICZ *et al.*, 2018). Estes achados sugerem que possa existir associação entre o DMIE e os níveis circulantes de Fe.

Cobre

O Cu (Z= 29) é um elemento essencial associado com o transporte de O₂ para produção de energia por metabolismo aeróbico e com a produção de sistemas antioxidantes enzimáticos (KARDOS *et al.*, 2018). Uma sessão

aguda de treino de boxe promoveu a redução dos níveis séricos de Cu após o exercício (KARAKUKCU *et al.*, 2013). Porém, os níveis basais de Cu circulante aumentaram após 4 semanas de treino de boxe em atletas amadores (KARAKUKCU *et al.*, 2013). Por outro lado, uma sessão de treinamento intenso em atletas de basquete (WANG *et al.*, 2012) e futsal (PADOIN *et al.*, 2020) não provou alterações significativas nos níveis circulantes de Cu. A relação entre os níveis de Cu e o DMIE ou ERR ainda não está estabelecida.

Zinco

O elemento Zn (Z=30) é um dos elementos essenciais mais importantes devido a sua ampla atividade biológica, atuando sobre processos de crescimento e adaptação tecidual, respostas imunológicas, atividade anti-inflamatória e antioxidante (LIVINGSTONE, 2015). Efeitos agudos e crônicos nos níveis séricos de Zn são observadas em resposta ao exercício físico e adaptação ao treinamento (GONZALEZ-HARO; *et al.*, 2011; GRANELL, 2014; HERNANDEZ-CAMACHO *et al.*, 2020; SORIA *et al.*, 2016). Uma sessão aguda de treino de boxe promoveu a redução dos níveis séricos de Zn após o exercício (KARAKUKCU *et al.*, 2013). Porém, os níveis basais de Zn circulante aumentaram após 4 semanas de treino de boxe em atletas amadores (KARAKUKCU *et al.*, 2013). Por outro lado, não foram observados efeitos sobre as concentrações circulantes de Zn em atletas de basquete (WANG *et al.*, 2012) e futsal (PADOIN *et al.*, 2020) após uma sessão de treino de alta intensidade. Mas, em atletas de *endurance*, os níveis séricos de Zn aumentam durante o exercício e apresentam forte associação com os níveis de catecolaminas e cortisol (SORIA *et al.*, 2015). Os estudos sugerem que o Zn seja modulado pelo exercício físico, porém não está estabelecida uma associação com o DMIE e EER. Considerando o importante efeito do Zn no reparo tecidual e respostas inflamatórias, é possível que ocorra modulação dos níveis de Zn em resposta inicial ao DMIE e adaptação do EER.

Outros elementos essenciais

Outros microelementos encontrados nos tecidos que podem ter interesse clínico por estarem associados ao metabolismos de carboidratos, respostas antioxidantes e anti-inflamatórias e remodelamento ósseo incluem

o Cromo (Cr, Z = 24), Cobalto (Co, Z = 27), Bromo (Br, Z = 35), Rubídio (Rb, Z= 37), Manganês (Mn, Z = 25), Cromo (Cr, Z = 24), Selênio (Se, Z = 34) e Estrôncio (Sr, Z = 38) (Trace Elements and Metals, 2012; WANG *et al.*, 2020). No entanto, estes elementos foram pouco explorados no contexto do exercício físico, e não está estabelecida associação com treinamento, DMIE ou EER.

Considerando o importante papel de elementos químicos em processos antioxidantes e anti-inflamatórios, como o Mn, o Se e o Zn, além da presença de elementos químicos em algumas moléculas estruturais extravasadas das fibras musculares danificadas, a identificação das alterações na concentração de elementos químicos podem ajudar identificar carências e alterações associadas com o DMIE e compreender os mecanismos envolvidos na adaptação ao exercício repetido (HUANG; ROSE; HOFFMANN, 2012; LI; YANG, 2018; OLECHNOWICZ *et al.*, 2018; WINTER; BAZYDLO; HARRIS, 2014).

2 JUSTIFICATIVA

Alterações agudas e crônicas nos níveis séricos de elementos químicos têm sido reportadas, na literatura, em atletas e sujeitos destreinados. No entanto, ainda não está estabelecido se estas alterações ocorrem quando há dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) e também quando há proteção contra o DMIE, observadas no efeito do exercício repetido (EER). Identificar as possíveis alterações na concentração circulante de elementos químicos antes e após o DMIE pode contribuir para compreensão dos mecanismos associados ao dano e possíveis estratégias preventivas. Compreender quais as alterações nos níveis circulantes de elementos químicos quando o exercício não provoca dano, sendo isso observado no EER, também pode auxiliar na identificação de elementos chaves na prevenção do dano.

3 OBJETIVO

Descrever as alterações nas concentrações séricas de elementos químicos antes, imediatamente após, 24 horas, 48 horas e 72 horas após um exercício que causou DMIE e após a adaptação ao dano (EER).

4 MÉTODOS

Para atender o objetivo proposto foi realizado um estudo clínico intitulado **Alterações na concentração circulante de elementos químicos durante o dano muscular induzido pelo exercício e efeito do exercício repetido.**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (parecer n. 2.650.252) e os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes do início das coletas, informando-os sobre os procedimentos deste estudo.

5 RESULTADOS

Artigo científico formatado para a revista **Biological Trace Elements Research**

Alterações na concentração circulante de elementos químicos durante o dano muscular induzido pelo exercício e efeito do exercício repetido

DIAS, Silas Seolin. Mestrando em Educação Física. Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física UEL-UEM. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

WEBER, Martim Gomes. Mestrando em Educação Física. Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física UEL-UEM. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

PADOIN, Susana. Mestre em Educação Física. Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física UEL-UEM. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

ANDRELLO, Avacir Casanova. Departamento de Física. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

JUSSIANI, Eduardo Inocente. Departamento de Física. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

De PAULA RAMOS, Solange. Grupos de Estudo em Regeneração, Adaptação e Reparo Tecidual. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

Autor de Correspondência:

Solange de Paula Ramos

Centro de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Londrina.

Rodovia Celso Garcia Cid PR 445 Km 380

CEP: 86099-100 Londrina-PR, Brasil.

E-mail: ramossolange@uel.br

Resumo

Objetivo: avaliar os níveis circulantes de elementos químicos durante o período de recuperação após a realização de uma sessão de exercício com dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) e sem dano muscular (EER - efeito do exercício repetido). Métodos: 7 sujeitos fisicamente ativos ($26,5 \pm 4,0$ anos) foram submetidos a uma primeira sessão de saltos pliométricos *drop jump* (5 séries de 20 saltos) para indução e DMIE e, uma segunda sessão após 14 dias para avaliação do EER. Coletas de sangue, salto com contramovimento (CMJ) e agachamento (SJ) e dor de acometimento tardio (DOMS) foram realizados antes (Pré), após (Pós), em 24, 48 e 72 horas da sessão do exercício. A creatino quinase (CK) foi detectada por análise bioquímica e a concentração dos elementos químicos por fluorescência de Raios X por reflexão total (TXRF). Resultados: a primeira sessão de saltos induziu redução da altura de SJ Pós ($P < 0,05$), aumento da DOMS em 24h ($P < 0,01$) e 48 h ($P < 0,01$), e aumento de CK em 72 h ($P < 0,05$). Todos os sintomas de DMIE foram atenuadas na segunda sessão ($P > 0,05$). No DMIE, houve um tamanho de efeito de Cohen grande a muito grande para a redução de Zn em 24h (-1,37) e 72 h (-0,93) e Br (-0,83) em 72h. No EER foram observados efeitos de grande a muito grande para o aumento de P em 48 h (0,92), Cl em 24 h (1,04), K em 24 h (0,91), 48 h (1,10) e 72 h (0,96), Ca em 72 h (0,92) e Fe em 24 h (0,85). Conclusões: o EER promove alterações na concentração sérica de elementos químicos associados à fadiga (K, Ca, Cl), à resposta inflamatória e metabolismo da Glicose (Zn).

Palavras-chave: exercício, elementos traço, eletrólitos, creatino quinase, TXRF.

Introdução

O dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) é um fenômeno que ocorre quando são realizados exercícios aos quais o músculo não está adaptado, especialmente, com a prática de contrações excêntricas (DAMAS *et al.*, 2016; HOWATSON; VAN SOMEREN, 2008; OWENS *et al.*, 2019). O DMIE resulta em perda de função, dor de acometimento tardio (DOMS) e aumento dos níveis séricos de marcadores bioquímicos de dano muscular (DAMAS *et al.*, 2016; KANDA *et al.*, 2014). O DMIE provoca danos estruturais nas fibras musculares e alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, resultando no extravasamento de moléculas intracelulares na circulação sanguínea (CARMONA *et al.*, 2015; CLARKSON; HUBAL, 2002; KANDA *et al.*, 2014; KOCH; PEREIRA; MACHADO, 2014). Diversos marcadores bioquímicos circulatórios têm sido utilizados para o monitoramento do DMIE, incluindo a mioglobina, a lactato desidrogenase, a creatina quinase (CK), miosina, troponina, citocinas inflamatórias e marcadores de estresse oxidativo (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007; CARMONA *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020; CLARKSON; HUBAL, 2002; DAMAS *et al.*, 2016; KANDA *et al.*, 2014; KOCH; PEREIRA; MACHADO, 2014).

Após a recuperação do DMIE inicial, uma segunda sessão do mesmo exercício não promove sinais e sintomas de dano muscular, um fenômeno conhecido como efeito do exercício repetido (EER) (CLARKSON; HUBAL, 2002; CORATELLA; CHEMELLO; SCHENA, 2016; GOODALL *et al.*, 2017; HOWATSON; VAN SOMEREN; HORTOBAGYI, 2007; HYLDAHL; CHEN; NOSAKA, 2017). O EER parece estar associado a adaptações neurais no padrão de recrutamento das fibras musculares, a alterações na composição da matriz extracelular do tecido conjuntivo associado ao músculo, a redução do recrutamento de fibras mais susceptíveis ao DMIE e a adaptações da resposta imune inflamatória ao dano metabólico e mecânico inicial (CLARKSON; HUBAL, 2002; GOODALL *et al.*, 2017; HOWATSON; VAN SOMEREN; HORTOBAGYI, 2007; HYLDAHL; CHEN; NOSAKA, 2017). Como consequência, há menor perda de função, redução da DOMS e redução dos níveis circulantes de marcadores de dano muscular, incluindo a CK, na segunda sessão do mesmo exercício (CHEN *et al.*, 2019). Desta forma, é possível que a adaptação do EER promova alterações na concentração de compostos químicos no músculo e circulação, diferentes das detectadas no DMIE.

