



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Bruno Laerte Lopes Ribeiro

**EFEITO DA PRIVAÇÃO PARCIAL DE SONO NA RECUPERAÇÃO AGUDA DO
MÚSCULO ESQUELÉTICO, NA DOR PERCEBIDA E NAS CITOCINAS PRÓ-
INFLAMATÓRIAS APÓS A REALIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE DANO
MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO.**

2022

BRUNO LAERTE LOPES RIBEIRO

Projeto de tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPGCSA-UFRN, como requisito parcial para o ingresso no curso de Doutorado.

Área de concentração: Ciências da Saúde

Linha de pesquisa: SAÚDE HUMANA E CUIDADO DAS PESSOAS

Orientador: Prof. Dr. Eryvaldo Socrates Tabosa do Egito

Co-Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Luis Mortatti

NATAL - RN

2022

IDENTIFICAÇÃO DO PESQUISADOR:

Nome do Pesquisador: Bruno Laerte Lopes Ribeiro

Função: Estudante de Pós-Graduação

Endereço de Contato: Avenida Abel Cabral, 577, complemento 1104 B, Bairro: Nova Parnamirim, Cidade: Parnamirim, Estado: RN.

Telefones de contato: (84) 99992-8895

Email de contato: contatobrunoribeiro@outlook.com.br

Currículo Lattes: Sim

Link: <http://lattes.cnpq.br/1475037355457743>

IDENTIFICAÇÃO DO ORIENTADOR:

Nome do Orientador: Eryvaldo Socrates Tabosa do Egito

Função: Prof. Dr. do Departamento de Farmácia

Local de Trabalho: Departamento de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN.

Endereço de contato: Av. Sen. Salgado Filho, 3000 Campus Universitário Lagoa Nova Natal – RN.

Telefones de contato: (84) 99193-6160

Email de contato: socrates@ufrnet.br

Currículo Lattes: Sim

Link: <http://lattes.cnpq.br/6907806915889763>

IDENTIFICAÇÃO DO CO-ORIENTADOR:

Nome do Orientador: Arnaldo Luis Mortatti

Função: Prof. Dr. do Departamento de Educação Física.

Local de Trabalho: Departamento de Educação Física – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN.

Endereço de contato: Av. Sen. Salgado Filho, 3000 Campus Universitário Lagoa Nova Natal – RN.

Telefones de contato: (84) 996068885

Email de contato: amortatti@gmail.com

Currículo Lattes: Sim

Link: <http://lattes.cnpq.br/2948816921491767>

ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA:

Abordagem dos sujeitos: Os participantes serão recrutados através de informes em redes sociais e por email, enviados pelo pesquisador responsável, caso se enquadrem dentro dos critérios de inclusão, os participantes serão convidados a comparecer ao laboratório (GEPEFIC/UFRN/DEF), para serem instruídos sobre os procedimentos da pesquisa e caso concordem em participar, o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) será fornecido.

Análise de desconfortos:

As análises que serão realizadas nos voluntários da pesquisa se referem ao comportamento habitual de sono, análise de torque muscular, dano muscular, citocinas inflamatórias em situação de privação e não privação de sono, além da tolerância a dor muscular. Todos esses métodos de avaliação possuem validade científica e apresentam risco mínimo a saúde do indivíduo, se realizado apenas de maneira aguda, como se apresenta o desenho do presente estudo.

Benefícios aos sujeitos da pesquisa:

Os sujeitos serão orientados sobre hábitos de higiene do sono, bem como, sobre a participação em programas de exercício físico através de uma consulta com o pesquisador responsável pela pesquisa, além disso, receberão uma avaliação de composição corporal realizada por absorimetria de raios x de dupla energia (DEXA) e um relatório sobre o padrão de sono.

Informes gerais:

Os participantes desta pesquisa não receberão nenhum tipo de ajuda de custo para a coleta de dados, a não ser os resultados individuais de cada avaliação realizada.

Medidas de monitoramento:

As fichas de coleta de dados que serão preenchidas com o nome do sujeito serão numeradas e a partir desse momento não há mais a sua identificação, preservando, portanto, sua privacidade, de acordo com as normas da Declaração de Helsinki de 1964. A identificação só será feita pelo responsável pela pesquisa, a fim de disponibilizar os resultados dessas avaliações a aqueles sujeitos que se interessarem. Será determinado e constarão no TCLE que a identificação das

informações coletadas não será exposta em nenhuma hipótese em conclusões e/ou publicações dos seus resultados. Por se tratar de dados individuais, após a conclusão desta pesquisa, os resultados serão disponibilizados: (1) para aqueles sujeitos que se interessarem pelos resultados e; (2) se os valores obtidos nas avaliações forem discrepantes em relação aos valores considerados normais pela literatura. Assim, essa pesquisa se enquadra nas “Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos” (Resolução 196/96), editada pela Comissão Nacional de Saúde.

Resumo informativo

Introdução: Sabe-se que alterações no padrão de sono, por privação ou distúrbios, são determinantes para que haja mudanças nas secreções de citocinas inflamatórias, o que pode estar relacionado com o processo de recuperação muscular.

Objetivo: Analisar o efeito da privação de sono sobre o processo de reparação do dano muscular induzido por exercício resistido.

