UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Dano muscular promove hipertrofia? A queda de um paradigma sustentada
pela análise integrada da taxa de síntese proteica

Felipe Romano Damas Nogueira

São Paulo
2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Dano muscular promove hipertrofia? A queda de um paradigma sustentada
pela análise integrada da taxa de síntese proteica

Felipe Romano Damas Nogueira

São Paulo
2017

FELIPE ROMANO DAMAS NOGUEIRA

Dano muscular promove hipertrofia? A queda de um paradigma sustentada
pela análise integrada da taxa de síntese proteica

VERSÃO CORRIGIDA

(versão original disponível no Serviço de Biblioteca)

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Biodinâmica do movimento humano

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Nogueira, Felipe Romano Damas

Dano muscular promove hipertrofia?: a queda de um paradigma sustentada pela análise integrada da taxa de síntese proteica / Felipe Romano Damas Nogueira. – São Paulo : [s.n.], 2017.
190p.

Tese (Doutorado) - Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch

1. Treinamento de força 2. Hipertrofia muscular 3. Músculo esquelético I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: NOGUEIRA, Felipe Romano Damas

Título: Dano muscular promove hipertrofia? A queda de um paradigma sustentada pela análise integrada da taxa de síntese proteica

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Dedico este trabalho a todos que me apoiaram nos melhores e, principalmente, nos
piores momentos durante todo o processo.*

“O otimista acredita que vivemos no melhor dos mundos.

O pessimista teme que isto seja verdade”

James Branch Cabell

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não foi fácil. Não foi fácil para mim, e, com toda absoluta certeza, não foi fácil para aqueles que estavam do meu lado, física, intelectual ou emocionalmente. Não há palavras que façam jus aos meus agradecimentos a estes seres iluminados de vontade, motivação, carinho e amor.

Primeiramente, agradeço aos meus avós Iza, Almilcar e Eurídice e Zezinho. Sem eles eu não teria conseguido escrever, ler, me desenvolver. Eles foram responsáveis pela fundação deste trabalho, obrigado!

À minha amada mãezinha Janaína. Nossa, essa não cansa. Sua capacidade auditiva e paciência são de outro mundo! Este trabalho tem você em cada palavra, cada teste, cada detalhe, cada conquista. Minha fortaleza, meu porto seguro, minha inspiração, obrigado!

Ao meu paizão Alexandre. Sua capacidade de mudança nesta vida me surpreende e me motiva a ser sempre melhor. Obrigado por me obrigar a frequentar as aulas de inglês que tornaram possível meu sanduíche durante o doutorado, hehe. Você é suor, amor e inspiração, obrigado!

À minha pessoa favorita neste mundo, minha irmãzinha Aleina. Até uma tatuagem no peito eu fiz em sua homenagem durante este processo. Sua vida me leva pra frente, me faz vivo, me ilumina e me faz querer mais. Eu te amo mais do que cabe em mim. Este trabalho também é seu, obrigado!

Ao meu queridíssimo irmão João, que com toda sua honestidade, coragem, amabilidade e imparidade me dão um sopro de alegria, tanto que choro. Você é uma das pessoas mais corajosas e incríveis que conheço e é fonte de inspiração para muita gente, incluindo eu, obrigado!

À minha amada namorada Bruna. Sua presença em minha vida se tornou essencial. Sem você um buraco tão grande se abre no meu peito que fica difícil respirar. Sua paciência comigo durante as loucuras dos meus dias e sua vontade de me acalmar, tornam tempestades em garoa. Literalmente não sei se terminaria este trabalho da maneira como terminei sem você ter aparecido na minha vida. Seu amor é lindo, e explode à nossa volta, obrigado!

Ao meu, irritavelmente sabedor de como se viver, amigo Cassaro. Seu modo de levar as coisas do nosso dia-a-dia é livro texto de como se viver nossa vida. Me espelho sempre que consigo em você, e na sua maneira de pensar. Suas ajudas física e intelectual durante este processo foram extremamente importantes, mas ainda assim não chegam aos pés da sua amizade e os benefícios que tenho para minha vida com ela, obrigado!

Ao meu, indeciso e engraçado, amigo Manoel. Não posso contar a quantidade de minhas risadas que foram causadas por suas frases de efeito. A alegria a sua volta é contagiante e essencial para a minha vida amigo. Sua disponibilidade incondicional para um papo me salvou uma e outra vez. Você foi parte essencial deste trabalho, e na minha vida, obrigado!

Ao meu mestre, doutor, psicólogo nas horas vagas, orientador, pai-acadêmico e que considero um verdadeiro amigo, Professor Carlos. Obrigado por ter acreditado em mim e nas minhas ideias loucas. Nossa loucura nos fez alcançar grandes coisas, ao menos na minha limitada vida... hehe. Só tenho a agradecer sua paciência com meus inúmeros problemas, às nossas conversas acadêmicas ou não, aos puxões de orelha, à sua disponibilidade em ajudar, e à orientação profissional e pessoal que pode me prover. Muito obrigado!

Ao meu professor, paizão (agora mais que nunca pai, rsrs), pastor, amigo Cleitão. Não canso de repetir: você contamina todos a sua volta com sua incansabilidade, sua vontade de crescer, sua verdadeira paixão pelo que faz. Sua paciência comigo durante o processo em pontos chave foi essencial para o sucesso deste doutorado. Você literalmente doou músculo para este trabalho ser feito. Sua ajuda, como sempre, extrapolou o acadêmico e pude sempre contar com seus conselhos e pregações, obrigado!

Aos meus amigos Ricardo e Arthur. Além de voluntários, treinadores e avaliadores deste projeto, sua amizade e disponibilidade em ajudar são incríveis. Como o Mané diz, se precisar de um amigo para fazer silêncio com você pode chamar o Ricardo, hehe. Ainda assim, quando ele abre a boca sempre sai uma boa discussão, uma conversa necessária ou uma boa risada. Arthur com todas as conversas, discussões, viagens e

treino de escalada foram essenciais para que este trabalho fosse desenvolvido e para toda a minha vida. Obrigado aos dois!

Ao meu, gaúcho da cara brava, amigo Miguel. Mesmo que um pouco distante deste período, você sempre fará parte do meu desenvolvimento profissional e, principalmente pessoal. Sua vontade de viver, de fazer, de acontecer, dando sempre a cara a tapa e pegando pesado é incrível e move montanhas, como você já demonstrou uma e outra vez. Sua amizade é impagável, obrigado!

Aos meus queridos e amados voluntários Manoel, Gabriel, Arthur, Ricardo, Wagner, Tui, Léo, Cassaro e Paulo. Obviamente sem a sua ajuda esse trabalho não sairia do papel. Sua doação de músculo, saliva, sangue e, principalmente, tempo, disposição e energia foi crucial para o sucesso deste projeto, e sua amizade levo para o resto da vida, obrigado!

To my supervisor in Canada, Prof. Stuart Phillips, who received me so well and helped me develop my work during my one year of stay in his lab at McMaster University; and my very good friends I've made while in Canada, that helped me not only academically, but also held me on their arms personally during my darkest moments and were present in all of the best moments as well: Chris McGlory, Rob, Amy, Brian, Larissa, Jessica, Hiraku, Jay, Tom, Caoileann, Kirsten, Sara, Stefan, Josh, Cameron, Tyler, and so many others, thanks!

Aos professores e amigos Hamilton e Valmor, ao Doc Riani que realizou todas as biópsias deste trabalho, e aos integrantes e amigos dos labs da EEFÉ: Paulinho, Carlinha, Zé Cláudio, Aline, Nati, Wagnão, Renatão, Léo, Émerson, Saulo, Lucas Neves, Lucas Tavares, Ricardo Neves, Giba, Bartira. Agradeço pelo apoio, disponibilidade, conversas, risadas, ajuda em qualquer nível, que contribuíram com este trabalho, obrigado!

À minha primeira mãe acadêmica, Profa. Mara Patricia Chacon-Mikahil. Você me deu a primeira oportunidade de trabalhar com a ciência, me pegou no colo e me trouxe pra dentro do seu lab. Sem esse começo, nada disso teria sido possível. Juntamente com as Profas. Vera Madruga e Cláudia Cavaglieri, me acolheram, me formaram, e me fizeram crescer muito, obrigado!

A todos meus queridos amigos do GEEU e da escalada, esporte que amo e que me faz com que eu consiga colocar meus pensamentos de volta a ter algum sentido, agradeço também a vocês. Todas as viagens, treinos, passeios e idas à rocha completam a minha vida de uma maneira que nunca encontrei em nenhum outro grupo. Sem vocês este trabalho poderia realmente não ter acontecido, pois eu estaria completamente louco e perdido, obrigado!

À academia *Extreme* de Campinas, e ao meu amigo David, dono da mesma, por conceder o espaço da mesma para realização de sessões de treino; à Mariana de Capitani por desenhar a dieta dos voluntários; e ao grupo Sacia (Indústria e Comércio de Alimentos), por gentilmente doar todas as refeições congeladas que utilizamos no projeto, obrigado!

Por fim, este trabalho não seria possível sem seus financiamentos. Portanto, agradeço aos financiamentos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que proporcionou que eu me dedicasse integralmente ao doutorado por meio de bolsa regular de doutorado (2012/24499-1) e financiou os custos do projeto por meio de auxílio regular (2013/21218-4), além de tornar possível meu doutorado sanduiche no Canadá, por meio da bolsa BEPE (2014/19594-0). Agradeço também os financiamentos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 303085/2015-0; 448387/2014-0; 307023/2014-1; 310823/2013-7), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Natural Science and Engineering Research Council (NSERC - RGPIN-2015-04613) do Canadá.