Uma sessão de exercício de alta intensidade, pode alterar os níveis circulantes de elementos químicos (JABLAN *et al.*, 2017; KARAKUKCU *et al.*, 2013; MALLIAROPOULOS *et al.*, 2013; MAYNAR *et al.*, 2018; MILIAS *et al.*, 2006; OTAG *et al.*, 2014; PADOIN *et al.*, 2020; SORIA *et al.*, 2016; SPEICH *et al.*, 2001). Vários elementos, como o Lítio (Li), Boro (B), Sódio (Na), Magnésio (Mg), Fósforo (P), Cloro (Cl), Potássio (K), Cálcio (Ca), Escândio (Sc), Titânio (Ti), Cromo (Cr), Manganês (Mn), Ferro (Fe), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Selênio (Se), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Estanho (Sn), Antimônio (Sb) e Iodo (I), foram investigados em atletas após uma sessão de exercício físico (JABLAN *et al.*, 2017; MAYNAR *et al.*, 2017; MAYNAR *et al.*, 2018; MILIAS *et al.*, 2006; OTAG *et al.*, 2014; PADOIN *et al.*, 2020; SPEICH; PINEAU; BALLEREAU, 2001). Os autores observaram diferentes concentrações de elementos químicos circulantes pré e pós exercício em diferentes modalidades esportivas (JABLAN *et al.*, 2017; KARAKUKCU *et al.*, 2013; MAYNAR *et al.*, 2017; MAYNAR *et al.*, 2018; NISHIIE-YANO *et al.*, 2020; OTAG *et al.*, 2014; PADOIN *et al.*, 2020; PEELING *et al.*, 2014). No entanto, a despeito das alterações na concentração circulante de

macroelementos, microelementos e elementos do traço observadas em atletas, os autores não associaram as alterações nas concentrações de elementos químicos com sinais e sintomas de DMIE ou adaptação inicial ao exercício (ERR). Considerando o importante papel de elementos químicos em processos antioxidantes e anti-inflamatórios, como o Mn, o Se, e o Zn, além da presença de elementos químicos em algumas moléculas estruturais e enzimáticas extravasadas das fibras musculares danificadas, pressupõe-se que as alterações na concentração de elementos químicos podem ocorrer durante o DMIE (HUANG; ROSE; HOFFMANN, 2012; LI; YANG, 2018; OLECHNOWICZ *et al.*, 2018; WINTER; BAZYDLO; HARRIS, 2014).

Alterações nos níveis circulantes dos elementos químicos podem estar relacionadas ao estresse oxidativo, estado inflamatório, estratégias nutricionais, demandas físicas e metabólicas, e estes fatores podem estar associados ao DMIE (ALSHAMMARI *et al.*, 2010; MAYNAR *et al.*, 2017; SPEICH; PINEAU; BALLEREAU, 2001). Além disso, o DMIE pode provocar o extravasamento de moléculas intracelulares, o que pode provocar alterações no perfil de elementos químicos circulantes. No entanto, ainda não está estabelecido quais elementos podem estar alterados e em que momento estas alterações podem ser identificadas. Além disso, não está estabelecido se estas modificações na concentração de elementos químicos acontecem em eventos com ou sem dano muscular (adaptação ao EER). Alterações nas concentrações séricas de elementos químicos podem ser usadas no rastreamento precoce do DMIE, além de fornecer informações importantes sobre a importância de macro e microelementos no processo de dano muscular e recuperação pós exercício. O uso da técnica da fluorescência de Raios X por reflexão total (TXRF) é uma importante ferramenta no estudo das possíveis alterações de composição elementar em amostras biológicas, pois permite a detecção simultânea de vários macro e microelementos modulados pelo exercício e de interesse em medicina esportiva (PADOIN *et al.*, 2020). Sendo assim, o objetivo do presente estudo é investigar as alterações nas concentrações circulantes de elementos químicos quando ocorre DMIE, pela técnica de TXRF. O segundo objetivo é determinar se há diferenças na concentração sérica de elementos químicos quando não há sinais de dano muscular devido ao EER.

Metodologia

Sujeitos

Na amostra final, foram avaliados 7 sujeitos do sexo masculino, com idade entre 18 e 35 anos ($26,5 \pm 4,0$ anos), $178,4 \pm 6,7$ cm de altura e massa corporal de $80,5 \pm 16,9$ kg. Como critério de inclusão, os participantes deveriam ser fisicamente ativos, praticando exercícios resistidos e aeróbicos por três a quatro vezes por semana (mínimo de 150 minutos/semana), há pelo menos seis meses, em intensidade moderada, conforme as recomendações do *Canadian Physical Activity Guideline* para adultos (TREMBLAY *et al.*, 2011). Os participantes deveriam estar desabituaados a realizar modalidades esportivas e exercícios que envolviam saltos pliométricos (lutas, *crossfit*, futebol e outros esportes coletivos) em seu treinamento habitual, não poderiam ter lesões musculoesqueléticas, estar em uso de drogas anti-inflamatórias, recursos ergogênicos, suplementos vitamínicos, tabaco e não apresentarem doenças e lesões que impedissem a realização dos testes. Foi excluído da análise um sujeito que não compareceu a segunda sessão de exercício.

Os sujeitos foram orientados a não realizar treinamento físico intenso ou ingerir bebidas contendo álcool e cafeína nas 72 h que antecederam o estudo e durante as 72 horas de recuperação após o exercício. Todos os procedimentos e objetivo da pesquisa foram esclarecidos e os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, antes do início do estudo. Os procedimentos de estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Estudos Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (protocolo n. 2.650.252).

Delineamento experimental

Consistiu no estudo observacional longitudinal sobre as alterações na concentração sérica de elementos químicos antes e durante o período de recuperação do DMIE e na segunda sessão do mesmo exercício, durante o EER. Os sujeitos foram submetidos a duas sessões de protocolo de saltos pliométricos com intervalo de 14 dias entre sessões. Os testes foram realizados individualmente no mesmo horário e mesmas condições de temperatura para cada sujeito. Imediatamente antes do exercício, imediatamente após e depois de 24, 48 e 72 horas, os participantes foram submetidos a coletas sanguíneas, testes de salto vertical com agachamento (SJ) e contra movimento (CMJ) e avaliação de percepção de dor muscular (DOMS). As amostras de sangue foram utilizadas para avaliação dos níveis séricos de creatina quinase (CK) e da concentração de elementos químicos.

Drop jump

Para indução de DMIE foi utilizado o protocolo de saltos pliométricos do tipo *drop jump* (HOWATSON *et al.*, 2009). Antes do início do estudo, os participantes foram familiarizados com os testes e movimentos dos saltos verticais e *drop jumps*. Os sujeitos foram submetidos a um aquecimento padronizado de 15 minutos antes da realização dos testes de salto vertical (Pré) e do protocolo de saltos pliométricos. Os saltos pliométricos foram realizados em cinco séries de 20 saltos do tipo *drop jump*, com intervalos de 2 min entre séries, em uma plataforma elevada de 50 cm (Sparta Gym, Itajaí, Brasil).

O protocolo de saltos pliométricos foi iniciado com o sujeito subindo em uma plataforma elevada com a perna direita e posteriormente o indivíduo saltou da caixa (*drop*) com as mãos na cintura, devendo os dois pés tocarem o solo ao mesmo tempo. Ao tocar o solo, o sujeito foi orientado a flexionar os joelhos até aproximadamente 90° e saltar o mais alto possível com as pernas estendidas. A cada salto, houve alternância de perna para subir os degraus da plataforma.

Após 14 dias, período necessário para recuperação após a primeira sessão de saltos pliométricos ou de indução de dano muscular de moderado a avançado (HOWATSON *et al.*, 2009; PAULSEN *et al.*, 2012), foi realizado a segunda sessão de saltos pliométricos para a avaliação do EER.

Testes de salto vertical com agachamento (SJ) e com contramovimento (CMJ)

Os testes de salto vertical foram realizados para avaliação indireta da força explosiva e reativa dos membros inferiores dos sujeitos, utilizando a técnica do “contramovimento” e do agachamento respectivamente (BOSCO *et al.*, 1983). A familiarização dos saltos foi realizada uma semana antes do protocolo. Os sujeitos realizaram os testes de salto sobre um tapete de contato conectado a um *software* de computador (Jump System Pro CEFISE, Nova Odessa, Brasil), seguindo o protocolo proposto por Bosco, Luhtanen e Komi (1983). Três tentativas foram permitidas para cada tipo de salto com intervalos de 10 s entre os mesmos. O melhor salto foi utilizado para fins estatísticos.

Dor de acometimento tardio (DOMS)

Uma escala com 10 categorias (0 “nenhuma dor” e 10 “dor extremamente intensa”) foi utilizada para avaliação da dor muscular percebida (COOK *et al.*, 1998). A avaliação de DOMS foi realizada antes e imediatamente após, 24 h, 48 h e 72 h após o protocolo de saltos pliométricos. Os sujeitos realizaram um agachamento padronizado de aproximadamente 90° na articulação do joelho, durante 10 segundos, antes de informar o valor da dor percebida na musculatura de membros inferiores, conforme descrito na escala.

Creatina quinase (CK)

Amostras de sangue (5ml) foram coletadas antes do aquecimento para a realização do salto pliométrico, imediatamente após, 24 h, 48 h e 72 h, em tubos ao vácuo sem anticoagulante (Vacutainer®; Becton Dickinson®, Franklin Lakes, EUA). As amostras foram imediatamente centrifugadas a 4000g, durante 4 minutos, a 4°C e o soro foi separado e congelado a -20°C antes das análises. A atividade sérica de CK foi determinada em ensaio bioquímico em equipamento automatizado (Dimension XLD, Siemens, Munique, Alemanha) utilizando kit comercial do mesmo fabricante.

Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF)

Dez microlitros de soro foram dispensados em discos de acrílico juntamente com 10 µl de um padrão interno de Gálio (cat. 170319, Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) e colocados em um forno a uma temperatura de 55 °C durante 20 min, para secar as amostras. Os discos de acrílico foram submetidos às medidas de fluorescência de raios X, realizadas pelo sistema TXRF tipo S2 Picofox (Bruker Corporation, Berlim, Alemanha), no Laboratório de Física Nuclear Aplicada da Universidade Estadual de Londrina, Brasil. O espectro emitido foi analisado com o *software* Spectra (Bruker Corporation, Berlim, Alemanha). O sistema S2 Picofox consiste em um tubo de raios X com alvo de Mo e um detector SDD (*silicon drift detector*), com uma resolução menor que 150 eV. A voltagem, corrente e a potência usada no tubo de raios X foram de 50 kV, 602 µA e 30 W, respectivamente. As amostras foram irradiadas durante 200 s. Foram obtidas três medidas de cada amostra, em que a cada 200 s de irradiação, o disco foi girado no sentido horário em 120°. No total, 69 discos foram medidos e 207 espectros analisados. A detecção elementar variou do alumínio ($Z = 13$) ao ítrio ($Z = 39$) para radiação da série K, sendo que elementos com número atômicos mais altos foram identificados pela série L ou M. A precisão do sistema foi verificada antes de cada experimento com soluções padrão certificadas e recomendadas pelo fabricante.

Análise estatística

O mínimo de 6 sujeitos foi necessário para obtenção de poder estatístico de 80% com erro tipo I máximo de 5%, considerando as variações em 24 a 72 horas nos níveis de CK observados em um estudo prévio que utilizou o mesmo tipo de protocolo de DMIE para análise de EER (HOWATSON; GOODALL; VAN SOMEREN, 2009).

A distribuição de normalidade dos dados foi determinada com o teste de Shapiro-Wilk. Dados com distribuição normal foram expressos em média e desvio-padrão. As amostras com distribuição não paramétrica foram expressas em medianas e intervalo interquartil de 25 a 75% da distribuição.

A esfericidade dos dados foi analisada pelo teste de Mauchly e a correção Greenhouse-Geisser foi aplicada nos casos em que a suposição de esfericidade foi violada. A variação de medidas de concentração de elementos químicos na primeira (DMIE) e segunda sessão (EER) de saltos pliométricos foi determinada com análise de modelo misto do efeito em ANOVA de dois fatores (tempo X sessão). O teste ANOVA de medidas repetidas, com post hoc de Tukey, ou o teste de Friedman com post hoc Dunn foram utilizados para determinar alterações em momentos (Pré a 72 horas) em cada sessão. Diferenças foram consideradas significativas se $P < 0,05$. O tamanho do efeito de Cohen, Glass e de Hedge foi utilizado na análise das alterações nas concentrações de elementos químicos, considerando a pequena variação clínica dos microelementos circulantes, que potencialmente podem ter importante efeito biológico. O tamanho do efeito foi aplicado nas mudanças de concentração em diferentes tempos da mesma sessão (DMIE ou EER) e entre os mesmos tempos (Pré, Pós, 24, 48 e 72 h) da primeira e segunda sessão do exercício. Os cálculos estatísticos foram realizados no *software* GraphPad Prisma 8.1 (Graph Pad, La Jolla, CA, USA).

Resultados

A primeira sessão de saltos pliométricos promoveu redução da altura de salto CMJ após e em 24h (figura 1a), diminuição da altura de salto SJ após (figura 1b), aumento de DOMS em 24 e 48 h (figura 1c) e de CK em 48 e 72h (figura 1d), demonstrando a ocorrência de DMIE. Não foram observadas diferenças entre tempos de observação na segunda sessão de saltos pliométricos, demonstrando o ERR

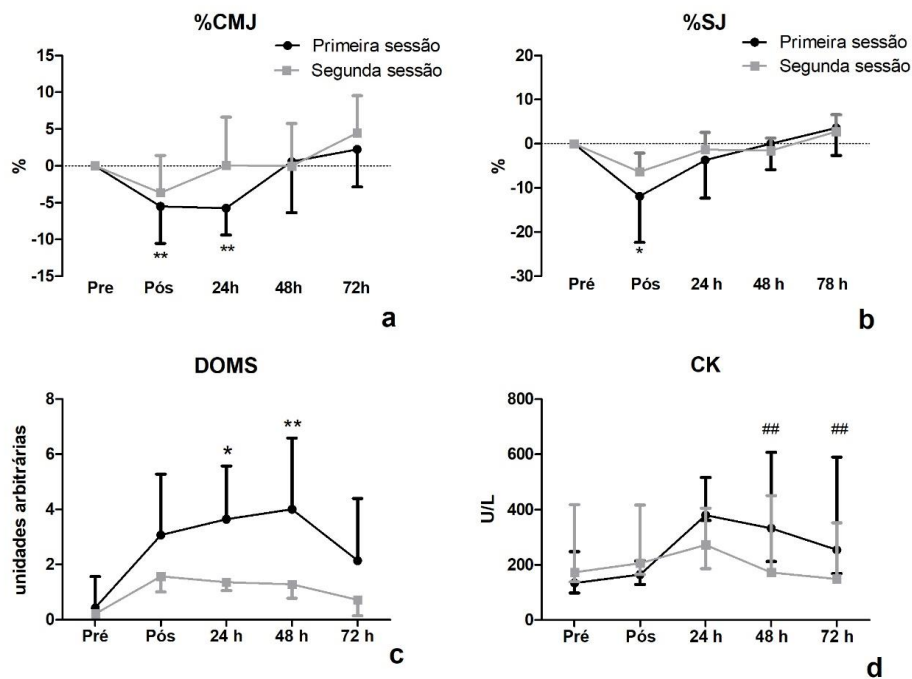


Fig. 1. Variação percentual da altura média (DP) do salto vertical com contramovimento (a) e salto com agachamento (b), média (SD) da dor muscular de início tardio (c) e mediana (25 a 75% quartil) de creatina quinase (d). * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ em relação aos demais tempos (ANOVA de medidas repetidas e teste de Tukey); ## $P < 0,01$ em relação a Pré (teste de Friedman teste de Dunn).

Uma amostra de soro foi descartada da análise de TXRF (primeira sessão, 72 horas) devido a hemólise. Os elementos químicos P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn e Mn foram encontradas em todas as amostras (Tabela 1). No entanto, os elementos Cr, Mn, Se e Rb foram encontradas em parte das amostras da primeira e segunda sessão, em diferentes tempos (Tabela 1). Traços de Ti e Ni foram encontrados em algumas amostras.

Tabela 1. Frequência de elementos químicos detectada nas amostras de sangue em diferentes sessões de exercício e tempos de acompanhamento

	Primeira Sessão					Segunda sessão				
	Pré (n=7)	Pós (n=7)	24 h(n=7)	48 h(n=7)	72 h(n=6)	Pré(n=7)	Pós (n=7)	24 h(n=7)	48 h(n=7)	72h(n=7)
P	6 (85,7%)	4 (57%)	6 (85,7%)	6 (85,7%)	5 (83,3%)	7 (100%)	6 (85,7%)	5 (71,4%)	7 (100%)	7 (100%)
S	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Cl	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
K	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Ca	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Ti	1 (16,7%)	1 (16,7%)	2 (28,5%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	-	4 (57,1%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	2 (28,5%)
Cr	4 (57,1%)	3 (42,8%)	4 (57,1%)	7 (100%)	5 (83,3%)	6 (85,7%)	5 (71,4%)	6 (85,7%)	5 (71,4%)	3 (42,8%)
Mn	1 (16,7%)	1 (16,7%)	-	-	-	-	-	-	-	1 (16,7%)
Fe	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Ni	-	1 (16,7%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Zn	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Se	4 (57,1%)	3 (42,8%)	4 (57,1%)	6 (85,7%)	6 (100%)	4 (57,1%)	4 (57,1%)	3 (42,8%)	5 (71,4%)	4 (57,1%)
Br	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
Rb	-	-	-	-	1 (16,7%)	-	-	-	-	-

P: fósforo, S: enxofre, Cl: cloro, K: potássio, Ca: cálcio, Ti: titânio, Cr: cromo, Mn: manganês, Fe: ferro, Ni: níquel, Cu: cobre, Zn: zinco, Se: selênio, Br: bromo, Rb: rubídio.

A análise de modelo misto de efeitos não detectou efeito da sessão, do tempo e da interação entre sessão e tempo nos níveis de macroelementos (figura 2).