Metodologia: Serão recrutados 20 sujeitos, posteriormente instruídos a utilizar um actígrafo no braço não dominante, durante uma semana, sempre ao início do seu horário habitual de sono, além disso, os participantes receberão um diário de sono que deverá ser preenchido com o horário de início do sono e o horário de despertar ao longo do período de avaliação. No primeiro momento, os sujeitos serão conduzidos a uma visita ao laboratório (GEPEFIC/DEF/UFRN), onde serão realizadas análises de base (baseline) a cerca de edema muscular do bíceps braquial, através do uso da ultrassonografia, coleta de amostras sanguíneas, avaliação da percepção subjetiva de dor, através da algometria e avaliação do pico de torque isométrico, para posteriormente, serem submetidos ao protocolo de dano muscular no bíceps braquial. Após as primeiras análises ocorrerem, os sujeitos serão privados em 50% do seu tempo total de sono habitual, nas duas noites subsequentes as avaliações, e serão reavaliados em um período de 24 e 48 horas. A terceira etapa ocorrerá com um intervalo de uma semana após a execução da etapa anterior. O protocolo a ser realizado nesta etapa será igual ao da 2ª etapa, porém, o avaliado irá realizar todos os procedimentos com o membro contralateral ao utilizado na segunda etapa e não realizará a privação parcial do sono nas duas noites subsequentes a execução dos protocolos de avaliação e dano muscular.

Resultados e Impactos Esperados: Espera-se que o processo de recuperação do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico possa ser influenciado pela privação parcial de sono nas primeiras 48 horas após o início do processo de recuperação.

1. Introdução

O exercício é um estímulo com capacidade de promover dano nas fibras musculares, pois o estresse mecânico resultante do alongamento muscular sob tensão e o estresse metabólico durante o exercício, parecem ser fatores determinantes para que haja danificação das proteínas musculares (Tee, 2009; Markus et al, 2021). Dessa forma, é necessário compreender que o dano muscular induzido por exercício é uma condição que pode gerar algumas respostas agudas e transitórias, como a dor muscular de início tardio, edema, redução de amplitude de movimento, e o efluxo de substâncias enzimáticas e proteínas miocelulares (Creatina Quinase e mioglobina) (Hyldahl e Hubal, 2014).

Assim, ao relacionar o dano muscular ao exercício, é importante compreender que o treinamento de força é uma das principais maneiras de induzir o dano muscular, principalmente quando ações excêntricas são priorizadas durante as sessões de treinamento, visto a capacidade de gerar um maior grau de alongamento ativo dos sarcômeros e a utilização de cargas mais elevadas quando comparadas as ações concêntricas, pode gerar uma maior perturbação aos elementos contrateis nos elementos contráteis do músculo (Newham et al, 1983; Enoka, 1996). Portanto, é necessário compreender que estratégias de recuperação do tecido muscular e das suas funções sejam implementadas na rotina de pessoas praticantes de exercícios físicos.

Atualmente, a literatura tem demonstrado várias técnicas para a recuperação do dano muscular induzido por exercício, tais como, massagens, imersão em água com baixa temperatura, estratégias nutricionais e farmacológicas (Myburgh, 2014; Leeder et al, 2012; Crane et al, 2012; MacKey et al, 2016), dentre todas essas estratégias, o sono surge como uma estratégia importante para a recuperação pós exercício, portanto, esse é um ponto que necessita ser melhor explorado em pesquisas científicas (Peake et al, 2017).

O sono tem sido definido como um estado de responsividade reduzida da atividade motora e metabólica, porém, com rápida reversibilidade, o que gera distinção do coma ou anestesia (Abrams, 2015), ademais, o sono é considerado um fator preponderante para uma série de funções importantes que ocorrem no organismo, tais como, a consolidação do desenvolvimento de habilidades e aprendizado (Sewell et al, 2021), metabolismo lipídico e glicolítico (Poggiogalle, Jamshed e Peterson, 2018; Kothari et al, 2020) comportamento alimentar (Budkevich et al, 2021),

secreções hormonais (Leprout e Van Cauter, 2010) e atividade do sistema imune (Santos, Thomatieli e Mello, 2007).

Sabe-se também, que o sono possui um importante papel no controle dos marcadores inflamatórios, visto que a privação de sono, mesmo que parcial (cerca de 4 horas por noite), apresenta aumento agudo nas taxas séricas de citocinas inflamatórias, como, Interleucina-1, interleucina-6 e proteína C reativa (Irwin et al, 2006; Meier-Ewert et al, 2004; Van Leeuwen et al, 2009), essas respostas inflamatórias são dependentes de outros fatores, e um deles é o nível de atividade do sujeito durante o dia, sugerindo que o exercício pode ser um fator somatório para o aumento da inflamação (Mullington et al, 2010).

No que se refere a relação entre o sono e o exercício físico, observa-se que muitos estudos estão relacionados a com as respostas de atletas à privação de sono e seus efeitos deletérios sobre as funções cognitivas e de desempenho físico específico da modalidade esportiva praticada (Thun, 2015; Bonnar et al, 2018), não levando em consideração que o treinamento físico pode gerar dano muscular e inflamação nos participantes, e essa resposta inflamatória, quando mal recuperada, pode gerar efeitos negativos sobre a performance das capacidades físicas (Clarckson et al, 2002).

Portanto, entendendo o papel do exercício sobre o dano muscular, é necessário compreender como o sono pode influenciar nas respostas do organismo ao dano muscular. Nesse contexto, o estudo de Dáttillo et al. (2020), demonstra que a privação total de sono por 48 horas, após dano muscular induzido por ações excêntricas, aumentou os níveis séricos de interleucina-6 (citocina pró-inflamatória), indicando que o processo inflamatório dos avaliados foi prolongado quando comparado a uma situação de ausência de privação de sono.