RESUMO

NOGUEIRA, Felipe Romano Damas. **Dano muscular promove hipertrofia? A queda de um paradigma sustentada pela análise integrada da taxa de síntese proteica.** 2017. 190f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

O aumento de massa muscular (hipertrofia muscular), é uma das principais adaptações promovidas pelo treinamento de força (TF), contudo, como a hipertrofia é modulada e os mecanismos que a regulam ainda são curiosamente obscuros. Para investigar como a hipertrofia muscular é modulada durante o TF e os processos fisiológicos relacionados, medimos em 10 homens jovens (27[1] anos; 24[1] kg·m⁻²) no início (T1), na terceira (T2) e décima semanas (T3) de TF: 1) a área de secção transversa (AST) do vasto lateral (VL) e intensidade-eco por imagens de ultrassom; 2) a taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio) integrada dia-a-dia (24h e 48h) após sessões de TF máximas utilizando a ingestão de óxido de deutério e biópsias musculares; 3) o dano muscular induzido por sessões de TF máximas por meio de análises de integridade de linhas-Z sarcomerais e marcadores indiretos; 4) a AST de fibras (ASTf) tipo I e II, a modulação na quantidade de células satélites (CS), número e domínio mionuclear por meio de análise de imunofluorescência; 5) a expressão gênica global por meio de análise de *microarray*. Os principais resultados demonstram que houve hipertrofia muscular (aumento na AST do VL e ASTf tipo II) significativa ($P < 0,04$) somente em T3 (aumentos na AST do VL em T2 foram considerados edema, por meio da intensidade-eco); as alterações na SPMio pós-sessão em T1, T2 e T3 foram maiores em T1 ($P < 0,03$) do que em T2 e T3 (valores semelhantes entre T2 e T3). O dano muscular foi maior pós-sessão em T1, foi atenuado em T2 e ainda mais atenuado em T3. A alteração na SPMio pós-sessão tanto em T2 quanto em T3, mas não em T1, foi fortemente correlacionada ($r \sim 0,9$; $P < 0,04$) com a hipertrofia muscular (T3–T1). A quantidade de CS aumentou 48h após o exercício somente em T1, e se manteve elevada cronicamente ($P < 0,05$). Não houve alteração significativa no número de mionúcleos ou no domínio mionuclear durante o TF. A análise de *microarray* indicou melhora na eficiência metabólica e na resposta ao estresse/dano muscular, e fortalecimento de estruturas musculares envolvendo proteínas miofibrilares e matriz extracelular. A SPMio após a primeira sessão de TF não é direcionada para suportar a hipertrofia muscular, mas sim para regenerar o dano muscular desta sessão. No entanto, a SPMio integrada é rapidamente "refinada", e, com a progressiva atenuação do dano muscular já em T2, ela passa a ser direcionada para suportar a hipertrofia muscular (também encontrado em T3). Portanto, a hipertrofia muscular é o resultado do acúmulo de proteínas miofibrilares provenientes de aumentos intermitentes da SPMio pós-sessões de TF com a progressiva atenuação do dano muscular. A ausência do aumento no número de mionúcleos cronicamente indica que os mionúcleos pré-existentes foram capazes de expandir a SPMio pós-exercício induzindo hipertrofia muscular. A expansão inicial das CS, mantida cronicamente, favorece uma função envolvendo reparo em resposta ao dano muscular e um estado de "prontidão" antecipatório ao invés de um papel direto na hipertrofia muscular, pelo menos durante as primeiras 10-semanas de TF em homens jovens.

Palavras-chave: Músculo esquelético; treinamento de força; taxa de síntese fracionada; óxido de deutério; fibra muscular

ABSTRACT

NOGUEIRA, Felipe Romano Damas. **Does muscle damage promote hypertrophy? The fall of a paradigm supported by integrated muscle protein synthesis analysis.** 2017. 190f. Thesis (Doctor in Science) – Scholl of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo. 2017.

Skeletal muscle hypertrophy is one of the main outcomes of resistance training (RT), but how hypertrophy is modulated and the mechanisms regulating it are not fully understood. To investigate how muscle hypertrophy is modulated during RT and the mechanisms that underpin it, we measured in 10 young men (27[1] years, 24[1] kg·m⁻²) at the beginning (T1), at the third week (T2), and tenth week (T3) of RT: 1) vastus lateralis cross-sectional area (CSA) and the echo intensity by ultrasound; 2) day-to-day (24h and 48h) integrated myofibrillar protein synthesis (MPS), after maximal resistance exercise (RE) using deuterium-oxide ingestion and muscle biopsies; 3) RE-induced muscle damage by analyzing Z-line streaming and indirect markers; 4) type I and II fiber CSA (fCSA), modulations in satellite cells pool and in myonuclear number and domain by immunohistological analyses; 5) global gene expression by microarray. Main results show that there was significant ($P<0.04$) muscle hypertrophy (increase in muscle CSA and type II fCSA) only in T3 (increases in muscle CSA in T2 were considered edema through echo intensity analyses). Changes in MPS post-RE at T1, T2 and T3 were greater at T1 ($P<0.03$) than at T2 and T3 (similar values between T2 and T3). Muscle damage was the highest during post-RE recovery at T1, attenuated at T2 and further attenuated at T3. Changes in MPS post-RE at both T2 and T3, but not at T1, were strongly correlated ($r\sim 0.9$, $P<0.04$) with muscle hypertrophy (T3–T1). Satellite cells pool markedly increased 48h post-RE only in T1, and remained chronically elevated ($P<0.05$). There was no significant change in myonuclear number or domain during RT. The microarray analysis indicated improved metabolic efficiency, improved stress response and attenuated muscle damage, and strengthening of muscle structures involving myofibrillar proteins and extracellular matrix. Initial MPS response post-RE in a RT program is not directed to support muscle hypertrophy, coinciding with the highest magnitude of muscle damage. However, integrated MyoPS is quickly 'refined', and with the progressive attenuation on muscle damage by 3wk of RT (T2), MPS is related to muscle hypertrophy (also at T3). We conclude that muscle hypertrophy is the result of accumulated intermittent changes in MPS post-RE in RT, which coincides with progressive muscle damage attenuation. The absence of change in myonuclei number indicates that preexisting myonuclei were able to expand post-RE MPS to promote muscle hypertrophy. Initial expansion in satellite cells pool, chronically maintained, favors a regeneration purpose of satellite cells in response to muscle damage and an anticipatory "readiness" state rather than a direct role in muscle hypertrophy, at least for the first 10 weeks of RT in young men.

Key words: Skeletal muscle; resistance training; fractional synthetic rate; deuterium oxide; muscle fibre.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 Efeito agudo e crônico do treinamento força na taxa de síntese de proteínas musculares	27
3.2 Dano muscular induzido por sessão de TF e sua adaptação	41
3.3 Possível relação entre dano muscular e respostas hipertróficas	53
4. MÉTODOS	59
4.1 Voluntários	59
4.2 Desenho experimental	59
4.3 Controle da dieta e atividades físicas	61
4.4 Treinamento de força (TF)	62
4.5 Biópsia muscular	62
4.6 Taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio)	63
4.7 Integridade de Linhas-Z sarcomerais	67
4.8 Análises de imunofluorescência	68
4.9 <i>Microarray</i>	70
4.10 Análises sanguíneas	71
4.11 Área de seção transversa (AST) do vasto lateral e intensidade eco (Eco-Us)	72
4.12 Contração voluntária isométrica máxima (CVIM)	74
4.13 Avaliação da dor muscular de início tardio (DMIT)	75
4.14 Análise estatística	75
5. RESULTADOS	77
5.1 Volume total de treino e força isométrica basal	77
5.2 Área de secção transversa (AST) do músculo vasto lateral (VL)	77
5.3 Área de seção transversa de fibras (ASTf) tipo I e tipo II	78
5.4 Número de mionúcleos e domínio mionuclear em fibras tipo I e tipo II	79
5.5 Taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio)	79

5.6 Integridade de linhas-Z sarcomerais	81
5.7 Intensidade eco de ultrassom do músculo vasto lateral (Eco-US).....	83
5.8 Marcadores indiretos de dano muscular	84
5.9 Quantidade de células satélites em fibras tipo I e tipo II.....	86
5.10 Correlações entre variáveis de respostas hipertróficas agudas e crônicas e variáveis de dano muscular	87
5.11 <i>Microarray</i>	88
5.11.1 <i>Comparação da expressão gênica basal em diferentes estados de treinamento</i>	90
5.11.2 <i>Comparação entre mudanças agudas na expressão gênica após sessão de TF em diferentes estados de treinamento.</i>	107
6. DISCUSSÃO	123
7. POSSÍVEIS LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	149
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	151
9. REFERÊNCIAS.....	152
10. APÊNDICES	175
10.1 Apêndice A. Termo de consentimento livre e esclarecido	175
11. ANEXOS	183
11.1 Anexo 1. Aprovação Ética	183
11.2 Anexo 2. Artigo publicado na Sports Medicine	186
11.3 Anexo 3. Artigo publicado na International Journal of Sports Medicine ...	187
11.4 Anexo 4. Artigo publicado no European Journal of Applied Physiology...	188
11.5 Anexo 5. Carta publicada na European Journal of Applied Physiology	189
11.6 Anexo 6. Artigo publicado no The Journal of Physiology.....	190