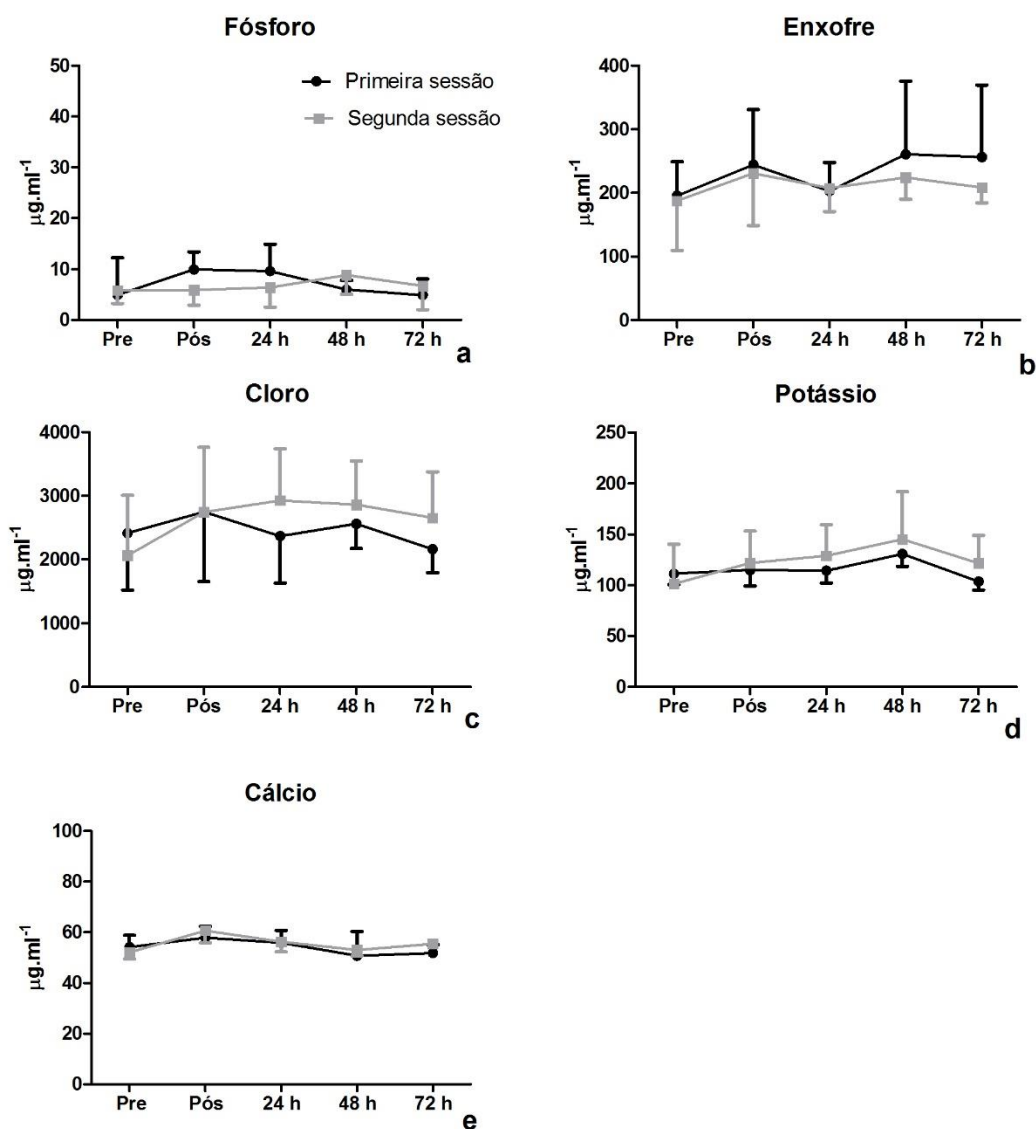


Fig. 2. Concentração (média \pm DP) plasmática de macroelementos antes (Pré), imediatamente após e 24, 48 e 72 horas após protocolo de saltos pliométricos na primeira e segunda sessão do exercício.

Não foi observado efeito da sessão, do tempo e da interação entre fatores sobre os níveis dos microelementos Fe, Cu, Zn e Br (figura 3). Os elementos Cr e Se não foram incluídos na análise de modelo misto devido ao baixo número de amostras com o elemento.

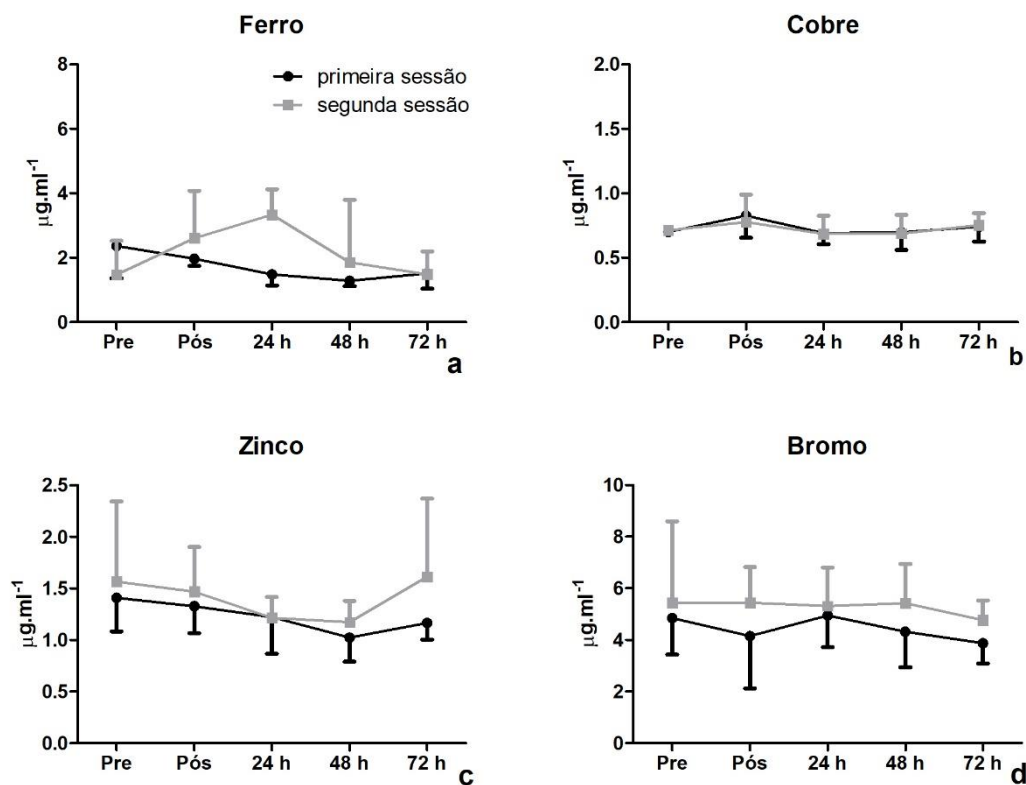


Fig. 3. Concentração (média \pm DP) plasmática de microelementos antes (Pré), imediatamente após e 24, 48 e 72 horas após protocolo de saltos pliométricos na primeira e segunda sessão do exercício.

A exceção do elemento Ca, que apresentou efeito grande na redução dos valores Pré da primeira para a segunda sessão, nenhum outro elemento apresentou alterações das concentrações da segunda para a primeira sessão antes do teste pliométrico (tabela 2). O aumento da concentração Pós a 72 horas demonstrou efeito grande e médio na segunda sessão para os elementos Cl, K e Ca (tabela 2). O elemento Zn apresentou uma redução da concentração com efeito grande em 48 e 72 h na primeira sessão (tabela 2). Efeitos de tamanho grande após 72h entre sessões foram observados para os elementos Ca, Zn e Br (Tabela 2).

Tabela 2. Tamanho do efeito (intervalo de confiança de 95%) das alterações em concentrações de elementos químicos séricos em relação ao momento Pré e entre a primeira e segunda sessão de exercício pliométrico.

	Sessão	Pré	Pós	24 h	48 h	72 h
P	Primeira sessão	-	0,63 (-0,53 a 1,70) médio	0,44 (-0,65 a 1,47) pequeno	0,39 (-0,69 a 1,42) pequeno	-0,54 (-1,56 a 0,57) moderado
	Segunda sessão	-	0,01 (-1,04 a 1,05) trivial	0,16 (-0,90 a 1,20) trivial	0,92 (-0,24 a 1,95) grande	0,23 (-0,88 a 1,31) pequeno
	Entre sessões	0,17 (-0,89 a 1,21) pequeno	0,63 (-0,49 a 1,74) moderado	0,53 (-0,56 a 1,57) moderado	0,19 (-0,87 a 1,23) trivial	-0,60 (-1,72 a 0,51) moderado
S	Primeira sessão	-	0,64 (-0,47 a 1,76) moderado	0,15 (-0,91 a 1,18) trivial	0,72 (-0,40 a 1,75) moderado	0,44 (-0,65 a 1,47) pequeno
	Segunda sessão	-	0,54 (-0,56 a 1,57) moderado	0,34 (-0,74 a 1,37) pequeno	0,33 (-0,75 a 1,36) pequeno	0,35 (-0,77 a 1,42) pequeno
	Entre sessões	0,12 (-0,93 a 1,16) Trivial	0,16 (-0,94 a 1,24) trivial	-0,12 (-1,16 a 0,94) trivial	0,62 (-0,49 a 1,65) moderado	0,23 (-0,88 a 1,30) pequeno
Cl	Primeira sessão	-	0,33 (-0,74 a 1,36) pequeno	-0,06 (-1,10 a 0,99) trivial	0,20 (-0,90 a 1,28) pequeno	-0,36 (-1,43 a 0,76) pequeno
	Segunda sessão	-	0,69 (-0,43 a 1,72) grande	0,99 (-0,18 a 2,02) grande	1,04 (-0,14 a 2,07) grande	0,70 (-0,43 a 1,72) moderado
	Entre sessões	0,38 (-0,70 a 1,41) pequeno	0,38 (-0,70 a 1,41) pequeno	0,0 (-1,04 a 1,05) trivial	-0,72 (-1,75 a 0,40) moderado	-0,64 (-1,71 a 0,52) moderado
K	Primeira sessão	-	0,10 (-0,95 a 1,14) trivial	0,10 (-0,96 a 1,14) trivial	0,63 (-0,48 a 1,66) médio	-0,15 (-1,24 a 0,94) trivial
	Segunda sessão	-	0,65 (-0,47 a 1,68) médio	0,91 (-0,25 a 1,94) grande	1,10 (-0,09 a 2,14) grande	0,96 (-0,43 a 1,72) grande
	Entre sessões	0,34 (-0,74 a 1,37) pequeno	-0,18 (-1,22 a 0,88) pequeno	0,48 (-1,50 a 0,62) pequeno	-0,36 (-1,39 a 0,72) pequeno	-0,57 (-1,64 a 0,58) moderado
Ca	Primeira sessão	-	0,31 (-0,77 a 1,34) pequeno	0,18 (-0,88 a 1,22) trivial	-0,53 (-1,56 a 0,57) moderado	-0,72 (-1,74 a 0,41) moderado
	Segunda sessão	-	1,38 (-0,13 a 2,43) muito grande	0,76 (-0,38 a 1,78) moderado	0,34 (-0,74 a 1,37) moderado	0,92 (-0,24 a 1,95) grande
	Entre sessões	-0,96 (-2,00 a 0,20) grande	0,61 (-0,50 a 1,64) moderado	-0,26 (-1,29 a 0,81) pequeno	0,45 (-0,64 a 1,48) pequeno	1,07 (-0,12 a 2,10) grande
Fe	Primeira sessão	-	0,42 (-0,66 a 1,45) pequeno	-0,22 (-1,42 a 0,85) pequeno	0,05 (1,05 a 1,09) trivial	0,38 (-0,64 a 1,48) pequeno
	Segunda sessão	-	0,71 (-0,42 a 1,73)	0,85 (-0,30 a 1,87)	0,32 (-0,76 a 1,31)	-0,19 (-1,23 a 0,87)