Um importante fator que deve ser levado em consideração é o processo de recuperação estrutural das células musculares após um protocolo de dano induzido por exercício com privação de sono subsequente e, nesse sentido, Mônico-Neto et al. (2017) promoveram um protocolo de privação parcial de sono em ratos, no qual foi observado, através do uso de biópsia, que os ratos privados de sono tiveram uma pior recuperação das células musculares, associado a uma menor redução de citocinas inflamatórias após o protocolo de dano muscular.

Finalmente, pode-se notar uma ausência de estudos que englobem o efeito causado pela privação total e/ou parcial de sono nas respostas morfológicas ao dano muscular induzido pelo exercício, Assim, a literatura tem apresentado apenas

hipóteses sobre esta temática, em que possivelmente o sono possa ser um fator auxiliar no processo de recuperação das células musculares (Dattilo et al, 2011). Portanto, visto que privações parciais do sono, devido aos compromissos sociais e profissionais, são comumente encontrados na população em geral (Grandner, 2017), avaliar o efeito dessa redução no tempo de sono, após a realização de exercícios que promovam dano muscular, parece ser uma questão importante a ser elucidada. Assim, este estudo visa analisar o se a privação parcial de sono pode influenciar na recuperação do dano muscular e nas respostas inflamatórias de adultos jovens.

2. Justificativa

A literatura tem sido consensual ao demonstrar a importância do sono enquanto processo fisiológico, visto a sua associação a recuperação de diversos sistemas no organismo humano, como a restauração de vias metabólicas (driver, 2010), liberação de hormônios (Leprout e Van Cauter, 2010; Arnal, 2019), restauração da fadiga (Van Laethem, 2017; Mello, 2000), além de aspectos relacionados a funções cognitivas que também são afetados pelo sono insuficiente (Rossa, 2014; Killgore, 2010).

No que se refere a relação entre o sono e o exercício físico, pode-se observar que mesmo períodos curtos de privação de sono (uma noite de sono parcialmente privada), podem influenciar negativamente na recuperação de uma única sessão de exercício (Rae, Chin e Dikgomo, 2017; Chase et al, 2017), porém, embora os diversos aspectos relacionados a recuperação do desempenho de capacidades físicas e cognitivas na condição de privação de sono sejam bem apresentados (Charest e Grandner, 2020; Vitale et al, 2019), ainda é necessário uma melhor compreensão acerca de como o sono pode ser um fator determinante no processo de recuperação do músculo esquelético e após o exercício físico.

Atualmente existe uma lacuna de estudos que avaliem se a privação parcial de sono pode influenciar de maneira negativa na recuperação do tecido muscular esquelético. Embora haja especulação sobre esse processo de recuperação (Dattilo et al, 2011) não está claro como a privação parcial de sono pode afetar as respostas fisiológicas e morfológicas ao dano muscular induzido pelo exercício. Portanto, é necessário compreender como a privação parcial do sono pode influenciar na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício e compreender a cinética de recuperação do músculo esquelético em humanos durante essa condição, visto a

importância de se compreender os processos de recuperação muscular, por ser um importante parâmetro de saúde.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Analisar o efeito da privação parcial de sono sobre o processo de reparação do dano muscular induzido por exercício excêntrico.

2.2. Objetivos específicos

- Compreender a cinética dos marcadores bioquímicos relacionados ao dano muscular após a realização de um protocolo de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico, seguido de duas noites de privação parcial de sono.
- Analisar o comportamento da percepção de dor muscular de início tardio após a realização de um protocolo de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico, seguido de duas noites de privação parcial de sono.
- Observar o processo de recuperação do dano muscular a nível morfológico após a realização de um protocolo de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico, seguido de duas noites de privação parcial de sono.

3. Hipótese

O presente estudo possui como hipótese substancial que, nos indivíduos privados de sono, haverá uma maior resposta inflamatória, bem como, uma recuperação do tecido muscular prejudicada com maiores valores de percepção de dor muscular nos períodos de 24 e 48 horas após terem sido submetidos a um protocolo de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico.

A suposição hipotética deste estudo se baseia em estudos realizados tanto em modelo animal como em humanos (Dáttilo, 2020; Mônico-Neto, 2017), porém, que não trazem respostas suficientes sobre o processo de recuperação morfológica do tecido muscular após o dano induzido por exercício e privação de sono subsequente.

4. Metodologia

4.1 Tipo de estudo

O presente estudo trata-se de um ensaio clínico randomizado e cruzado.

4.2 Amostra e delineamento do estudo

Para detectar um tamanho de efeito de 0,8 (d de Cohen) na análise do dano muscular (avaliado por análise de citocinas pró-inflamatória) após um protocolo de dano muscular, considerando o nível de significância de 5% e uma probabilidade de 95%. Antecipando uma taxa de 20% de perda amostral dos participantes, o número amostral mínimo estimado será de 16 participantes, com idade entre 18 e 35 anos, que não estejam engajados em programas de treinamento resistido nos 6 meses anteriores a pesquisa. Todos os cálculos foram realizados através do GPower 3.1.9.2 (Universität Düsseldorf, Alemanha). Dessa forma, o estudo será dividido em três etapas:

1ª Etapa: Os sujeitos serão instruídos a utilizar um actígrafo no braço não dominante, durante uma semana, sempre ao início do seu horário habitual de sono, além disso, os participantes receberão um diário de sono que deverá ser preenchido com o horário de início do sono e o horário de despertar ao longo do período de avaliação.

2ª Etapa: No primeiro momento, os sujeitos serão conduzidos a uma visita ao laboratório (GEPEFIC/DEF/UFRN), onde serão realizadas análises de edema muscular do bíceps braquial através do uso da ultrassonografia, coleta de amostras sanguíneas, avaliação da percepção subjetiva de dor através da algometria, avaliação do pico de torque isométrico e por fim, serão submetidos ao protocolo de dano muscular no bíceps braquial.