1. INTRODUÇÃO

O treinamento de força (TF) é amplamente recomendado por respeitadas agências internacionais de medicina e saúde para a prevenção e tratamento não medicamentoso de diversas doenças crônicas degenerativas e para a promoção da saúde em geral (HHS, 2008; ACSM, 2009b; ACSM, 2009a; GARBER et al., 2011). Aumentos na massa e força muscular promovidos pela prática regular do TF auxiliam na prevenção ou atenuação da obesidade, diabetes tipo 2 e outras doenças, aumentando a expectativa de vida dos praticantes (WOLFE, 2006; DANKEL; LOENNEKE; LOPRINZI, 2015; DANKEL; LOENNEKE; LOPRINZI, 2016b; DANKEL; LOENNEKE; LOPRINZI, 2016a). Especificamente, os processos fisiológicos relacionados ao aumento da massa muscular (i.e. hipertrofia muscular) ativados com a realização de uma sessão de TF, bem como a regulação dos mesmos com o desenvolver do TF, curiosamente, ainda não são bem compreendidos (PHILLIPS, 2012; SCHOENFELD, 2012). A hipertrofia muscular é o resultado de cumulativos períodos de balanço proteico positivo, em que a taxa de síntese proteica muscular (SPM) excede a taxa de degradação proteica (BURD et al., 2009). Como a taxa de degradação de proteínas é alterada em menor magnitude, comparada com a taxa de SPM, pós-sessão de TF (KUMAR et al., 2009), as mudanças na SPM pós-sessões de TF são as principais responsáveis (juntamente com adequada provisão de aminoácidos) pelo acúmulo de proteína no tecido muscular (MOORE et al., 2009; GLYNN et al., 2010; ATHERTON; SMITH, 2012; PHILLIPS; HILL; ATHERTON, 2012; BROOK et al., 2015). De fato, alguns estudos reportaram que aumentos agudos na SPM se alinharam qualitativamente com indicadores de hipertrofia muscular induzida por TF, como aumentos no volume muscular e área de secção transversa das fibras musculares (ASTf) (WEST et al., 2009; BURD et al., 2010b; WEST et al., 2010; MITCHELL et al., 2012). No entanto, o mesmo grupo de pesquisa (MITCHELL et al., 2014) e outro (MAYHEW et al., 2009) indicaram que os aumentos agudos na SPM após a sessão inicial de TF, mensurada durante horas por meio de protocolos de infusão intravenosa de isótopos marcados, não se correlacionam com a eventual hipertrofia muscular promovida pelo TF. Embora estes resultados pareçam conflitantes em primeira instância, há dois

possíveis motivos para a incongruência entre o aumento da SPM e a hipertrofia muscular: 1) o método de infusão de aminoácidos marcados permite avaliar por pouco tempo (horas) a SPM após o exercício, podendo não englobar todo o período de elevação da SPM pós-exercício; ou, o que parece ser mais relevante, 2) processos fisiológicos que são ativados inicialmente com o TF podem ser alterados em magnitude e/ou duração com a realização do mesmo, como o dano muscular induzido por sessão de TF, afetando a taxa de SPM.

Metodologicamente, o uso da ingestão de água deuterada (óxido de deutério, D₂O) para avaliar a taxa de SPM permite captar variações na taxa de síntese de proteínas de dias até semanas, configurando-se assim como uma medida mais integrada do efeito do exercício na SPM. A validade ecológica do uso de D₂O para aferir a taxa de SPM é ainda maior considerando que o indivíduo pode seguir normalmente com suas atividades de vida diária e hábitos alimentares, os quais têm influência direta sobre a SPM, não se restringindo ao ambiente laboratorial necessário para protocolos de infusão intravenosa (muitas vezes os indivíduos ficam deitados por horas, durante toda a duração do protocolo experimental). Desta forma, o uso de D₂O permite avaliar mais precisa e adequadamente o efeito de uma ou várias sessões de TF na taxa de SPM e investigar se incongruências entre as medidas agudas e crônicas relacionadas às respostas hipertróficas são devido ao método utilizado. Por exemplo, Brook et al. (2015) demonstraram que a taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio), a fração mais específica da SPM no que diz respeito às adaptações hipertróficas, medida por meio de ingestão de D₂O, durante um período de três semanas com TF realizado três vezes por semana, se relacionou com o aumento de espessura muscular (*thickness* muscular, medido por meio de ultrassom) promovida pelo TF. Um período subsequente de mais três semanas de TF (semanas três a seis) provocou uma redução no aumento de SPMio (retornando a valores similares aos níveis basais), e a SPMio não se correlacionou com o aumento da espessura muscular. Este retorno da SPMio a níveis basais após apenas três semanas (semanas três à seis) de TF demonstrados por Brook et al. (2015) contrastam com vários resultados anteriores na literatura indicando que, mesmo num estado treinado, indivíduos ainda apresentaram um robusto aumento agudo (hora-à-hora) na taxa de síntese proteica tanto no estado alimentado quanto em jejum (para revisão ver DAMAS et al., 2015). Como

Brook et al. (2015) mediram a SPMio durante semanas, o efeito de cada sessão de TF pode ter sido dissolvido, pois na maior parte dos dias incluídos nas semanas de análise da SPMio os indivíduos não treinavam. Portanto, é possível que medir a SPMio nos dias imediatamente após as sessões de TF, em vez de durante semanas, pode prover uma estimativa mais refinada da contribuição da taxa de SPMio para a hipertrofia muscular.

Metodologias à parte, o que parece bem mais relevante num ponto de vista adaptativo, é o efeito fisiológico que a repetição do estímulo da sessão de TF produz no músculo esquelético. Fisiologicamente, sabe-se que os aumentos da SPM e SPMio pós-sessão de TF diminuem em magnitude e duração, com o decorrer do treinamento (TANG et al., 2008; DAMAS et al., 2015). Esta modulação crônica do aumento da SPM pós-sessão de TF parece representar um “refinamento” dessa resposta, tornando-a mais específica ao estímulo de treinamento que se realiza. Por exemplo, foi demonstrado que num estado não-treinado, uma sessão de TF estimula tanto a taxa de SPMio quanto a taxa de síntese de proteínas mitocondriais, porém, depois de 10 semanas de TF, observou-se o aumento apenas da SPMio pós-sessão de TF, sem aumento na taxa de síntese de proteínas mitocondriais (WILKINSON et al., 2008). Portanto, é plausível considerar que algum mecanismo faz com que a resposta de aumento na SPM, no começo do período de TF, seja potentemente estimulada, porém, esta resposta parece ser inespecífica. No entanto, com o decorrer do TF, há uma modulação de mecanismos/processos fisiológicos que reduz a magnitude e duração do aumento da SPM pós-sessão de TF e a torna mais específica à adaptação fisiológica requerida. Após as sessões iniciais de TF há um importante aumento no dano muscular induzido pelo exercício, porém a sua magnitude é fortemente atenuada com a repetição das sessões de TF. De fato, uma sessão de TF no estado não-treinado resulta em significativo dano muscular, demonstrado por alterações na morfologia intramuscular (i.e. marcadores diretos de dano muscular), e.g., desarranjo/rompimento de linhas-Z sarcomerais (GIBALA et al., 2000; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a; YU; CARLSSON; THORNELL, 2004; LAURITZEN et al., 2009), e ‘sintomas’ de dano muscular (i.e., os marcadores indiretos de dano muscular), e.g., reduções na força muscular, aumento na dor muscular de início tardio (DMIT), inchaço/edema, e extravasamento de proteínas musculares na corrente sanguínea (CLARKSON; NOSAKA; BRAUN, 1992; NOSAKA;

CLARKSON, 1996a; CONCEIÇÃO et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2014b; DAMAS et al., 2016a).

Subsequentemente ao dano muscular inicial ocasionado pelo TF, segue-se uma resposta adaptativa da musculatura esquelética remodelando o tecido danificado, preparando-o para uma próxima sessão de TF (VIERCK et al., 2000; MCKAY et al., 2008a; MACKEY et al., 2011b). Esta resposta adaptativa é refletida em um aumento potente na taxa de SPMio para auxiliar, ao menos em parte, no reparo do tecido (MOORE et al., 2005). Por isso, alguns pesquisadores sugeriram que o dano muscular ocasionaria um efeito adicional no aumento da área de secção transversa (AST) muscular, ou, até mesmo, seria um pré-requisito para tal (MOORE et al., 2005; SHEPSTONE et al., 2005); porém essas sugestões foram feitas a partir das respostas agudas a apenas uma sessão de TF (HAWKE; GARRY, 2001; SHEPSTONE et al., 2005; FLORES et al., 2011; PAULSEN et al., 2012; PINTO et al., 2012). Contudo, é importante considerar que o dano muscular é rapidamente atenuado com a repetição das sessões de TF, o que é chamado de efeito do exercício repetido (NOSAKA et al., 2001; CLARKSON; HUBAL, 2002; MCHUGH, 2003; HUBAL et al., 2005; HOWATSON; VAN SOMEREN; HORTOBAGYI, 2007; CHEN et al., 2009; SEDLIAK et al., 2009). O efeito do exercício repetido foi demonstrado tanto por meio de marcadores diretos (e.g., integridade de linhas-Z sarcomerais) (GIBALA et al., 1995; GIBALA et al., 2000) como indiretos de dano muscular (e.g., perda de força muscular, aumento de DMIT) (NOSAKA; CLARKSON, 1997; CHEN et al., 2012b). Considerando especificamente os marcadores indiretos, a atenuação do dano muscular é potente e pode ser observada logo após a segunda sessão de TF (NOSAKA et al., 1991; CHEN; NOSAKA; SACCO, 2007). O fato do efeito do exercício repetido ser potente e, de certa forma, rápido em atenuar o dano muscular induzido pelo exercício, levanta algumas incertezas quanto ao papel do dano muscular na hipertrofia muscular a longo prazo. Estes fatos somados com: a) o fato do TF modificar o padrão da elevação da taxa de SPM e SPMio pós-sessão de TF, reduzindo sua magnitude e duração (PHILLIPS et al., 1999; PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; TANG et al., 2008; DAMAS et al., 2015); e b) elevações iniciais na taxa de SPM após sessão de TF no estado não-treinado não se correlacionam com a hipertrofia muscular (MITCHELL et al., 2014); nos leva a inferir que em fases iniciais a SPM seria direcionada