	Entre sessões	-0,40 (0,55 a 3,02) pequeno	moderado 0,23 (-1,26 a 0,84) pequeno	grande 0,52 (-0,58 a 1,54) moderado	pequeno -0,15 (-1,19 a 0,91) trivial	trivial -0,20 (-1,24 a 0,86) pequeno
Cu	Primeira sessão	-	-0,27 (-1,30 a 0,80) pequeno	-0,08 (-1,12 a 0,97) trivial	-0,33 (-1,36 a 0,75) pequeno	-0,44 (-1,51 a 0,69) pequeno
	Segunda sessão	-	0,08 (-0,97 a 1,13) trivial	-0,25 (-1,28 a 0,82) pequeno	-0,35 (-1,38 a 0,73) pequeno	-0,22 (-1,25 a 0,85) pequeno
	Entre sessões	-0,08 (-1,12 a 0,97) trivial	-0,49 (-1,52 a 0,61) pequeno	0,11 (-0,94 a 1,15) trivial	0,0 (-1,05 a 1,05) trivial	0,52 (-1,59 a 0,63) moderado
Zn	Primeira sessão	-	0,27 (-1,31 a 0,80) pequeno	-0,55 (-1,57 a 0,55) moderado	- 1,37 (-2,42 a -0,13) muito grande	-0,93 (-2,00 a 0,28) grande
	Segunda sessão	-	0,15 (-1,19 a 0,91) pequeno	- 0,62 (-1,64 a 0,49) médio	- 0,69 (-1,72 a 0,43) médio	0,06 (-0,99 a 1,11) trivial
	Entre sessões	- 0,27 (-1,30 a 0,80) trivial	- 0,40 (-1,43 a 0,68) pequeno	0,02 (-1,02 a 1,07) trivial	0,70 (-0,43 a 1,72) médio	0,80 (-0,39 a -1,87) grande
Br	Primeira sessão	-	-0,40 (-1,43 a 0,68) pequeno	0,07 (-0,98 a 1,12) trivial	-0,38 (-1,41 a 0,70) pequeno	-0,81 (-1,89 a 0,37) grande
	Segunda sessão	-	0,0 (-1,05 a 1,04) trivial	-0,05 (-1,10 a 1,00) trivial	- 0,01 (-1,06 a 1,04) trivial	-0,30 (-1,33 a 0,78) pequeno
	Entre sessões	-0,24 (-1,28 a 0,82) pequeno	-0,74 (-1,77 a 0,39) moderado	- 0,27 (-1,30 a 0,80) pequeno	- 0,77 (-1,80 a 0,36) moderado	-1,11 (-2,20 a 0,12) grande

P: fósforo, S: enxofre, Cl: cloro, K: potássio, Ca: cálcio, Ti: titânio, Cr: cromo, Mn: manganês, Fe: ferro, Ni: níquel, Cu: cobre, Zn: zinco, Se: selênio, Br: bromo, Rb: rubídio.

Discussão

O principal resultado do estudo demonstra que não há uma variação significativa da concentração sérica dos elementos químicos detectados na técnica TXRF, em situações onde os sujeitos desenvolvem DMIE ou quando não apresentam dano (EER), sob o mesmo estímulo. No entanto, a baixa concentração e variação destes elementos séricos é uma limitação para o uso de técnicas estatísticas convencionais. Desta forma, optamos por avaliar as discretas alterações iônicas por meio da avaliação de tamanho de efeito (SCHOBER; BOSSERS; SCHWARTE, 2018). As variações com efeito de grande a muito grande nos momentos de pós a 72h em cada sessão e entre sessões, foram observadas na concentração dos elementos químicos Cl, Fe, K, Ca e Zn, corroborando com a hipótese do estudo.

O Cl sérico é um eletrólito associado ao equilíbrio ácido-base sanguíneo, à regulação da condução nervosa, e à liberação de ácido hipocloroso (HOCl) pelos neutrófilos e cloração de proteínas séricas durante as respostas inflamatórias (WANG, 2016). Durante a primeira sessão de exercício, não foram observadas alterações significativas de Cl sérico, sugerindo que não tenha ocorrido produção significativa de HOCl por neutrófilos, em resposta ao DMIE. No entanto, durante a recuperação da segunda sessão de exercício, o aumento dos níveis de Cl pode estar associado a regulação do equilíbrio ácido-base e maior resistência a fadiga na adaptação ao ERR, uma vez que não ocorreu sinais e sintomas de DMIE e inflamação. Sujeitos treinados em repouso apresentam níveis plasmáticos de Cl⁻ maiores do que sujeitos destreinados (ZORBAS; NAEXU; FEDERENKO, 1992). O aumento dos níveis séricos basais do íon cloreto foi observado em atletas de *wrestling* durante o período de treinamento, sem apresentar correlação com o processo inflamatório (KILGORE *et al.*, 2002). Da mesma forma, a adaptação ao treinamento de *sprints* também demonstrou que há um aumento dos níveis plasmáticos de Cl⁻ após um teste anaeróbico de esforço máximo de 30s (MCKENNA *et al.*, 1997). Durante o exercício resistido, o aumento da acidose de ácido lático promove retenção renal de Cl⁻, enquanto há um aumento da permeabilidade de membrana ao Cl⁻ durante o exercício. Isto contribui para o aumento do elemento Cl no meio extracelular para manter a excitabilidade das fibras musculares esqueléticas (CAIRNS; LINDINGER, 2008; MCKELVIE *et al.*, 1989; MCKENNA *et al.*, 2008). Embora os níveis de Cl⁻ já tenham sido demonstrados em resposta ao treinamento físico, este é o primeiro estudo a demonstrar que o aumento de Cl plasmático não é observado no DMIE, mas acontece na adaptação ao EER.

O aumento da concentração de K⁺ durante o exercício é um fenômeno associado a liberação desse elemento no músculo em contração e nas hemácias, além da diminuição do volume plasmático (LINDINGER; SJOGAARD, 1991). O extravasamento de K para o espaço intracelular aumenta a excitabilidade celular, mas também está relacionado com a fadiga muscular (NIELSEN *et al.*, 2004; SHUSHAKOV *et al.*, 2007). A liberação de K durante o exercício também é importante para promover vasodilatação (WILSON; KAPOOR; KRISHNA, 1994). No entanto, após o exercício ocorre um rápido declínio de K nos níveis circulantes (LINDINGER, 1995). Em sujeitos treinados, em repouso, foi observado maiores concentrações séricas de K em relação aos sujeitos destreinados (ZORBAS; NAEXU; FEDERENKO, 1992). Contrário aos resultados reportados por outros autores, foi observado um aumento de efeito médio após 48 horas na primeira sessão de exercício e de efeito médio a grande no aumento de K na segunda sessão de exercício. O aumento dos níveis de K após 24 a 72 horas após o exercício não foi determinada por outros autores. O K também está associado a diminuição da sensibilidade dolorosa e inflamação nos tecidos periféricos (STANISZEWSKI *et al.*, 2019; TABBAA *et al.*, 2015; TSANTOULAS, 2015; WANG *et al.*, 2007). A elevação dos níveis de K na primeira sessão

de exercício acontece apenas no momento de pico de dor, antecedendo uma redução significativa no escore dor. Na segunda sessão de exercício, não houve aumento significativo de dor, mas ocorreu um aumento dos níveis de K durante a recuperação. No entanto, os efeitos do aumento de K, inibindo a ativação dos canais de K associados a inflamação e dor no EER ainda precisam ser estabelecidos.

O Ca está associado a ativação da troponina durante a contração muscular e a ativação de sistemas enzimáticos intracelulares na fibra muscular estriada esquelética durante a contração muscular (CHENG; PLACE; WESTERBLAD, 2018). O desequilíbrio da homeostasia do Ca durante o exercício promove fadiga e pode levar à ativação de calpaínas (enzimas proteolíticas) e desorganização do sistema de endomembranas celular (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002; CHENG; PLACE; WESTERBLAD, 2018). No presente estudo, as variações temporais nos níveis de Ca na primeira e segunda sessão de exercício ocorreram no mesmo padrão, porém com maior tamanho de efeito para o aumento na recuperação da segunda sessão. O aumento dos níveis basais de Ca circulante parece estar associado à adaptação ao exercício. Em lutadores de boxe, quatro semanas de treinamento promoveram o aumento dos níveis basais de Ca circulante (KARAKUKCU *et al.*, 2013).

O elemento químico Fe está associado ao transporte de oxigênio, devido a incorporação ao heme das proteínas hemoglobina e mioglobina. Esse elemento é necessário para a síntese de hemoglobina, que se dá devido a inibição da hepcidina (regulador da homeostase do Fe) para aumentar a atividade de ferroportina que permite disponibilidade de Fe circulante, tornando eficiente o transporte de oxigênio e melhorando o metabolismo oxidativo muscular. Porém, o exercício afeta a expressão de hepcidina que pode gerar deficiência de Fe circulante (BURATTI *et al.*, 2015; HINTON, 2014). Níveis elevados de Fe circulante podem ser detectados após uma sessão de treinamento de judô devido a hemólise (NISHIIE-YANO *et al.*, 2020). No entanto, os níveis de ferro sérico foram diminuídos após 3h do término de uma sessão de treino de *dragon boat* em atletas de elite (BAUER *et al.*, 2018), mas elevados após 3h de uma sessão de treinos de *sprints* em atletas de *track-and-field* (GOTO *et al.*, 2018). Embora a literatura aponte resultados contraditórios em relação aos níveis de ferro circulantes após o exercício, não está claro a associação entre o Fe e o DMIE. Altos níveis de interleucina-6 secretados pelo músculo estriado esquelético em exercício e associados a mediadores inflamatórios secretados pelo DMIE estimulam a secreção do hormônio hepcidina dos hepatócitos, com pico após 6 horas (GOTO *et al.*, 2020; MCCLUNG *et al.*, 2013; PEELING *et al.*, 2014). A hepcidina inibe a liberação de Fe por macrófagos, controlando os níveis sanguíneos de Fe, resultado em baixos níveis ou níveis inalterados de Fe circulante em repouso ou durante a recuperação de atletas (BAUER *et al.*, 2018; GOTO *et al.*, 2018; GOTO *et al.*, 2020). Por outro lado, a ausência de dano muscular e, conseqüentemente, de reações inflamatórias acentuadas na segunda sessão de exercício pode não ter estimulado a secreção de hepcidina, promovendo o aumento da secreção de Fe durante a recuperação da segunda sessão. Os resultados do presente estudo sugerem que, em sujeitos fisicamente ativos, há uma modulação positiva do Fe circulante devido ao EER.