Após as primeiras análises ocorrerem, os sujeitos serão privados em 50% do seu tempo total de sono habitual, nas duas noites subsequentes as avaliações, e serão reavaliados em um período de 24 e 48 horas, como pode-se observar na figura 1.

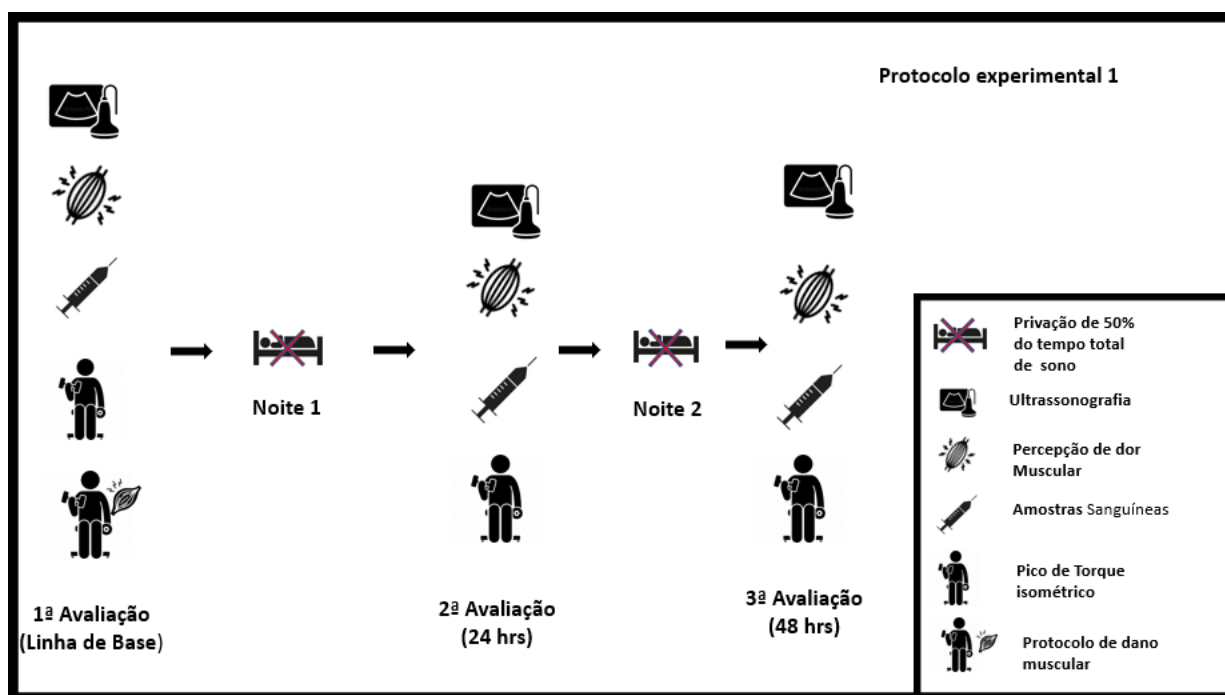


Figura 1: Protocolo experimental com privação parcial de sono

3ª Etapa: A terceira etapa ocorrerá com um intervalo de uma semana após a execução da etapa anterior. O protocolo a ser realizado nesta etapa é igual ao da 2ª etapa, porém, o avaliado irá realizar todos os procedimentos com o membro contralateral ao utilizado na segunda etapa e não será privado de sono nas noites subsequentes a execução dos protocolos de avaliação e dano muscular, como pode-se observar na figura 2.

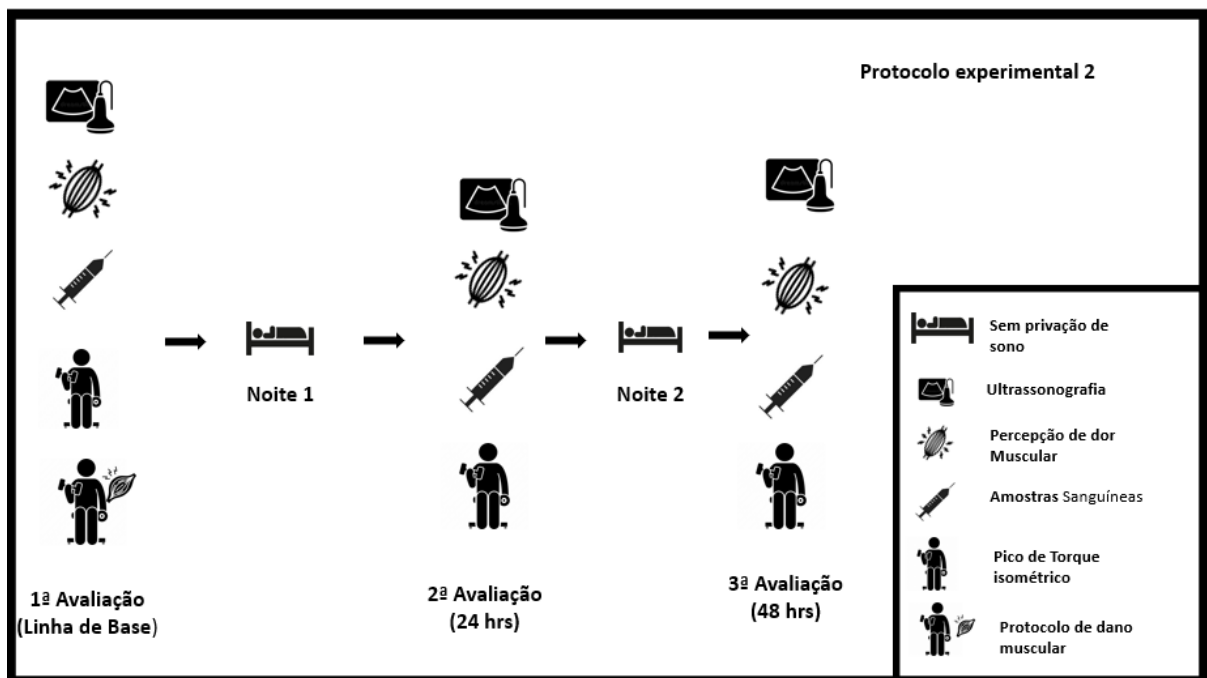


Figura 2. Protocolo experimental sem privação de sono.