para o reparo muscular e, em fases posteriores do TF, ou seja, num estado mais treinado, os aumentos da SPM pós-sessão de TF deixariam de ser direcionados para o reparo muscular, e passariam a ser direcionados para o aumento da AST muscular, i.e., para a hipertrofia muscular. Portanto, a ausência de correlação entre o aumento agudo da taxa de SPM pós-sessão de TF e a hipertrofia muscular após o TF (MITCHELL et al., 2014) poderia ser decorrente do dano às estruturas musculares que necessitam de reparo, requerendo um maior aumento na taxa de SPM. Com a repetição das sessões de TF e a redução do dano muscular por meio do efeito do exercício repetido, o dano muscular desoneraria a SPM, que poderia contribuir mais ativamente para a hipertrofia muscular. Se confirmada esta hipótese, o dano muscular não se configuraria como mecanismo potencializador da hipertrofia muscular, muito menos seria essencial para que ela ocorresse. Portanto, entender como os processos de dano muscular, taxa de SPMio (mensurada de maneira integrada, dias após o exercício, por meio do método envolvendo ingestão de D₂O, portanto, com alta validade ecológica) e hipertrofia muscular se comportam em diferentes fases de um período de TF é mandatório para a elucidação desse problema que é o tema central desta Tese.

Adicionalmente, é interessante compreender os mecanismos que são ativados pós-sessão de TF em diferentes estados de treinamento, regulando os processos de dano muscular e a elevação da SPMio ao longo do tempo. Alguns destes mecanismos são bem descritos na literatura. Por exemplo, é conhecido que sessões de TF modulam vias moleculares, e.g.: 1) ativam via da alvo da rapamicina em mamíferos complexo-1 (mTORC1) – a principal via relacionada com a ativação do maquinário de tradução de proteínas musculares logo após a sessão de TF; 2) ativam a via da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) – relacionada com o estresse mecânico causado pela contração muscular; e 3) inibem a via da miostatina – proteína contraregulatória do processo hipertrófico (BODINE et al., 2001; BODINE, 2006; COFFEY; HAWLEY, 2007; MATSAKAS et al., 2009; LAURENTINO et al., 2012). No entanto, outros mecanismos potencialmente envolvidos com o dano e reparo muscular, e com a regulação da taxa de SPMio no decorrer do TF, como a participação de células satélites e a expressão gênica global (i.e., transcriptoma gênico global) ainda não foram adequadamente descritos.

As células satélites são células mononucleadas, não diferenciadas, localizadas entre o sarcolema e a membrana basal (MAURO, 1961), podendo ser ativadas, por exemplo, em resposta ao dano muscular (CHARGE; RUDNICKI, 2004; FOLLAND; WILLIAMS, 2007; O'REILLY et al., 2008; MCKAY et al., 2010; LEPPER; PARTRIDGE; FAN, 2011; SAMBASIVAN et al., 2011). Estudos demonstraram que protocolos de TF que infligiram dano muscular produziram um aumento no número de células satélites 24-72h pós-sessão de TF (O'REILLY et al., 2008; MCKAY et al., 2010); outros estudos mostraram que a ablação de células satélites prejudica a regeneração do tecido muscular após lesão (LEPPER; PARTRIDGE; FAN, 2011) ou exercício (SAMBASIVAN et al., 2011), confirmando o papel das células satélites na recuperação do dano muscular induzido pelo exercício. Por outro lado, o papel das células satélites na hipertrofia muscular ainda é objeto de intenso debate (BODINE, 2007; BOOTH, 2007; HIKIDA, 2007; KADI, 2007; LOWE, 2007; MANTILLA; SIECK, 2007; MCCARTHY; ESSER, 2007; O'CONNOR; PAVLATH, 2007; O'CONNOR et al., 2007; REHFELDT, 2007; MCCARTHY et al., 2011; JACKSON et al., 2012; FRY et al., 2014), uma vez que os resultados dos estudos envolvendo tanto humanos quanto animais são, até certo ponto, conflituosos, não havendo consenso se as células satélites seriam realmente indispensáveis para o processo de hipertrofia muscular. O consenso que emergiu deste debate é que as células satélites não são indispensáveis para que ocorra hipertrofia muscular, mas parecem ser requisitadas em situações de grande aumento de ASTf (i.e., altos níveis de hipertrofia muscular) (FOLLAND; WILLIAMS, 2007; PETRELLA et al., 2008). O aumento da ASTf (por meio do acúmulo de proteínas advindas de elevações na SPMio após cada sessão de TF) pode atingir o limite da capacidade de transcrição/tradução proteica, que cada mionúcleo pré-existente nas fibras pode controlar (i.e., domínio mionuclear) (CHEEK, 1985)). Desta forma, quando o limite de aumento do domínio mionuclear é atingido, as células satélites seriam ativadas, proliferadas e diferenciadas para doar seus mionúcleos e, com isso, suportar o crescimento contínuo das células musculares (KADI et al., 2004; KADI et al., 2005; PETRELLA et al., 2006; MCCARTHY; ESSER, 2007; O'CONNOR; PAVLATH, 2007). Portanto, o mecanismo envolvendo a modulação de células satélites pode adicionar informações importantes para explicar se existe relação entre o dano muscular induzido pelo exercício e a hipertrofia muscular. Adicionalmente, a resposta

aguda e crônica das células satélites nunca foi completamente investigada em diferentes fases do TF, seguindo um desenho longitudinal - com diferentes magnitudes de dano muscular (e possivelmente distintas respostas da taxa de SPMio), para que importantes fases do processo adaptativo pudessem ser descritas. Finalmente, a análise da quantidade de células satélites por tipo de fibra muscular seria especialmente interessante, uma vez que ambos os processos de dano (CHAPMAN et al., 2013) e hipertrofia muscular (MCCALL et al., 1996), parecem ser mais pronunciados em fibras tipo II. Desta forma, espera-se que a resposta de células satélites, aumento de ASTf e número de mionúcleos sejam mais pronunciados em fibras do tipo II em comparação com fibras do tipo I.

Outro ponto interessante de ser investigado e colocado em contexto é conhecer como a expressão gênica global é afetada pelo TF no músculo esquelético, uma vez que os genes são modulados pelos processos resultantes do estresse de sessões de TF (e.g., dano muscular, processos inflamatórios) e também controlam as adaptações advindas do TF (e.g., aumento de SPMio, remodelamento de matriz extracelular, atividade de células satélite, componentes estruturais dos sarcômeros) por meio da tradução das proteínas específicas. Portanto, o estudo da modulação aguda e crônica da expressão gênica global por meio do TF proporcionaria avanços significativos no entendimento dos mecanismos que regulam os processos de dano muscular, SPM, atividade de células satélites e, finalmente, a hipertrofia muscular (ZIERATH; WALLBERG-HENRIKSSON, 2015). Além disso, uma vez que a maioria dos processos fisiológicos são redundantes (EGAN; ZIERATH, 2013), regulações gênicas associadas aos mecanismos supracitados e outros envolvidos na adaptação ao exercício podem ser mais completamente descritos e, portanto, melhor explicados por meio de técnicas de varredura do transcriptoma, como o *microarray*. A literatura conta com alguns trabalhos envolvendo esta técnica e o TF em humanos. Por exemplo, Thalacker-Mercer et al. (2013) investigaram a modulação gênica após uma única sessão de TF por meio de *microarray*, demonstrando regulação positiva de genes relacionados ao stress do exercício, inflamação, vias proteolíticas, e processos de transcrição, porém o número de genes modulados foi intrigantemente baixo para indivíduos jovens (THALACKER-MERCER et al., 2010). Isto pode ter acontecido devido ao fato dos pesquisadores utilizarem um protocolo de TF moderado (60% de uma

repetição máxima). A presente Tese busca expandir estes achados, avaliando o transcriptoma global no estado basal e 24h pós-sessões de TF máximas (até a falha muscular) em diferentes estados de treinamento. Até o presente momento, há dois estudos que investigaram o transcriptoma global após exercício agudo em diferentes estados de treinamento (GORDON et al., 2012; RAUE et al., 2012). Gordon et al. (2012) analisaram o efeito do treinamento somente 4h após sessão de TF (não há avaliação no estado basal), demonstrando que o TF reduz a resposta de transcrição de ativação imune pós-sessão, reduz o estresse do exercício, aumenta genes de fosforilação oxidativa, estrutura mitocondrial, metabolismo de glicose, da matriz extracelular e desenvolvimento do citoesqueleto. Em contrapartida, a presente Tese buscou investigar as mudanças agudas (delta pós-pré) em condições de alto e baixo dano muscular no transcriptoma global, uma vez que elas refletem realmente o efeito das sessões de TF em diferentes estados de treinamento, e como ele muda com o processo adaptativo. No estudo de Raue et al. (2012), os autores reportaram que 4h após o exercício houve ativação da via do fator nuclear- $\kappa\beta$ por meio de regulação positiva no gene 14 induzível do fator de crescimento do fibroblasto (Fn14), que parece ser necessário para a expressão de fatores miogênicos e diferenciação de células satélites e o estado de treinamento pareceu não modular significativamente a expressão gênica. No entanto, os autores indicam que um dos principais objetivos do estudo foi examinar a expressão gênica após uma sessão de TF regular que não promovesse dano muscular. Essa é uma diferença chave para a presente Tese, pois pretendemos examinar o efeito da primeira sessão de TF, sem que haja qualquer efeito protetor ao dano muscular, ou seja, analisar quais são os genes que são diferentemente expressos numa situação de dano muscular, e comparar com uma sessão em que o dano muscular está altamente atenuado (na décima semana de TF). Exatamente por este motivo, optamos por realizar nossa medida pós-sessão de TF 24h após o término das mesmas (em vez de 4h como os estudo supracitados), porque objetivamos encontrar os efeitos na expressão gênica dos processos de dano muscular, remodelamento e atividade de células satélites, por exemplo, que não ocorrem rapidamente após o término da sessão de TF (CLARKSON; HUBAL, 2002; PAULSEN et al., 2012) e como a expressão gênica global regula processos que estão ativos até tardiamente após o término da sessão de TF, como processos de reparo muscular