O Zn é um elemento amplamente distribuído pelos tecidos humanos estando associado às proteínas estruturais, sinalização celular, defesas antioxidantes e metabolismo da glicose (HERNANDEZ-CAMACHO *et al.*, 2020; MYERS *et al.*, 2013). O tecido muscular apresenta as maiores concentrações de Zn no corpo, estando associadas à miogênese, ao transporte de K⁺ e despolarização e membrana, à captação e glicose e atividade da enzima lactato desidrogenase (HERNANDEZ-CAMACHO *et al.*, 2020; JACKSON; JONES; EDWARDS, 1982). Em atletas, uma sessão aguda de exercício provoca aumentos no nível plasmático de Zn,

correlacionado ao aumento do nível de catecolaminas e intensidade do exercício (SORIA *et al.*, 2015). Porém, após o término do exercício, tanto sujeitos treinados quanto não-treinados, apresentam redução dos níveis de Zn durante um período de até 24 horas (GRANELL, 2014; HERNANDEZ-CAMACHO *et al.*, 2020; MAYNAR *et al.*, 2018). A redução dos níveis plasmáticos Zn pós exercício parece estar associado ao transporte do Zn para o espaço intersticial e recaptção muscular (VOLPE *et al.*, 2007). No presente estudo, os voluntários apresentaram redução das concentrações de Zn no período de recuperação da DMIE. Porém, não foram observadas alterações com tamanho de efeito significativo na segunda sessão de treino, sugerindo que a adaptação ao EER é acompanhada de extravasamento de Zn circulante em função do menor dano as membranas sarcoplasmáticas.

Segundo Paulsen e colaboradores (PAULSEN *et al.*, 2012), a perda de função é um dos melhores marcadores clínicos de dano muscular. No presente estudo, o dano muscular pode ser considerado de leve a moderado, de acordo com a perda funcional (<20%), tempo de recuperação funcional (24 h), sintomatologia de DOMS moderada, e níveis de aumento de CK menores que 1000U/L (PAULSEN *et al.*, 2012). A técnica TXRF permitiu identificar alterações discretas na concentração de macro e microelementos mesmo quando ocorreu um dano muscular de pequena magnitude. Uma limitação do estudo foi a impossibilidade de controlar a dieta dos voluntários durante o estudo, sendo apenas recomendado manter a sua dieta comum durante o período experimental. No entanto, não foram observadas diferenças nas concentrações pré exercício na primeira e segunda sessão de protocolo de saltos pliométricos. Os resultados sugerem que a adaptação inicial ao DMIE, associado ao ERR, modulam a concentração de elementos químicos associados à resistência à fadiga (K, Ca, Cl) e à resposta inflamatória e metabolismo da Glicose (Zn). A alterações observadas ocorreram precocemente às adaptações adaptativas (hipertrofia ou adaptação aeróbica) das fibras musculares em resposta ao treinamento físico, sugerindo que as alterações de concentração elementar podem estar associadas a proteção com o DMIE promovido pelo EER.

Agradecimentos

Os autores agradecem a academia Edge (Londrina-PR) por permitir o uso das instalações para avaliação e coleta de dados. Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brasil) pela bolsa de mestrado de SP (grant n. 1798841/2018).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica TXRF possibilitou a detecção de diversos elementos químicos de interesse no estudo das alterações bioquímicas associadas ao DMIE e EER. As alterações podem ser consideradas discretas e dentro dos padrões de valores referenciais. As principais alterações observadas no presente estudo ocorreram nos elementos químicos associados à fadiga (K, Ca, Cl), inflamação e metabolismo energético (Zn). Devido a não haver diferenças (exceto para o Ca) nos níveis séricos dos elementos químicos no momento Pré, entre a primeira e segunda sessões, os valores de repouso (após recuperação) dos elementos químicos parecem não ser modulados por uma única sessão de exercício e não estarem associados ao DMIE e EER. Estudos futuros devem investigar se alterações na concentração sérica de elementos químicos são mais evidentes quando há dano muscular de magnitude moderado a severo, ou se manipulação nutricional de elementos químicos pode promover proteção contra o DMIE.

REFERÊNCIAS

AL DAHAMSHEH, Z. *et al.* The impact of aerobic exercise on female bone health indicators. **Med Arch**, v. 73, n. 1, p. 35-38, Feb 2019.

ALSHAMMARI, E. *et al.* Altered antioxidant and trace-element status in adolescent female gymnasts. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 20, n. 4, p. 291-298, Aug 2010.

BARRY, D. W. *et al.* Acute calcium ingestion attenuates exercise-induced disruption of calcium homeostasis. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 4, p. 617-623, Apr 2011.

BAUER, P. *et al.* Acute effects of high-intensity exercise on hematological and iron metabolic parameters in elite male and female dragon boating athletes. **Phys Sportsmed**, v. 46, n. 3, p. 335-341, Sep 2018.

BEATON, L. J.; TARNOPOLSKY, M. A.; PHILLIPS, S. M. Contraction-induced muscle damage in humans following calcium channel blocker administration. **J Physiol**, v. 544, n. 3, p. 849-859, Nov 1 2002.

BERGLUND, L. *et al.* Heme oxygenase inhibitors transiently increase serum ferritin concentrations without altering other acute-phase reactants in man. **Pharmacology**, v. 59, n. 1, p. 51-56, Jul 1999.

BOSCO, C.; LUHTANEN, P.; KOMI, P. V. A simple method for measurement of mechanical power in jumping. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 50, n. 2, p. 273-282, 1983.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **Br Med Bull**, n. 81-82, p. 209-230, 2007.

BURATTI P. *et al.* Recent advances in iron metabolism: relevance for health, exercise, and performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 47, n. 8, p. 1596-1604, Dec 2015.

CAIRNS, S. P.; LINDINGER, M. I. Do multiple ionic interactions contribute to skeletal muscle fatigue? **J Physiol**, v. 586, n. 17, p. 4039-4054, Sep 1 2008.

CARMONA, G. *et al.* Muscle enzyme and fiber type-specific sarcomere protein increases in serum after inertial concentric-eccentric exercise. **Scand J Med Sci Sports**, v. 25, n. 6, p. e547-557, Dec 2015.

CASUSO, R. A. *et al.* Comparison of the inflammatory and stress response between sprint interval swimming and running. **Scand J Med Sci Sports**, v. 28, n. 4, p. 1371-1378, Apr 2018.

CHEN, P.; BORNHORST, J.; ASCHNER, M. Manganese metabolism in humans. **Front Biosci (Landmark Ed)**, n. 23, p. 1655-1679, Mar 1 2018.

CHEN, T. C. Contralateral repeated bout effect of eccentric exercise of the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 48, n. 10, p.2030-9, May 2016.

CHEN, T. C. *et al.* Damage and the repeated bout effect of arm, leg, and trunk muscles induced by eccentric resistance exercises. **Scand J Med Sci Sports**, v. 29, n. 5, p. 725-735, May 2019.

CHEN, T. C. *et al.* Comparison among three different intensities of eccentric contractions of the elbow flexors resulting in the same strength loss at one day post-exercise for changes in indirect muscle damage markers. **Eur J Appl Physiol**, v. 120, n. 1, p. 267-279, Jan 2020.

CHEN, T. C. *et al.* Large increases in plasma fast skeletal muscle troponin I after whole-body eccentric exercises. **J Sci Med Sport**, v. 23, n. 8, p. 776-781, Aug 2020.

CHENG, A. J.; PLACE, N.; WESTERBLAD, H. Molecular basis for exercise-induced fatigue: the importance of strictly controlled cellular Ca(2+) handling. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 8, n. 2, Feb 1 2018.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 81, n. 11 Suppl, p. S52-69, Nov 2002.

COOK, D. B. *et al.* Sex differences in naturally occurring leg muscle pain and exertion during maximal cycle ergometry. **Int J Neurosci**, v. 95, n. 3-4, p. 183-202, Sep 1998.

CORATELLA, G.; CHEMELLO, A.; SCHENA, F. Muscle damage and repeated bout effect induced by enhanced eccentric squats. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 56, n. 12, p. 1540-1546, Dec 2016.

DAMAS, F. *et al.* Susceptibility to exercise-induced muscle damage: a cluster analysis with a large sample. **Int J Sports Med**, v. 37, n. 8, p. 633-640, Jul 2016.

DEUSTER, P. A.; SINGH, A. Responses of plasma magnesium and other cations to fluid replacement during exercise. **J Am Coll Nutr**, v. 12, n. 3, p. 286-293, Jun 1993.

DOKER, S. *et al.* Influence of training frequency on serum concentrations of some essential trace elements and electrolytes in male swimmers. **Biol Trace Elem Res**, v. 158, n. 1, p. 15-21, Apr 2014.

ERTEL, K. A.; HALLAM, J. E.; HILLMAN, A. R. The effects of training status and exercise intensity on exercise-induced muscle damage. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 60, n. 3, p. 449-455, Mar 2020.

GIANDOLINI, M. *et al.* Fatigue associated with prolonged graded running. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 10, p. 1859-1873, Oct 2016.

GOODALL, S. *et al.* Neuromuscular changes and the rapid adaptation following a bout of damaging eccentric exercise. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 220, n. 4, p. 486-500, Aug 2017.

GONZÁLEZ-HARO C. *et al.* Plasma trace elements levels are not altered by submaximal exercise intensities in well-trained endurance euhydrated athletes. **J Trace Elem Med Biol**, v. 25, p. 54-58, Set 2011.

GOTO, K. *et al.* Postexercise serum hepcidin response to repeated sprint exercise under normoxic and hypoxic conditions. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 43, n. 3, p. 221-226, Mar 2018.

GOTO, K. *et al.* Resistance exercise causes greater serum hepcidin elevation than endurance (cycling) exercise. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. e0228766, 2020.