4.3 Critérios de Inclusão:

Serão incluídos os participantes com base nos seguintes critérios:

- Homens adultos com idade entre 18 e 35 anos;
- Os sujeitos devem estar a pelo menos 6 meses sem ter engajamento em programas de treinamento de força ou não terem tido experiência anterior com treinamento resistido;
- Ausência de lesões musculares ou osteoarticulares, que impeçam a realização dos protocolos de avaliação;

4.3.1 Critérios de exclusão:

- Sujeitos que não façam uso de farmacológicos que auxiliem a indução do sono, substâncias estimulantes, psicotrópicos e medicações anti-inflamatórias;

- Sujeitos com índice de massa corporal acima de 24,9 Kg/m² serão excluídos da pesquisa, ou com percentual de gordura corporal acima de 25%, após avaliação feita por DXA (Oliveros et al, 2014);
- Os indivíduos que não cumprirem o protocolo de privação de sono durante o período de restrição, ou que não conseguirem dormir de acordo com o padrão de sono anterior ao início do protocolo experimental durante o período de ausência de privação de sono serão excluídos.

4.4 Avaliações

4.4.1. Avaliação do sono

Para o monitoramento do sono, cada sujeito receberá um acelerômetro Actigraph wGT3X-BT (Actigraph LLC Pensacola, FL, EUA) para usar no pulso do membro superior não dominante durante as três noites de sono ao longo do período do estudo. Essa região do corpo foi escolhida porque a actigrafia de pulso demonstrou ser um meio útil e válido para estimar o tempo total de sono e a vigília após o início do sono em estudos de campo (MARINO et al., 2013) e foi adequadamente validada, apresentando alta taxa de concordância com a polissonografia (SARGENT et al., 2016).

Além disso, cada sujeito receberá também um diário de sono, para que seja registrado o horário que foram dormir e o horário que despertaram. O sono será avaliado durante uma semana, anteriormente a execução do protocolo de dano muscular e suas análises subsequentes.

As variáveis Bedtime, Total Time in Bed (TTB), Total Sleep Time (TST), Sleep Latency (SL), Wake After Sleep Onset (WASO) e Sleep Efficiency (SE) serão estimadas a partir dos dados de acelerometria em epochs de 60 segundos e utilizando o algoritmo de Cole-Kripke no software ActLife versão 6.13.3 (Actigraph LLC Pensacola, FL, EUA) no qual são inseridos os períodos em que os avaliados dormiram, de acordo com o diário de sono (COLE et al., 1992).

Durante a privação de sono, os indivíduos irão manter a utilização do actígrafo, porém, serão privados em 50% do seu tempo total de sono habitual, registrado durante a linha de base, para que não haja maiores prejuízos aos hábitos de sono dos participantes, os mesmos continuarão dormindo em suas residências, no entanto, o pesquisador responsável pela pesquisa irá manter contato periodicamente com os avaliados, por ligações telefônicas ou mensagens de texto durante os dias em que haja a privação de sono. Na semana seguinte, os sujeitos não terão necessidade de privação de sono, apenas da utilização do actígrafo.

4.4.2 DXA

A avaliação da composição corporal será realizada através da Absorimetria radiológica de dupla energia (DEXA) (Lunar®/G.E. PRODIGY – LNR 41.990). Serão avaliados os componentes da composição corporal (massa magra, gorda e percentual de gordura), com o participante deitado em posição de decúbito dorsal devendo permanecer com os joelhos estendidos, sendo orientados a não se mexer durante o processo de escaneamento, que ocorrerá em aproximadamente 10 minutos. Os dados escaneados serão direcionados à um computador diretamente ligado ao DXA. O Software utilizada para análise das variáveis será o Encore 10.1. As avaliações serão realizadas por um único avaliador, qualificado para o manuseio do DXA

4.4.2 Protocolo de dano muscular

Os participantes da pesquisa serão submetidos a quatro sessões experimentais, utilizando o dinamômetro isocinético (Biodex-System 3; Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY), ajustado para 45°, com 0 graus representando a extensão completa do cotovelo.

Na primeira sessão (Linha de base), os indivíduos serão orientados a realizar uma contração máxima, durante cinco segundos, com três tentativas de descanso de um minuto entre cada tentativa.

Na segunda sessão, os sujeitos serão submetidos a um protocolo de dano muscular que consistirá na realização de cinquenta repetições isocinéticas máximas (com ação muscular excêntrica) para os flexores de cotovelo, com velocidade de contração será de 30 graus por segundo, divididas em cinco séries de dez repetições, com um minuto de intervalo entre cada série, ressaltando que apenas um dos membros será submetido ao protocolo durante as avaliações (Aaron,

Delgado-Díaz e Kostek, 2017). O protocolo executado na linha de base será repetido 24 e 48 horas após o dano muscular.