(PAULSEN et al., 2012), e a taxa de SPM, que pode durar até 36h à 48h pós sessão de TF (MACDOUGALL et al., 1995; PHILLIPS et al., 1997) ou possivelmente mais (MILLER et al., 2005). Portanto, pretendemos analisar a expressão gênica de homens jovens, em diferentes estados de treinamento, no estado basal e 24h após uma sessão de TF por meio de uma análise exploratória de *microarray*. Esta análise, nestes pontos de coleta de biópsias musculares, possibilita investigar como a prática de 10 semanas de TF modula a expressão gênica no repouso (comparação entre o estado basal do estado não-treinado vs. treinado) e também como as adaptações induzidas pelo TF modificam a expressão gênica global em resposta à uma sessão de TF.

Portanto, a presente Tese tem como tema a investigação da modulação agudo-crônica do dano muscular (por meio de marcadores direto e indiretos) e da taxa de SPMio integrada (por meio da ingestão de D₂O) com a prática do TF, a fim de fazer inferências acuradas sobre o papel do dano muscular na hipertrofia muscular promovida pelo TF. Em adição, analisaremos mecanismos afetados pelo dano muscular e que regulam os processos de reparo/remodelamento, taxa de SPMio e a hipertrofia muscular, i.e., a participação de células satélites e a expressão gênica global (*microarray*).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo da presente Tese foi verificar o papel do dano muscular na hipertrofia muscular, analisando o efeito e relação de diferentes magnitudes de dano muscular ocasionadas pela primeira sessão (primeira semana, T1), quinta sessão (terceira semana, T2) e décima nona sessão (décima semana, T3) de treinamento de força no aumento da taxa de síntese de proteínas miofibrilares após as mesmas sessões, e no aumento da área de secção transversa de fibras musculares/músculo (i.e., hipertrofia muscular) em homens jovens. Em adição, objetivamos investigar mecanismos associados à modulação da síntese de proteínas miofibrilares e que possam controlar a resposta hipertrófica do músculo esquelético.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a AST do músculo vasto lateral e ASTf tipo I e II em T1, T2 e T3;
- Comparar a mudança na taxa de síntese de proteínas miofibrilares (SPMio) integrada (0h à 48h) pós-sessões de TF máximas em T1, T2 e T3;
- Comparar a magnitude de dano muscular induzido por sessões de TF máximas por meio de análises de marcadores direto (integridade de linhas-Z sarcomerais) e indiretos (contração voluntária isométrica máxima (CVIM), dor muscular de início tardio (DMIT), intensidade eco de ultrassom (Eco-US) e níveis de CK e Mb na corrente sanguínea) pré- e 24h e 48h pós-sessões de TF máximas em T1, T2 e T3;
- Relacionar a magnitude de dano muscular com o aumento da SPMio integrada (48h–0h) pós-sessões de TF máximas em T1, T2 e T3;

- Relacionar a magnitude do dano muscular pós-sessões de TF máximas com o aumento (T3–T1) da AST do músculo vasto lateral e nas ASTf tipo I e II;
- Relacionar as mudanças na taxa SPMio integrada (48h–0h) pós-sessões de TF máximas com a mudança (T3–T1) da AST do músculo vasto lateral e das fibras tipo I e II;
- Comparar a modulação na quantidade de células satélites em fibras musculares tipo I e II pré- e 48h pós-sessões de TF máximas em T1, T2 e T3;
- Comparar a modulação no número de mionúcleos e domínio mionuclear em fibras musculares tipo I e II pré-sessão de TF em T1, T2 e T3;
- Relacionar a quantidade de células satélites com os processos de dano muscular e hipertrofia muscular induzidos por TF;
- Comparar a expressão gênica global em diferentes estados de treinamento pré- e 24h pós-sessões de TF máximas em T1 e T3.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Efeito agudo e crônico do treinamento força na taxa de síntese de proteínas musculares

Aumentos na massa muscular esquelética (i.e., hipertrofia muscular) são promovidos por meio de cumulativos períodos de balanço proteico positivo, ou seja, quando a taxa de SPM excede a taxa de degradação (BURD et al., 2009). Embora a sessão de TF seja, por si só, anabólica (i.e., estimula o aumento da taxa de SPM), sem a provisão adequada de proteínas, o balanço proteico continua negativo (taxa de degradação maior que a taxa de SPM) (PHILLIPS et al., 1997; PHILLIPS et al., 1999). No entanto, quando o efeito anabólico de uma sessão de TF é somado com ingestão adequada de aminoácidos, a taxa de SPM excede a de degradação, ocasionando um balanço proteico positivo, acumulando proteínas na musculatura esquelética (BIOLO et al., 1997; PHILLIPS et al., 2002; GREENHAFF et al., 2008). Comparativamente, a taxa de degradação de proteínas é alterada significativamente menos que a taxa de SPM em resposta ao TF e nutrição (KUMAR et al., 2009), portanto, a degradação não é geralmente considerada um processo determinante para os ganhos hipertróficos induzidos pelo TF. Isso indica que mudanças na SPM após o TF e nutrição são os principais fatores que impulsionam a resposta anabólica com o TF, promovendo acúmulo de proteínas no músculo esquelético (GLYNN et al., 2010; ATHERTON; SMITH, 2012; PHILLIPS; HILL; ATHERTON, 2012).

Os mecanismos envolvidos com a regulação da SPM e, conseqüentemente, com as mudanças na AST muscular com TF têm sido objeto de diversos estudos (BODINE et al., 2001; COFFEY; HAWLEY, 2007; SCHOENFELD, 2010; ATHERTON; SMITH, 2012; SCHIAFFINO et al., 2013). Resumidamente, uma sessão de TF ativa vias de sinalização que traduzem a atividade contrátil em eventos bioquímicos culminando com o aumento da SPM; no entanto os mecanismos exatos e suas interações ainda não são totalmente compreendidos (COFFEY; HAWLEY, 2007; SCHOENFELD, 2010). Ainda assim, sabe-se que os aumentos na SPM após uma sessão de TF são regulados substancialmente

por mecanismos de tradução. Foi demonstrado que as proteínas de sinalização, incluindo a mTORC1, proteína ribossômica S6 quinase de 70 kDa (p70S6K) e fator eucariótico de início de tradução 4E (4E-BP1), que ativa as proteínas ribossomais S6 (S6) e fatores de iniciação da tradução (eIF4E), são reguladores-chave da síntese de proteínas e moduladores de hipertrofia do músculo esquelético (BODINE et al., 2001; HORNBERGER, 2011; ATHERTON; SMITH, 2012; SCHIAFFINO et al., 2013). A via mTORC1-p70S6K é ativada por meio da ativação da proteína quinase B (Akt) ou da fosfolipase D/ácido fosfatídico, que por sua vez são ativadas por estresse mecânico (e.g., sessão de TF) e/ou fornecimento de aminoácidos, promovendo atividade de iniciação da tradução, modulando o crescimento celular (BODINE, 2006; COFFEY et al., 2006; CUTHBERTSON et al., 2006; DREYER et al., 2006; ELIASSON et al., 2006; COFFEY et al., 2007; FUJITA et al., 2007; HORNBERGER, 2011; SCHIAFFINO et al., 2013). Desta forma, a atividade (isto é, fosforilação) da via mTORC1 tem sido amplamente utilizada como um marcador indireto da SPM (GLOVER et al., 2008; WILKINSON et al., 2008; BURD et al., 2010a; BURD et al., 2010b; ROSCHEL et al., 2011; BURD et al., 2012). No entanto, cuidado deve ser tomado para tentar explicar a hipertrofia, que é um processo dinâmico, e analisar fosforilação de proteínas em apenas um ponto isolado de tempo. Desta forma, as investigações que tentaram realizar tais correlações (entre a sinalização de proteínas e hipertrofia muscular) são ambíguas (TERZIS et al., 2008; MAYHEW et al., 2009; MITCHELL et al., 2012; MITCHELL et al., 2013; MITCHELL et al., 2014) (Tabela 1). Os estudos que demonstram correlações significantes entre fosforilação de proteínas e hipertrofia muscular utilizaram pequenos tamanhos amostrais (TERZIS et al., 2008) ou as correlações foram fracas (MAYHEW et al., 2009; MITCHELL et al., 2013; MITCHELL et al., 2014). Estes resultados indicam que é ingênuo tirar conclusões apenas com base em medições de fosforilação de proteínas distintas, uma vez que não é possível ter uma boa ideia de como os processos de sinalização de proteínas modulam cronicamente a hipertrofia muscular sem avaliação direta da modulação da SPM com o TF.

Tabela 1. Estudos que realizaram correlações entre a sinalização de proteínas e hipertrofia.