GRANELL, J. Zinc and copper changes in serum and urine after aerobic endurance and muscular strength exercise. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 54, n. 2, p. 232-237, Apr 2014.

HALON-GOLABEK, M. *et al.* Iron Metabolism of the Skeletal Muscle and Neurodegeneration. **Front Neurosci**, n. 13, p. 165, 2019.

HERNANDEZ-CAMACHO, J. D. *et al.* Zinc at the crossroads of exercise and proteostasis. **Redox Biol**, n. 35, p. 101529, Aug 2020.

HEW-BUTLER, T.; STUEMPFLE, K. J.; HOFFMAN, M. D. Bone: an acute buffer of plasma sodium during exhaustive exercise? **Horm Metab Res**, v. 45, n. 10, p. 697-700, Sep 2013.

HINTON, P. S. Iron and the endurance athlete. Applied physiology, nutrition, and metabolism. **Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme**, v. 39, n. 9, p. 1012-1018, May 2014.

HOWATSON, G.; VAN SOMEREN, K.; HORTOBAGYI, T. Repeated bout effect after maximal eccentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 28, n. 7, p. 557-563, Jul 2007.

HOWATSON, G.; VAN SOMEREN, K. A. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. **Sports Med**, v. 38, n. 6, p. 483-503, 2008.

HOWATSON, G.; GOODALL, S.; VAN SOMEREN, K. A. The influence of cold water immersions on adaptation following a single bout of damaging exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 105, n. 4, p. 615-621, Mar 2009.

HUANG, Z.; ROSE, A. H.; HOFFMANN, P. R. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxid Redox Signal**, v. 16, n. 7, p. 705-743, Apr 1 2012.

HYLDAHL, R. D.; CHEN, T. C.; NOSAKA, K. Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 45, n. 1, p. 24-33, Jan 2017.

JABLAN, J. *et al.* Level of minerals and trace elements in the urine of the participants of mountain ultra-marathon race. **J Trace Elem Med Biol**, v. 41, p. 54-59, May 2017.

JACKSON, M. J.; JONES, D. A.; EDWARDS, R. H. Tissue zinc levels as an index of body zinc status. **Clin Physiol**, v. 2, n. 4, p. 333-343, Aug 1982.

JAKSE, B. *et al.* Bone health among indoor female athletes and associated factors; a cross-sectional study. **Res Sports Med**, v. 28, n. 3, p. 314-323, Jul-Sep 2020.

KANDA, K. *et al.* Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. **Exerc Immunol Rev**, n. 20, p. 39-54, 2014.

KARAKUKCU, C. *et al.* The effects of acute and regular exercise on calcium, phosphorus and trace elements in young amateur boxers. **Clin Lab**, v. 59, n. 5-6, p. 557-562, 2013.

KARDOS, J. *et al.* Copper signalling: causes and consequences. **Cell Commun Signal**, v. 16, n. 1, p. 71, Oct 22 2018.

KILGORE, J. L. *et al.* Serum chemistry and hematological adaptations to 6 weeks of moderate to intense resistance training. **J Strength Cond Res**, v. 16, n. 4, p. 509-515, Nov 2002.

KOCH, A. J.; PEREIRA, R.; MACHADO, M. The creatine kinase response to resistance exercise. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 14, n. 1, p. 68-77, Mar 2014.

KOH-BANERJEE, P. K. *et al.* Effects of calcium pyruvate supplementation during training on body composition, exercise capacity, and metabolic responses to exercise. **Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 312-319, Mar 2005.

KOVRT, W. M. *et al.* Maintenance of Serum Ionized Calcium During Exercise Attenuates Parathyroid Hormone and Bone Resorption Responses. **J Bone Miner Res**, v. 33, n. 7, p. 1326-1334, Jul 2018.

LEE, S. *et al.* Plasma Sulphur-Containing Amino Acids, Physical Exercise and Insulin Sensitivity in Overweight Dysglycemic and Normal Weight Normoglycemic Men. **Nutrients**, v. 11, n. 1, Dec 20 2018.

LI, L.; YANG, X. The Essential Element Manganese, Oxidative Stress, and Metabolic Diseases: Links and Interactions. **Oxid Med Cell Longev**, p. 7580707, 2018.

LINDINGER, M. I. Potassium regulation during exercise and recovery in humans: implications for skeletal and cardiac muscle. **J Mol Cell Cardiol**, v. 27, n. 4, p. 1011-1022, Apr 1995.

LINDINGER, M. I.; SJOGAARD, G. Potassium regulation during exercise and recovery. **Sports Med**, v. 11, n. 6, p. 382-401, Jun 1991.

LINDSAY, A.; CARR, S.; DRAPER, N.; GIESEG, S. P. Urinary myoglobin quantification by high-performance liquid chromatography: An alternative

measurement for exercise-induced muscle damage. **Anal Biochem**, n. 491, p. 37-42, Dec 15 2015.

LIPPI, G.; SANCHIS-GOMAR, F. Epidemiological, biological and clinical update on exercise-induced hemolysis. **Ann Transl Med**, v. 7, n. 12, p. 270, Jun 2019.

LIVINGSTONE, C. Zinc: physiology, deficiency, and parenteral nutrition. **Nutr Clin Pract**, v. 30, n. 3, p. 371-382, Jun 2015.

MALLIAROPOULOS, N. *et al.* Blood phosphorus and magnesium levels in 130 elite track and field athletes. **Asian J Sports Med**, v. 4, n. 1, p. 49-53, Mar 2013.

MAYNAR, M. *et al.* Serum concentration of several trace metals and physical training. **J Int Soc Sports Nutr**, n. 14, p. 19, 2017.

MAYNAR, M. *et al.* Influence of an Acute Exercise Until Exhaustion on Serum and Urinary Concentrations of Molybdenum, Selenium, and Zinc in Athletes. **Biol Trace Elem Res**, v. 186, n. 2, p. 361-369, Dec 2018.

MCCLUNG, J. P. *et al.* Effects of a 7-day military training exercise on inflammatory biomarkers, serum hepcidin, and iron status. **Nutr J**, v. 12, n. 1, p. 141, Nov 4 2013.

MCKELVIE, R. S. *et al.* Renal responses to exercise-induced lactic acidosis. **Am J Physiol**, v. 257, n. 1 Pt 2, p. R102-108, Jul 1989.

MCKENNA, M. J.; BANGSBO, J.; RENAUD, J. M. Muscle K⁺, Na⁺, and Cl⁻ disturbances and Na⁺-K⁺ pump inactivation: implications for fatigue. **J Appl Physiol (1985)**, v. 104, n. 1, p. 288-295, Jan 2008.

MCKENNA, M. J. *et al.* Effects of training on potassium, calcium and hydrogen ion regulation in skeletal muscle and blood during exercise. **Acta Physiol Scand**, v. 156, n. 3, p. 335-346, Mar 1996.

MCKENNA, M. J. *et al.* Sprint training enhances ionic regulation during intense exercise in men. **J Physiol**, n. 501 (Pt 3), p. 687-702, Jun 15 1997.

MILIAS, G. A. *et al.* Effects of baseline serum levels of Se on markers of eccentric exercise-induced muscle injury. **Biofactors**, v. 26, n. 3, p. 161-170, 2006.

MIZUMURA, K.; TAGUCHI, T. Delayed onset muscle soreness: involvement of neurotrophic factors. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 66, n. 1, p. 43-52, Ago 2015.

MYERS, S. A. *et al.* The zinc transporter, Slc39a7 (Zip7) is implicated in glycaemic control in skeletal muscle cells. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e79316, 2013.

NIELSEN, J. J. *et al.* Effects of high-intensity intermittent training on potassium kinetics and performance in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 554, n. Pt 3, p. 857-870, Feb 1 2004.

NISHIE-YANO, R. *et al.* Hemolysis is responsible for elevation of serum iron concentration after regular exercises in judo athletes. **Biol Trace Elem Res**, v. 197, n. 1, p. 63-69, Sep 2020.

NOSAKA, K. *et al.* Time course of muscle adaptation after high force eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 63, n. 1, p. 70-76, Jan 1991.

OLECHNOWICZ, J. *et al.* Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. **J Physiol Sci**, v. 68, n. 1, p. 19-31, Jan 2018.

OTAG, A. *et al.* Responses of trace elements to aerobic maximal exercise in elite sportsmen. **Glob J Health Sci**, v. 6, n. 3, p. 90-96, Feb 21 2014.

OWENS, D. J. *et al.* Exercise-induced muscle damage: What is it, what causes it and what are the nutritional solutions? **Eur J Sport Sci**, v. 19, n. 1, p. 71-85, Feb 2019.

PADOIN, S. *et al.* Effects of Futsal Demands on Serum and Salivary Levels of Trace Elements and Minerals Detected by Total Reflection X-Ray Fluorescence. **Biol Trace Elem Res**, v. 193, n. 1, p. 73-80, Jan 2020.

PARCELL, S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. **Altern Med Rev**, v. 7, n. 1, p. 22-44, Feb 2002.

PATLAR, S. *et al.* Elements in sera of elite taekwondo athletes: effects of vitamin E supplementation. **Biol Trace Elem Res**, v. 139, n. 2, p. 119-125, Feb 2011.

PAULSEN, G. *et al.* Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exerc Immunol Rev**, n. 18, p. 42-97, 2012.

PEAKE, J. M. *et al.* Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 122, n. 3, p. 559-570, Mar 1 2017.

PEELING, P. *et al.* Iron status and the acute post-exercise hepcidin response in athletes. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e93002, 2014.

RATTRAY, B. *et al.* Specific training improves skeletal muscle mitochondrial calcium homeostasis after eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 2, p. 427-436, Feb 2013.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256-1268, Mar 31 2012.

SAWA, T. *et al.* Enzymatic regulation and biological functions of reactive cysteine persulfides and polysulfides. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, Aug 27 2020.

SCHOBBER, P.; BOSSERS, S. M.; SCHWARTE, L. A. Statistical significance versus clinical importance of observed effect sizes: What do p values and confidence intervals really represent? **Anesth Analg**, v. 126, n. 3, p. 1068-1072, Nov 2018.