Para garantir a estabilidade dos sujeitos durante a execução do movimento de extensão dos cotovelos, os sujeitos serão fixados a o aparelho isocinético através de cintas que serão colocadas na cintura, sobre os ombros e levemente sobre os braços dos indivíduos.

Os participantes serão encorajados verbalmente a resistir a extensão de cotovelo forçada pelo dinamômetro, e após cada contração, o dinamômetro irá automaticamente mover o braço de alavanca de volta para o ponto de partida, sem que haja esforço concêntrico.

Após a finalização dos protocolos de dano muscular e avaliação de pico de torque isocinético, os sujeitos irão repetir as mesmas ações, porém com um intervalo de uma semana e utilizando o membro contralateral.

Finalmente, é importante ressaltar que apenas um avaliador irá conduzir todo o protocolo experimental, a fim de garantir a consistência da avaliação.

4.4.3 Percepção subjetiva de dor

A intensidade da dor muscular será avaliada através de uma escala analógica visual de dor, que corresponde a uma linha de 100 mm, no qual os participantes serão instruídos a marcar no ponto em que represente a sua intensidade percebida de dor nesse momento.

Para que a avaliação da dor possa ocorrer, será utilizado um algômetro de pressão, com extremidade de borracha de 1 cm de diâmetro para aplicar os estímulos mecânicos dolorosos gradualmente com uma pressão de $\sim 1 \text{ kg/cm}^2/\text{s}$ (algômetro para teste de dor, Modelo FDX, Wagner Instruments®, EUA).

O avaliado estará sentado em um suporte acolchoado, com o ombro abduzido a 90° , e o cotovelo em extensão, deixando o braço apoiado sobre o suporte. O algômetro será pressionado em três pontos anatômicos (1) Junção músculo-tendínea proximal (2) Porção média do bíceps braquial (3) Junção músculo-tendínea braquial, até que o sujeito relate a maior a dor tolerável. Três tentativas serão realizadas para cada um dos pontos, as duas últimas serão registradas (Fischer, 1987). As avaliações irão ocorrer em três momentos: Antes do início do protocolo de dano muscular (Linha de base), após 24 horas e após 48 horas. Este protocolo se repetirá com o intervalo de uma semana, porém, no membro contralateral.

4.4.4 Ultrassonografia

Para a avaliação do edema muscular induzido pelo exercício, serão observadas as variáveis de ângulo de penetração e espessura das fibras musculares avaliadas, utilizando-se do aparelho de imagens de ultrassom (US, Mysono U6 EX; Samsung-Medison, Coréia), para a análise do músculo bíceps braquial.

As imagens serão obtidas após os sujeitos ficarem quinze minutos em repouso, na posição de decúbito dorsal de maneira relaxada, com o braço completamente relaxado e o cotovelo em extensão. Assim, uma sonda linear de 7,5 MHz (LN5-12; Samsung-Medison, Coréia), será utilizada para captar as imagens, revestidas por gel de transmissão, para proporcionar o contato acústico sem contato dérmico. O ponto de referência para avaliação de imagens será de 50% da distância entre o acrômio e o epicôndilo lateral do cotovelo.

A sonda posicionada de maneira longitudinal as fibras e as imagens sequenciais serão adquiridas com penetração de 6 cm de profundidade. A área de secção transversa será considerada com o deslocamento longitudinal da sonda na área do bíceps braquial. O ângulo de penetração será medido como o ponto de interseção de um fascículo com a aponeurose muscular profunda. Para garantir a confiabilidade das medidas, serão analisadas três imagens consecutivas do ponto anatômico avaliado. De acordo com Alvarez et al (2019), o erro de medida e coeficiente de variação da espessura muscular avaliada por ultrassonografia é de 0,074 cm e 0,039% respectivamente, para o ângulo de penetração observou-se 0,67° e 0,035%, essas informações podem ser utilizadas como estimativas para a confiabilidade do instrumento e futuramente serão analisadas no presente estudo após a coleta e tratamento dos dados.

4.4.5 Análises Bioquímicas

Antes do início do protocolo de dano muscular, um cateter intravenoso será inserido e fixado na veia ante cubital e um avaliador capacitado profissional de Enfermagem será responsável por retirar amostras de sangue dos sujeitos. As amostras de sangue serão obtidas antes do protocolo de dano muscular, 2 horas após o protocolo de dano muscular, 24 horas e 48 horas após o protocolo de dano muscular em ambas as condições experimentais (com ou sem privação de sono).

As amostras de sangue serão armazenadas e centrifugadas imediatamente a 4°C durante dez minutos, para que haja a separação do plasma do soro ou mantido

em temperatura ambiente por 90 minutos, antes de ser centrifugado a 20°C, para ser posteriormente armazenados a – 80°C.

Atividade da creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase será determinado por um ensaio de imunoinibição. S  rum citocinas IL-6 (HS600B), TNF-alfa (HSTA00D), IL-1beta (HSLB00C), IL-1ra (DRA00B) e IL-10 (HS100C) s  o medidos por um ensaio imunossorvente ligado a enzima (P&D Systems, Minneapolis, MN) (D  ttilo et al, 2020; Mohammadi, Afzalpour & Ievary, 2018).

4.4.6 An  lise Estat  stica

Ser   conduzido os testes de normalidade dos dados por meio da an  lise de z-score de assimetria e curtose (-1.96 a 1.96) e o teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, s  o aplicados os testes de compara  o entre grupos de acordo com a normalidade dos dados, caso os dados se apresentem como param  tricos ser   aplicado o teste de ANOVA two-way. As compara  es pontuais s  o verificadas com a corre  o a posteriori de Bonferroni. O Eta-quadrado parcial (η^2p) ser   utilizado para verificar o tamanho do efeito da intera  o entre as vari  ncias das vari  veis e o efeito do tempo em rela  o as interven  es (Modelo com priva  o de sono e sem priva  o de sono). Ser   adotado um valor de signific  ncia de 95% $p \leq 0,05$. Para an  lise dos dados, ser   utilizado o software SPSS 25 (IBM   SPSS   Statistics).