Estudo	Proteína (tempo após o exercício)	Resposta hipertrófica (tempo de TF)	Correlação (r)	Interpretação
(MITCHELL et al., 2012)	p70S6K (1h)	Aumento do volume muscular (10-semanas)	-0,03	Sem correlação
(MITCHELL et al., 2014)	4E-BP1 (1h)	Aumento do volume muscular (16-semanas)	0,42	Correlação fraca
(MAYHEW et al., 2009)	S6K1 (24h)	Aumento na ASTf (16-semanas)	0,53	Correlação fraca
(TERZIS et al., 2008)	p70S6K (30min)	Aumento na ASTf (14-semanas)	0,82	Pequeno tamanho de amostra
(MITCHELL et al., 2013)	p70S6K (5h)	Aumento na ASTf (16-semanas)	0,54	Correlação fraca

ASTf, área de seção transversa de fibras musculares; TF, treinamento de força.

Desta forma, parece adequado considerar as respostas de um marcador ‘mais próximo’ da resposta de hipertrofia muscular para estudar como ela se desenvolve com o decorrer do TF, i.e., modulações na SPM, uma vez que a hipertrofia muscular induzida pelo TF é resultado do acúmulo de proteínas musculares provenientes de aumentos intermitentes na taxa de SPM em resposta a cada sessão de TF (MOORE et al., 2009; BROOK et al., 2015). Corroborando com o exposto, estudos têm demonstrado que as alterações agudas na SPM após sessão de TF (WILKINSON et al., 2007; TANG et al., 2009; WEST et al., 2009; BURD et al., 2010b) se alinham, pelo menos qualitativamente (se não em magnitude), com os resultados hipertróficos crônicos promovidos pelo TF (CRIBB et al., 2006; HARTMAN et al., 2007; WEST et al., 2010; MITCHELL et al., 2012). Por exemplo, uma sessão de TF seguida pela ingestão de proteínas à base de leite promoveu maior estimulação da SPM comparada com a ingestão de proteína à base de soja (WILKINSON et al., 2007); resultados que se alinharam com os dados de longo prazo de Hartman et al. (2007), que demonstraram hipertrofia superior para os indivíduos que consumiram leite em comparação com soja isoenergética durante 12 semanas de TF. Em adição, foi demonstrado que a proteína caseína foi inferior à proteína do soro do leite para estimular a SPM após TF (TANG et al., 2009), o que está de acordo com resultados de hipertrofia muscular em indivíduos suplementados com caseína versus proteínas do soro do leite, após TF (CRIBB et al., 2006). Em dois estudos de West et al. (2009; 2010) investigando o papel da elevação de concentrações de hormônios anabólicos endógenos pós-sessão de TF na SPM e hipertrofia muscular, as medidas de SPM agudas foram congruentes com os resultados hipertróficos do estudo de treinamento. Por fim, demonstrou-se que tanto baixa quanto alta intensidade de TF são igualmente eficazes em estimular SPM pós-sessão de TF quando ambos são realizados até a falha muscular (BURD et al., 2010b), resultados que estão de acordo com os dados de hipertrofia muscular após 10 semanas de TF (MITCHELL et al., 2012). Portanto, há casos claros de acordo entre as respostas agudas de SPM e hipertrofia muscular, indicando que mudanças na SPM após sessão de TF desempenham papel determinante na hipertrofia muscular induzida pela TF ao longo do tempo.

Embora tenha-se estabelecido a importância da SPM na hipertrofia muscular induzida pelo TF, com a repetição do estímulo de treino há uma redução na magnitude e

na duração das respostas de SPM após a sessão de TF (TANG et al., 2008; DAMAS et al., 2015). Isso está de acordo com o princípio geral de adaptação ao estresse, ou seja, quanto mais treinado um indivíduo se torna, menor a resposta do organismo a um dado estímulo, portanto, o acréscimo de proteína muscular deveria ser progressivamente menor à medida que progride o TF (SALE, 1988; ALWAY et al., 1992). Essa modificação no padrão de resposta da SPM pós-exercício com o desenvolver do TF poderia impedir uma correlação forte entre a SPM medida após a primeira sessão de TF e a resposta de hipertrofia muscular com a realização crônica do TF. De fato, um estudo recente mostrou que as respostas individuais da SPM pós-sessão de TF e nutrição, analisadas por meio de infusão intravenosa de aminoácidos marcados durante 6 horas após a primeira sessão aguda de TF, não foi correlacionada com a hipertrofia muscular após 16 semanas de TF (MITCHELL et al., 2014). Dados anteriores, no estado de jejum, também indicaram que a medição da SPM por algumas horas, um dia após a primeira sessão de exercício, não se correlacionou quantitativamente com a resposta hipertrófica muscular após TF (MAYHEW et al., 2009). Portanto, entre as causas possíveis desta incongruência quantitativa entre resultados agudos de SPM e respostas crônicas de hipertrofia muscular com o TF, estão a curta duração das mensurações da SPM pós-exercício (apenas algumas horas foram avaliadas) e o fato descrito anteriormente, que a SPM pode mudar consideravelmente com a progressão do TF (MITCHELL et al., 2014).

Primeiramente, a análise da SPM por apenas algumas horas depois da sessão de TF não é suficiente para capturar todo o período que a SPM foi modulada por meio do exercício, uma vez que o efeito agudo do TF na SPM pode durar entre 36 e 48h (MACDOUGALL et al., 1995; PHILLIPS et al., 1997) ou, possivelmente, ainda mais (MILLER et al., 2005). Desta forma, uma análise da SPM que envolva dias, em vez de apenas horas, após a conclusão da sessão de TF pode melhorar a compreensão do impacto de cada sessão na SPM. Isso pode ser investigado, e provavelmente melhor entendido, com o uso de métodos mais integrativos de análise da taxa de SPM, como por exemplo, o uso do método da água deuterada (óxido de deutério, D₂O) (GASIER; FLUCKEY; PREVIS, 2010; GASIER et al., 2012; MACDONALD et al., 2013; WILKINSON et al., 2014; BROOK et al., 2015) (utilizada na presente Tese), que permite uma análise da SPM durante dias ou até mesmo semanas após o exercício e não interfere em

atividades de vida diária, permitindo a análise de SPM em humanos numa situação de vida habitual. Em segundo lugar, há sugestões de que as mudanças na SPM podem ser modificadas rapidamente com a progressão do estado de treinamento de um indivíduo (MITCHELL et al., 2015). Se esta mudança é realmente rápida (e.g., já nas primeiras sessões de TF) ou se ela ocorre após algumas semanas de TF ainda não é conhecido (a presente Tese inclui dados sobre este aspecto nas Seções Resultados e Discussão), porém, vários estudos têm demonstrado que o aumento agudo da SPM após uma sessão de TF é modulado pelo estado de treinamento dos indivíduos – não-treinado versus treinado (CHESLEY et al., 1992; MACDOUGALL et al., 1992; MACDOUGALL et al., 1995; PHILLIPS et al., 1997; PHILLIPS et al., 1999; PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; TANG et al., 2008; WILKINSON et al., 2008). No entanto, é preciso cuidado ao comparar estes estudos, pois os dados foram obtidos a partir de diferentes laboratórios, grupos musculares (flexores do cotovelo versus extensores do joelho) e pontos no tempo. Estas variáveis podem afetar a resposta de SPM (SMITH; RENNIE, 1990; MACDOUGALL et al., 1992; MACDOUGALL et al., 1995; PHILLIPS et al., 1997; BURD et al., 2009; ATHERTON; SMITH, 2012; BURD et al., 2012).

É também importante notar que os resultados de estudos que medem a taxa de síntese de proteínas mista (que inclui todas as proteínas celulares) versus a proteína miofibrilar (isto é, as proteínas contrácteis que compreendem ~ 60% das proteínas totais do músculo) também não estão completamente de acordo entre si (BURD et al., 2010b; BURD et al., 2011), pois o TF pode mudar o padrão de resposta das diferentes frações de proteínas musculares (WILKINSON et al., 2008). Portanto, fez-se necessário uma análise de cada estudo que mensurou a SPM (i.e., mista) em diferentes pontos no tempo, e frações específicas, como a miofibrilar (SPMio), nos estados não-treinado e treinado, entendendo os detalhes envolvidos em cada desenho experimental, a fim de agrupar, ainda que de maneira teórica, os resultados disponíveis na literatura da forma mais adequada possível para compreender melhor como as SPM/SPMio são modificadas com o decorrer do TF. A Tabela 2 resume os dados disponíveis, que compara diretamente a resposta da SPM/SPMio em estados não-treinado e treinado.

Tabela 2. Estudos que compararam diretamente as respostas de síntese de proteína muscular após uma sessão de exercícios de força entre os estados de treinamento treinado (T) e não-treinado (UT).

Estudo	Esforço/Carga da sessão	Tipo de SPM	Estado alimentar	Resultados	
(PHILLIPS et al., 1999)	Mesmo esforço relativo para T e UT	Mista	Jejum	Basal: UT=T 4h: UT aumenta, T aumenta, UT >T	
(PHILLIPS et al., 2002)	Mesma carga absoluta para T e UT	Mista	Alimentado (CHO, proteína, gordura)	Basal: UT<T 5h45: UT aumenta, T não, UT =T	
(KIM; STARON; PHILLIPS, 2005)	Mesmo esforço relativo para T e UT	Mista e miofibrilar	Jejum	Mista Basal: UT<T 16h: UT aumenta, T não, UT>T	Miofibrilar Basal: UT=T 16h: UT aumenta, T aumenta, UT=T
(TANG et al., 2008)	Mesmo esforço relativo para T e UT	Mista	Alimentado (CHO, proteína, gordura)	Basal: UT=T 4h: UT aumenta, T aumenta, UT<T 28h: UT aumenta, T não, UT>T	
(WILKINSO N et al., 2008)	Mesmo esforço relativo para T e UT	Miofibrilar	Alimentado (CHO, proteína, gordura)	Basal: UT =T 4h: UT aumenta, T aumenta, UT=T	

CHO, carboidrato; SPM, síntese proteica muscular. Tabela adaptada de Damas et al. (2015) – ANEXO 2.