SCHWELLNUS, M. P. *et al.* Serum electrolyte concentrations and hydration status are not associated with exercise associated muscle cramping (EAMC) in distance runners. **Br J Sports Med**, v. 38, n. 4, p. 488-492, Aug 2004.

SHERK, V. D. *et al.* Calcium supplementation attenuates disruptions in calcium homeostasis during exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 49, n. 7, p. 1437-1442, Jul 2017.

SHUSHAKOV, V. *et al.* The relationships between plasma potassium, muscle excitability and fatigue during voluntary exercise in humans. **Exp Physiol**, v. 92, n. 4, p. 705-715, Jul 2007.

SORIA, M. *et al.* Plasma levels of trace elements and exercise induced stress hormones in well-trained athletes. **J Trace Elem Med Biol**, n. 31, p. 113-119, 2015.

SORIA, M.; ANSON, M.; ESCANERO, J. F. Correlation analysis of exercise-induced changes in plasma trace element and hormone levels during incremental exercise in well-trained athletes. **Biol Trace Elem Res**, v. 170, n. 1, p. 55-64, Mar 2016.

SPEICH, M.; PINEAU, A.; BALLEREAU, F. Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. **Clin Chim Acta**, v. 312, n. 1-2, p. 1-11, Oct 2001.

STANISZEWSKI, K. *et al.* Serum Analysis in Patients with Temporomandibular Disorders: A Controlled Cross-Sectional Study in Norway. **Pain Res Manag**, Oct, 2019.

TABBAA, A. *et al.* Low serum potassium levels associated with disease severity in children with nonalcoholic fatty liver disease. **Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr**, v. 18, n. 3, p. 168-174, Sep 2015.

TAKAGI, R. *et al.* Past injurious exercise attenuates activation of primary calcium-dependent injury pathways in skeletal muscle during subsequent exercise. **Physiological Reports**, v. 6, n. 6, e13660–, Mar 2018. DOI:10.14814/phy2.13660.

TAN, D.; DAWSON, B.; PEELING, P. Hemolytic effects of a football-specific training session in elite female players. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 7, n. 3, p. 271-276, Sep 2012.

THORSEN, K. *et al.* Effects of moderate endurance exercise on calcium, parathyroid hormone, and markers of bone metabolism in young women. **Calcif Tissue Int**, v. 60, n. 1, p. 16-20, Jan 1997.

TRACE ELEMENTS AND METALS. *In: LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. Bethesda (MD), 2012.

TRACE ELEMENTS AND METALS. Clinical and research information on drug-induced liver injury. *In: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases: LiverTox*. Bethesda (MD), 2012.

TREMBLAY, M. S. *et al.* New canadian physical activity guidelines. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 36, n. 1, p. 36-58, Feb 2011.

TSANTOULAS, C. Emerging potassium channel targets for the treatment of pain. **Curr Opin Support Palliat Care**, v. 9, n. 2, p. 147-154, Jun 2015.

VINCENT, J. B.; LUKASKI, H. C. Chromium. **Adv Nutr**, v. 9, n. 4, p. 505-506, Jul, 2018.

VOLPE, S. L. *et al.* Effect of maximal exercise on the short-term kinetics of zinc metabolism in sedentary men. **Br J Sports Med**, v. 41, n. 3, p. 156-161, Mar 2007.

WANG, C. *et al.* Metalloimmunology: The metal ion-controlled immunity. **Adv Immunol**, n. 145, p. 187-241, 2020.

WANG, G. Chloride flux in phagocytes. **Immunol Rev**, v. 273, n. 1, p. 219-231, Sep 2016.

WANG, L. *et al.* Effects of high-intensity training and resumed training on macroelement and microelement of elite basketball athletes. **Biol Trace Elem Res**, v. 149, n. 2, p. 148-154, Nov 2012.

WANG, W. *et al.* Renal inflammation is modulated by potassium in chronic kidney disease: possible role of Smad7. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 293, n. 4, p. F1123-1130, Oct 2007.

WILSON, J. R.; KAPOOR, S. C.; KRISHNA, G. G. Contribution of potassium to exercise-induced vasodilation in humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 77, n. 6, p. 2552-2557, Dec 1994.

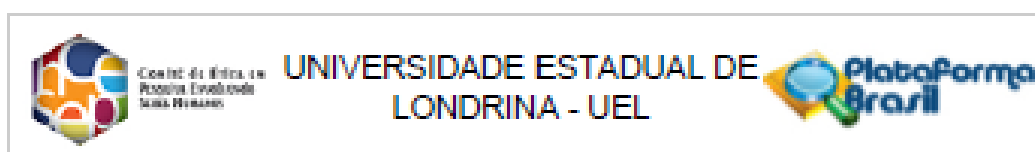
WINTER, W. E.; BAZYDLO, L. A.; HARRIS, N. S. The molecular biology of human iron metabolism. **Lab Med**, v. 45, n. 2, p. 92-102, Spring 2014.

WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. **Free Radic Biol Med**, v. 29, n. 5, p. 403-409, Sep 1 2000.

ZORBAS, Y. G.; NAEXU, K. A.; FEDERENKO, Y. F. Blood serum biochemical changes in physically conditioned and unconditioned subjects during bed rest and chronic hyperhydration. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 19, n. 2, p. 137-145, Feb, 1992.

ANEXOS

ANEXO A - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da fototerapia na adaptação ao exercício repetido

Pesquisador: Solange de Paula Ramos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 87870618.7.0000.5231

Instituição Proponente: Departamento de Histologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.650.252

Apresentação do Projeto:

Sujeitos submetidos a exercício repetido não habituados e de caráter excêntrico como o salto pilométrico apresentam danos às estruturas do sarcômero provocando dor muscular de acometimento tardio (DOMS), resposta inflamatórias localizadas, aumento dos níveis de creatina quinase circulantes e redução do desempenho físico. Uma estratégia que pode reduzir os danos provocados pela primeira sessão de exercício é a fototerapia com diodos emissores de luz (LEDT - light-emmiting diodes). No entanto, não existem estudos que investiguem efeito da fototerapia sobre o Efeito do Exercício Repetido especificamete em marcadores de dano muscular, desempenho e Infamação, após exercício pilométrico. Dessa forma, o objetivo do presente estudo é avaliar o efeito da fototerapia com diodos emissores de luz (630 nm e 940 nm) sobre a adaptação ao exercício repetido em sujeitos submetidos ao exercício de saltos pilométricos. Para tanto, 45

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5465 E-mail: cep200@uel.br



Conselho de Inovação e
Pesquisa Desenvolvida
pela Pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.650.252

Indivíduos,

convitados por telefone do gênero masculino, leucodermas, 18 a 35 anos e fisicamente ativos serão submetidos a duas sessões de 100 saltos pliométricos, com intervalo de 14 dias entre elas. Para identificar o efeito

da fototerapia, serão coletadas amostras sanguíneas para análise de creatina quinase e inflamação; dor muscular de acometimento tardio (DOMS); e desempenho nos saltos verticais com contramovimento e agachamento antes, imediatamente após o exercício de saltos pliométricos, após 24 h,

48 h e 72 h. Os sujeitos serão aleatorizados em 3 grupos: fototerapia à 630 nm; fototerapia à 940 nm e grupo placebo, de modo que, a aplicação da

fototerapia se dará apenas no primeiro dia de experimento, anteriormente aos saltos pliométricos. Em suma este projeto tem como hipótese Hipótese:

A fototerapia diminuirá o dano muscular provocado pela primeira sessão de exercício, mas não inibirá a adaptação ao exercício repetido.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito da fototerapia com diodos emissores de luz (630 nm e 940 nm) sobre a adaptação ao exercício repetido em sujeitos submetidos ao exercício de saltos pliométricos.

Objetivo Secundário:

Identificar o comprimento de onda (vermelho ou infravermelho) com maior potencial de prevenir o dano muscular induzido por exercício. Avaliar se a aplicação da fototerapia interfere sobre o processo de adaptação ao exercício repetido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: De acordo com a pesquisadora os procedimentos de salto pliométrico podem provocar fadiga, sendo necessário aumentar o tempo de intervalo entre as séries. Caso o sujeito reporte dor nas articulações ou qualquer desconforto articular o protocolo de saltos será interrompido. Os

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5465

E-mail: oep250@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisas Envolvendo
Seres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.050.252

procedimentos de coleta de sangue podem

provocar desconforto no local da punção, como formação de edema e hematomas, sem comprometer a função muscular e articular. Caso ocorra formação de hematoma no local da punção, o sujeito será orientado a aplicar bolsa de água fria no local, por 3 dias consecutivos, durante 10 minutos, de forma intermitente para diminuir o desconforto local. Após 3 dias, será orientado a aplicar bolsa de água morna, para facilitar a remoção de hematoma residual.

Benefícios: benefícios esperados são determinar qual procedimento de fototerapia promove melhor proteção contra o dano muscular induzido por exercício pilométrico. Determinar se a fototerapia inibe ou promove melhorias na adaptação muscular do tipo efeito de exercício repetido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto devidamente assinada;
- Cronograma adequado
- Orçamento adequado e justificado.
- autorização de co-participante devidamente assinada (academia onde será realizada a pesquisa).
- TCLE em linguagem clara, em forma de convite, com os objetivos da pesquisa, riscos e benefícios esclarecidos.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

Este é seu parecer final de aprovação, vinculado ao Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina. É sua responsabilidade imprimi-lo para apresentação aos órgãos e/ou instituições pertinentes.

Coordenação CEP/UEL.

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-8466

E-mail: cep200@uel.br



Conselho de Ensino, de
Pesquisa e Desenvolvimento
SALA 1004/10

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.650.252

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1119290.pdf	26/04/2018 17:10:59		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Fototerapia.docx	26/04/2018 17:10:15	Solange de Paula Ramos	Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE.docx	26/04/2018 17:08:51	Solange de Paula Ramos	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	resposta_parecer.docx	26/04/2018 17:07:36	Solange de Paula Ramos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao.pdf	17/04/2018 15:50:43	Solange de Paula Ramos	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	EDGE.pdf	17/04/2018 15:50:22	Solange de Paula Ramos	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	17/04/2018 15:47:59	Solange de Paula Ramos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 11 de Maio de 2018

Assinado por:

Alexandrina Aparecida Maolei Cardelli
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep200@uel.br