5. Cronograma

A tabela 1. representa o cronograma do presente projeto de pesquisa. O recrutamento dos participantes e todos os procedimentos de coleta dos dados apenas serão iniciados após a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal da UFRN.

Tabela 1.: Descrição das etapas cronológicas da pesquisa,

Atividades	2022		2023		2024		2025	
	Semestre		Semestre		Semestre		Semestre	
	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º
Atualização do referencial teórico								
Submissão/ Aprovação do projeto no CEP da UFRN								
Exame de Qualificação da tese de Doutorado								
Treinamento dos auxiliares de pesquisa								
Recrutamento dos voluntários								
Coleta dos Dados								
Análise dos Dados								
Redação final da tese de Doutorado								
Redação e submissão dos manuscritos								
Defesa da tese de Doutorado								

6. Orçamento

A tabela 2. apresenta o orçamento previsto para o desenvolvimento do presente projeto de pesquisa. Os materiais permanentes estão disponibilizados no Departamento de Educação da UFRN, enquanto que os materiais de consumo serão custeados em sua totalidade pelo pesquisador responsável.

Tabela 2.. Orçamento do projeto de pesquisa

MATERIAIS PERMANENTES			
Descrição			
Dinamômetro isocinético (Biodex - Medical Systems®)			
Aparelho de Ultrassom (U6 EX; Samsung-Medison®)			
DXA (Lunar®/g.e prodigy – Inr 41.990)			
Notebook (Positivo®)			
Impressora			
Actígrafos (GT3X - Actlife®)			
MATERIAIS DE CONSUMO			
Descrição	Quantidade	Valor Unit	Valor Total
Resma de papel A4	01	R\$ 25,00	R\$ 25,00
Fotocópias	100	R\$ 0,50	R\$ 50,00
Gel para ultrassom (5kg)	01	R\$ 50,75	R\$ 50,75
Creatina quinase (CK)	02	R\$ 200,00	R\$ 400,00
Lactato desidrogenase (LDH)	02	R\$ 2.950,00	R\$ 5.900,00
IL-6 (HS600B)	02	R\$ 3.500,00	R\$ 7.000,00
IL-1beta (HSLB00C)	02	R\$ 3.250,00	R\$ 6.500,00
IL-10 (HS100C)	02	R\$ 3.262,00	R\$ 6.564,00
TNF-alfa (HSTA00D)	02	R\$ 3.412,50	R\$ 6.825,00
Valor total			R\$ 33.314,00

7. Referências

1. AARON, Stacey E.; DELGADO-DIAZ, Diana C.; KOSTEK, Matthew C. Continuous ultrasound decreases pain perception and increases pain threshold in damaged skeletal muscle. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 27, n. 3, p. 271-277, 2017.
2. ABRAMS, Robert M. Sleep deprivation. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, v. 42, n. 3, p. 493-506, 2015.
3. ARNAL, Pierrick J. Slow wave sleep and steroid hormones. **Sleep medicine**, v. 53, p. 172-173, 2019.
4. BONNAR, Daniel et al. Sleep interventions designed to improve athletic performance and recovery: a systematic review of current approaches. **Sports medicine**, v. 48, n. 3, p. 683-703, 2018.
5. BUDKEVICH, Roman O. et al. Chronobiological traits predict the restrained, uncontrolled, and emotional eating behaviors of female university students. **Chronobiology International**, v. 38, n. 7, p. 1032-1041, 2021.
6. CHAREST, Jonathan; GRANDNER, Michael A. Sleep and athletic performance: impacts on physical performance, mental performance, injury risk and recovery, and mental health. **Sleep medicine clinics**, v. 15, n. 1, p. 41-57, 2020.
7. CHASE, John D. et al. One night of sleep restriction following heavy exercise impairs 3-km cycling time-trial performance in the morning. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 42, n. 9, p. 909-915, 2017.
8. CLARKSON, Priscilla M.; HUBAL, Monica J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, v. 81, n. 11, p. S52-S69, 2002.
9. COLE, Roger J. et al. Automatic sleep/wake identification from wrist activity. *Sleep*, v. 15, n. 5, p. 461-469, 1992.
10. CRANE, Justin D. et al. Massage therapy attenuates inflammatory signaling after exercise-induced muscle damage. **Science translational medicine**, v. 4, n. 119, p.13-19, 2012.
11. DATTILO, Murilo et al. Effects of sleep deprivation on acute skeletal muscle recovery after exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 52, n. 2, p. 507-514, 2020.
12. DATTILO, Murilo et al. Sleep and muscle recovery: endocrinological and molecular basis for a new and promising hypothesis. **Medical hypotheses**, v. 77, n. 2, p. 220-222, 2011.