Enquanto dois estudos relataram aumentos na taxa de SPM de repouso no estado treinado em comparação com o estado não-treinado (PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005), outros estudos não encontraram essas diferenças (PHILLIPS et al., 1999; TANG et al., 2008), mesmo quando foi analisada a fração proteica miofibrilar (KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; WILKINSON et al., 2008). A elevada taxa SPM de repouso relatada nestes estudos (PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005) no estado treinado em comparação com o estado não-treinado parece ser concomitante com um aumento basal de degradação proteica no estado treinado (PHILLIPS et al., 2002). Desta forma, elevações basais em síntese e degradação no estado treinado parecem refletir um aumento do *turnover* proteico em repouso e não necessariamente um aumento de acréscimo de proteína no repouso (PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005). Esta hipótese é reforçada se observamos que mesmo o treinamento aeróbio, um estímulo menos eficaz para induzir a hipertrofia muscular que o TF, também aumenta os níveis basais de síntese proteica mista (SHORT et al., 2004; PIKOSKY et al., 2006). Por outro lado, as elevações agudas na síntese de proteínas após sessão de TF (principalmente nas primeiras 24h após a sessão) são muito consistentes na literatura (PHILLIPS et al., 1997; 1999; PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; TANG et al., 2008; WILKINSON et al., 2008; KUMAR et al., 2009; WITARD et al., 2014) e se alinham, pelo menos qualitativamente, com a resposta hipertrófica do músculo esquelético com o TF (HARTMAN et al., 2007; WILKINSON et al., 2007; WEST et al., 2009; WEST et al., 2010), como descrito e discutido em detalhes anteriormente. Embora aumentos agudos na taxa de SPM após uma sessão de TF sejam bastante consistentes, o estado de treinamento claramente afeta a magnitude e a duração dessas respostas. Por isso, uma análise da evolução temporal e a resposta global da SPM é crítica para determinar o potencial de acúmulo de proteína depois de uma sessão de TF.

Em um estudo transversal, Phillips et al. (1999) demonstraram que os indivíduos não-treinados obtiveram maiores taxas de síntese de proteínas mistas comparados com indivíduos treinados em TF, 4h após uma sessão de TF (não-treinados: ~118%; treinados: ~49%). Estudos longitudinais de TF progrediram nesta discussão, avaliando os efeitos na SPM pós-sessão de TF nos mesmos indivíduos sendo avaliados antes e

depois de um período de TF (PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; TANG et al., 2008; WILKINSON et al., 2008). Avaliando a SPM ~6h após a sessão, Phillips et al. (2002) relataram aumentos na SPM somente no estado não-treinado (~44%). Por outro lado, Tang et al. (2008) demonstraram que em ambos estados de treinamento, não-treinado e treinado, foram observados aumentos significantes na SPM 4h após sessão de TF, com um maior aumento em treinados (~162% versus ~108%). Embora os resultados pareçam contraditórios, é importante enfatizar que Phillips et al. (2002) aferiu a SPM pós-sessão de TF com os indivíduos utilizando a mesma carga absoluta de treino em ambos os estados de treinamento, com um aumento não significativo na SPM para o estado treinado (~20%). Os autores relataram que a avaliação da SPM com a mesma carga de treino absoluta era a única forma de isolar como o treinamento por si só afeta o aumento da SPM pós-sessão; no entanto, reconheceram que com o seu design experimental, o estado treinado realizou a sessão de TF com esforço muito menor (devido à sua força aumentada) do que o não-treinado. Portanto, a divergência nos resultados destes dois estudos é provavelmente devido à carga utilizada em cada sessão de exercícios. Embora comparações utilizando a mesma carga absoluta permitam identificar efeitos de treinamento na SPM pós-sessão de TF, ela não simula um cenário de treinamento do mundo real em que a carga de treinamento geralmente é aumentada, ou pelo menos mantida, uma vez que ganhos de força são obtidos. Desta forma, o uso da mesma carga de treinamento relativa fornece uma resposta aplicada ao “mundo real” para a questão de como estado de treinamento afetaria a resposta da SPM pós-sessão de TF.

Além do estado de treinamento afetar as respostas de SPM, também é importante considerar o estado de alimentação que os indivíduos apresentam para a mensuração da SPM. Por exemplo, Kim et al. (2005), compararam as respostas de SPM de uma sessão de TF em estados não-treinado e treinado em jejum, enquanto Tang et al. (2008) testaram ambos os estados de treinamento no estado alimentado. Kim et al. (2005) relataram que somente no estado não-treinado houve um aumento significativo na SPM 16h após a sessão de TF (perna destreinada: ~132%; perna treinada: ~21%). Tang et al. (2008), como mencionado antes, mostrou um aumento maior na SPM pós-exercício (4h) para o estado treinado, porém mais tarde (28h) as respostas de SPM no estado treinado

já haviam retornado aos níveis de repouso (~14% de aumento não significativo), enquanto no estado não-treinado a SPM permaneceu elevada (~70% de aumento significativo) em relação aos níveis basais 28h após a sessão. Em conjunto, parece adequado considerar que o aumento inicial na SPM é menos pronunciado no estado não-treinado do que no estado treinado; no entanto, o aumento dura mais tempo e apresenta um pico tardio no estado não-treinado. Desta forma, especulamos que cada sessão de TF modula a resposta da SPM durante o período de TF se movendo do estado não-treinado para o treinado. O resultado seria um padrão diferenciado de aumento na SPM com a progressão do TF e, assim, uma única medida da taxa de SPM no estado não-treinado, antes de um programa de TF, realmente não é suficiente para capturar o potencial hipertrófico de um indivíduo como foi sugerido (MAYHEW et al., 2009; MITCHELL et al., 2014).

É provável que nem todas as proteínas componentes do músculo esquelético respondam da mesma maneira ao estímulo de TF. De fato, as respostas da síntese de diferentes frações de proteínas do músculo podem ser importantes na compreensão de como cada sessão de TF afeta a SPM. Por exemplo, um estudo anterior mostrou que maiores aumentos na SPM mista pós-exercício ocorreu no estado não-treinado, mas aumentos semelhantes na SPMio ocorreram em estados não-treinado e treinado (KIM; STARON; PHILLIPS, 2005). Os autores especularam que no estado não-treinado, quando o TF é novidade, há uma perturbação maior na homeostase, estimulando o aumento do SPM inespecificamente, alterando várias sub-frações de proteínas, fato representado pela maior resposta de SPM no estado não-treinado. De fato, Wilkinson et al. (2008) demonstraram que o estado não-treinado apresentou aumentos nas frações SPMio quanto mitocondrial pós-sessão de TF, enquanto o estado treinado apresentou uma elevação apenas na fração miofibrilar, sugerindo que a SPM ficou mais específica com o TF. Em consonância, os dois estudos que compararam a SPMio entre os estados de treinamento [4h pós-exercício em Wilkinson et al. (2008) e 16h pós-exercício em Kim et al. (2005)], demonstraram aumentos semelhante estatisticamente na SPMio (não-treinado: ~67%; treinado: ~36% (WILKINSON et al., 2008); e, não-treinado: ~42%; treinado: ~44% (KIM; STARON; PHILLIPS, 2005)). No entanto, deve-se notar que o aumento da SPMio foi quase duas vezes maior no estado não-treinado em comparação

com o estado treinado (WILKINSON et al., 2008), o que indica que este tema requer um estudo mais aprofundado (ver os dados discutidos na presente Tese).

Para compreender melhor as alterações temporais agudas na SPM mista pós sessão de TF, construímos a Figura 1, com os dados compilados a partir de Tang et al. (2008) e Kim et al. (2005) (usando somente os dados em que a comparação entre os estados de treinamento foi direta), Yarasheski et al. (1992; 1993), Roy et al. (1997) e Phillips et al. (1997) (que não realizaram a comparação direta entre os estados de treinamento, mas incluíram outros pontos temporais de análise usando músculos vasto lateral). Incluímos também um ponto do estudo de MacDougall et al. (1995), embora tenha utilizado os flexores do cotovelo e não dos extensores do joelho, que era o grupo muscular avaliado nos outros estudos. Optamos por incluir dados de MacDougall et al. (1995), uma vez que foi o único estudo que avaliou a SPM num momento tardio (i.e., 36h) depois da sessão de TF, no estado treinado. Reconhecemos as limitações da utilização de dados de diferentes estudos; no entanto, propomos que, neste caso, é instrutivo usar esta abordagem para determinar as diferenças na cinética de modulação da SPM mista entre os estados de treinamento e permitir uma melhor compreensão da dinâmica envolvida na adaptação do músculo durante um período de TF. Como sugerido pela inspeção visual da Figura 1, o aumento inicial na SPM mista é menos pronunciado em não-treinados, no entanto, é mais longo e com pico mais tardio quando comparados com o estado treinado, conclusão semelhante à elaborada por Tang et al. (2008).

Figura 1. Cinética do aumento da síntese de proteína muscular (SPM), após uma sessão de treinamento de força em indivíduos não-treinados e treinados em força. Os dados foram compilados a partir de Tang et al. (2008), Kim et al. (2005), Yarasheski et al. (1992; 1993), Roy et al. (1997), Philips et al. (1997) e MacDougall et al. (1995). Gráfico de dentro, área sob a curva (ASC) para a mudança % na SPM. UA, unidade arbitrária. Figura adaptada de Damas et al. (2015) – ANEXO 2.