13. ENOKA, Roger M. Eccentric contractions require unique activation strategies by the nervous system. **Journal of applied physiology**, v. 81, n. 6, p. 2339-2346, 1996.
14. FISCHER, Andrew A. Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity and reproducibility of pressure threshold. *Pain*, v. 30, n. 1, p. 115-126, 1987
15. FULLAGAR, Hugh HK et al. Sleep and recovery in team sport: current sleep-related issues facing professional team-sport athletes. **International journal of sports physiology and performance**, v. 10, n. 8, p. 950-957, 2015.
16. GRANDNER, Michael A. Sleep, health, and society. **Sleep medicine clinics**, v. 12, n. 1, p. 1-22, 2017.
17. HYLDAHL, Robert D.; HUBAL, Monica J. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. **Muscle & nerve**, v. 49, n. 2, p. 155-170, 2014.
18. IRWIN, Michael R. et al. Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation. **Archives of internal medicine**, v. 166, n. 16, p. 1756-1762, 2006.
19. KÖLLING, Sarah et al. Sleep monitoring of a six-day microcycle in strength and high-intensity training. **European Journal of Sport Science**, v. 16, n. 5, p. 507-515, 2016.
20. KOTHARI, Vallari et al. Sleep interventions and glucose metabolism: systematic review and meta-analysis. **Sleep Medicine**, v. 78, p. 24-35, 2021.
21. LEEDER, Jonathan et al. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. **British journal of sports medicine**, v. 46, n. 4, p. 233-240, 2012.
22. LEPROULT, Rachel; VAN CAUTER, Eve. Role of sleep and sleep loss in hormonal release and metabolism. **Pediatric Neuroendocrinology**, v. 17, p. 11-21, 2010.
23. MACKEY, Abigail L. et al. Activation of satellite cells and the regeneration of human skeletal muscle are expedited by ingestion of nonsteroidal anti-inflammatory medication. **The FASEB Journal**, v. 30, n. 6, p. 2266-2281, 2016.
24. MARINO, Miguel et al. Measuring sleep: accuracy, sensitivity, and specificity of wrist actigraphy compared to polysomnography. *Sleep*, v. 36, n. 11, p. 1747-1755, 2013.

25. MARKUS, I. et al. Exercise-induced muscle damage: Mechanism, assessment and nutritional factors to accelerate recovery. **European journal of applied physiology**, v. 121, n. 4, p. 969-992, 2021.
26. MEIER-EWERT, Hans K. et al. Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 43, n. 4, p. 678-683, 2004.
27. MELLO, Marco Tulio de et al. Sleep patterns and sleep-related complaints of Brazilian interstate bus drivers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 1, p. 71-77, 2000.
28. MOHAMMADI, Hossein; AFZALPOUR, Mohammad Esmail; IEVARY, Seyed Hossein Abtahi. Response of creatine kinase and lactate dehydrogenase enzymes to rest interval between sets and set-repetition configuration during bouts of eccentric exercise. **Interventional Medicine and Applied Science**, v. 10, n. 2, p. 83-86, 2018.
29. MÔNICO-NETO, Marcos et al. REM sleep deprivation impairs muscle regeneration in rats. **Growth Factors**, v. 35, n. 1, p. 12-18, 2017.
30. MULLINGTON, Janet M. et al. Sleep loss and inflammation. **Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism**, v. 24, n. 5, p. 775-784, 2010.
31. MYBURGH, Kathryn H. Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress? **Sports Medicine**, v. 44, n. 1, p. 57-70, 2014.
32. NEWHAM, D. J. et al. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. **Journal of the neurological sciences**, v. 61, n. 1, p. 109-122, 1983.
33. OLIVEROS, Estefania et al. The concept of normal weight obesity. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 56, n. 4, p. 426-433, 2014.
34. PEAKE, Jonathan M. et al. Recovery of the immune system after exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 5, p. 1077-1087, 2017.
35. POGGIOGALLE, Eleonora; JAMSHED, Humaira; PETERSON, Courtney M. Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. **Metabolism**, v. 84, p. 11-27, 2018.
36. RAE, Dale E. et al. One night of partial sleep deprivation impairs recovery from a single exercise training session. **European journal of applied physiology**, v. 117, n. 4, p. 699-712, 2017.
37. ROSSA, Kalina R. et al. The effects of sleep restriction on executive inhibitory control and affect in young adults. **Journal of Adolescent Health**, v. 55, n. 2, p. 287-292, 2014.

38. SANTOS, Ronaldo Vagner Thomatieli dos; TUFIK, Sergio; DE MELLO, M. T. Exercise, sleep and cytokines: is there a relation?. **Sleep medicine reviews**, v. 11, n. 3, p. 231-239, 2007.
39. SARGENT, Charli et al. The impact of training schedules on the sleep and fatigue of elite athletes. *Chronobiology international*, v. 31, n. 10, p. 1160-1168, 2014.
40. SEWELL, Kelsey R. et al. Relationships between physical activity, sleep and cognitive function: A narrative review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 130, p. 369-378, 2021.
41. TAYLOR SR, Hs D. Exercise and sleep. **Sleep Med Rev**, v. 4, n. 4, p. 387-402, 2000.
42. TEE, Jason C.; BOSCH, Andrew N.; LAMBERT, Mike I. Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. **Sports medicine**, v. 37, n. 10, p. 827-836, 2007.
43. THUN, Eirunn et al. Sleep, circadian rhythms, and athletic performance. **Sleep medicine reviews**, v. 23, p. 1-9, 2015.
44. VAN LAETHEM, Michelle et al. Stress, fatigue, and sleep quality leading up to and following a stressful life event. **Stress and Health**, v. 33, n. 4, p. 459-469, 2017.
45. VAN LEEUWEN, Wessel MA et al. Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. **PloS one**, v. 4, n. 2, p. e4589, 2009.
46. VITALE, Kenneth C. et al. Sleep hygiene for optimizing recovery in athletes: review and recommendations. **International journal of sports medicine**, v. 40, n. 08, p. 535-543, 2019.
47. WILSON, Jacob M. et al. Practical blood flow restriction training increases acute determinants of hypertrophy without increasing indices of muscle damage. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 27, n. 11, p. 3068-3075, 2013.