Os dados de área sob a curva de SPM mostrados na inserção da Figura 1 sugerem que no estado não-treinado o aumento da SPM nas primeiras 48h após o exercício é aproximadamente 3 vezes maior do que no estado treinado. É importante notar que: 1) O aumento da SPM não reflete obrigatoriamente uma resposta específica de proteínas miofibrilares, ou seja, ele pode ser inespecífico; 2) A quebra na homeostase celular é bem mais pronunciada no estado não-treinado, fato evidenciado, por exemplo, por maiores magnitudes de dano muscular (GIBALA et al., 2000; NEWTON et al., 2008) e consequente necessidade de reparo tecidual neste estado, com possível aumento de sarcômeros em série (YU; CARLSSON; THORNELL, 2004) (ver próximo item da presente Revisão de Literatura que trata do dano muscular induzido por sessão de TF e

suas adaptações com a repetição do exercício); e 3) a natureza relativamente transiente da resposta de SPM no estado treinado, em comparação com o estado não-treinado, é congruente com uma capacidade atenuada para a hipertrofia observada no primeiro. De fato, Ahtiainen et al. (2003) compararam a AST do quadríceps femoral após 21 semanas de TF em indivíduos não-treinados e treinados em TF. Como previsto, os indivíduos treinados mostraram AST muscular maior do que os não-treinados na linha de base; no entanto, após 21 semanas de TF, apenas o grupo não-treinado demonstrou hipertrofia significativa, apesar do volume total de treino significativamente maior do grupo treinado (AHTIAINEN et al., 2003). Neste estudo, no entanto, as comparações realizadas foram entre indivíduos altamente treinados e indivíduos não-treinados e uma pergunta importante e, atualmente, sem resposta, é quando em um programa de TF o músculo passa a demonstrar uma resposta atenuada de SPM (Figura 1) e, mais importante, se esta resposta de SPM, ainda que atenuada, estaria mais fortemente relacionada com a hipertrofia muscular (por um 'refinamento' e aumento da especificidade da SPM com o TF). Como já indicado anteriormente estas e outras perguntas poderiam continuar a ser investigadas e seriam mais adequadamente respondidas com a utilização de métodos de análises integrativas da SPM usando, por exemplo, o método da água deuterada (GASIER; FLUCKEY; PREVIS, 2010; GASIER et al., 2012; MACDONALD et al., 2013; WILKINSON et al., 2014), que permite analisar SPM ao longo de dias ou semanas após o exercício e não têm influência nas atividades diárias dos indivíduos, como utilizamos na presente Tese.

Propomos também que o TF muda o padrão de alterações na SPM de frações proteicas específicas. Aumentos na SPM mista abrangem todas as proteínas e sub-frações de proteínas, o que significa que as diferenças potencialmente importantes entre diferentes proteínas ou suas sub-frações podem ser mascaradas. A resposta da SPMio talvez seja mais relevante do que a da mista, uma vez que proteínas miofibrilares envolvem as proteínas contráteis que estão relacionadas com os resultados hipertróficos e funcionais que são mais relevantes para o TF. No entanto, estimar um curso temporal preciso, em diferentes estados de treinamento da SPMio, é problemático, uma vez que os dados são escassos (KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; WILKINSON et al., 2008). Os estudos disponíveis que compararam a SPMio após sessão de TF entre indivíduos em

diferentes estados de treinamento apontam para uma resposta qualitativamente semelhante aos relatados para a taxa mista apresentados na Figura 1. Como mostrado na Figura 2, há uma área sob da curva maior (~43%) para SPMio no estado não-treinado em comparação com o estado treinado. É importante ressaltar que em nenhum destes estudos a SPMio retornou aos níveis de repouso e, portanto, ao contrário da resposta da taxa mista (Figura 1), ainda não se têm conhecimento do curso temporal exato da SPMio nos estados não-treinado e treinado em TF.

Figura 2. Cinética de aumento da síntese de proteína miofibrilar (SPMio) após uma sessão de exercícios de força em indivíduos não-treinados e treinados em força. Os dados foram compilados a partir de Kim et al. (2005) e Wilkinson et al. (2008). Gráfico de dentro, área sob a curva (ASC) para a mudança % na SPMio. UA, unidade arbitrária. Figura adaptada de (DAMAS et al., 2015) – ANEXO 2.

Como conclusão, tem-se que a taxa de SPM, tanto mista quanto miofibrilar, parece ser estimulada pós-sessão de TF mais potentemente no estado não-treinado do que no estado treinado em TF. No entanto, não se sabe quão cedo no decorrer de um período de TF estas respostas de SPM/SPMio pós-sessão são atenuadas. Adicionalmente, as implicações na hipertrofia muscular e nos mecanismos associados a tais modulações na SPM/SPMio pós-exercício com a repetição do estímulo de TF, ainda são obscuros. Portanto, a presente Tese buscou responder as seguintes perguntas: 1) a resposta de SPMio é atenuada rapidamente no decorrer do TF (i.e., já nas primeiras sessões)?; 2) qual a relevância para a hipertrofia muscular (aumentos na ASTf e músculo como um todo) do potente aumento na SPMio inicial e da atenuada resposta da SPMio com o TF?; 3) quais são os mecanismos envolvidos com a atenuação da SPMio pós-sessão com a prática do TF?

3.2 Dano muscular induzido por sessão de TF e sua adaptação

Há mais de um século o dano muscular induzido por exercício vem sendo estudado (HOUGH, 1900). O primeiro estudo realizado sobre o tema data do fim do século XIX e início do século XX, no qual Hough (1900) estudou a dor muscular induzida pelo exercício, reportando-a como não decorrente da fadiga do exercício, mas advinda de lesões no músculo, envolvendo rupturas nas fibras musculares, tecido conjuntivo ou nervoso, podendo envolver inflamação no tecido conjuntivo intersticial. A partir deste, diversos pesquisadores vêm examinando este processo, contribuindo com a descrição do processo de dano muscular ocasionado por sessão de TF (e.g., CLARKSON et al., 1986; FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993; NOSAKA; CLARKSON, 1995; NOSAKA; CLARKSON, 1996a; STUPKA et al., 2000; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a; CLARKSON; HUBAL, 2002; MCHUGH, 2003; PEAKE et al., 2005; CHAPMAN et al., 2008a; CHEN et al., 2011; NOGUEIRA et al., 2014b).

A realização de uma única sessão de TF promove perturbações na homeostase muscular e, principalmente quando realizado no estado não-treinado, o estresse do exercício induz alterações na morfologia muscular, perda de sua capacidade funcional, rigidez e dor muscular, edema/inchaço do membro exercitado e extravasamento de

proteínas musculares para a corrente sanguínea (CLARKSON; HUBAL, 2002; PAULSEN et al., 2012; CHAPMAN et al., 2013; DAMAS et al., 2016a; DAMAS et al., 2016b; DAMAS et al., 2016c). Alterações na morfologia muscular envolvem rompimento do sarcolema, retículo sarcoplasmático, túbulos T, tecido conjuntivo, elementos contráteis e citoesqueleto (e.g., desarranjo/rompimento de linhas-Z sarcomerais), e presença de infiltrados inflamatórios (GIBALA et al., 2000; VIERCK et al., 2000; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002b; MCHUGH, 2003; YU; CARLSSON; THORNELL, 2004; PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005; PAULSEN et al., 2010; DAMAS et al., 2016b). Casos mais severos de dano muscular podem acarretar na perda de importantes proteínas estruturais do sarcômero como a desmina e distrofina (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a), e/ou levar à necrose segmentar em fibras musculares (LAURITZEN et al., 2009). Estes fatores morfológicos são considerados como marcadores diretos de dano muscular induzido por exercício, e para sua avaliação em humanos são necessários procedimentos de biópsia muscular e análises histológicas. É importante notar que, mesmo com o procedimento de biópsias musculares, as amostras sequenciais de tecido muscular não podem ser obtidas a partir de um único local de incisão em repetidas ocasiões, devido à formação de tecido cicatricial; e a utilização de diferentes locais de incisão aumenta a variabilidade dos dados, indicando que a ocorrência de dano muscular não é homogênea ao longo do volume do músculo (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002b).

Portanto, os pesquisadores optaram por uma alternativa que consiste em avaliar marcadores indiretos de dano muscular, envolvendo medidas de força e/ou potência muscular, amplitude de movimento articular, dor muscular de início tardio (DMIT), circunferência de membro, espessura muscular e edema (avaliadas, por exemplo, por meio de ultrassonografia – intensidade eco (Eco-US)) e atividade/concentração de proteínas musculares na corrente sanguínea como a CK, Mb e troponina (NOSAKA; CLARKSON, 1995; NOSAKA; CLARKSON, 1996a; NOSAKA et al., 2005; CHAPMAN et al., 2008b; CONCEIÇÃO et al., 2012; HUNTER et al., 2012; NEWTON et al., 2012; CHAPMAN et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2014b; DAMAS et al., 2016a; DAMAS et al., 2016c). Estes marcadores buscam descrever o estado funcional do músculo, a integridade estrutural e da membrana plasmática (sarcolema) e de parâmetros práticos

(e.g., dor muscular). A avaliação destes marcadores baseia-se no pressuposto de que a magnitude de dano muscular é melhor representada por um conjunto destes marcadores indiretos associados com a condição geral do músculo frente ao dano muscular, representando os diversos processos fisiológicos alterados (NEWHAM, 1988; HOWELL; CHLEBOUN; CONATSER, 1993; RODENBURG; BAR; DE BOER, 1993; WARREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999). No entanto, o problema de se usar um conjunto de marcadores para descrever um mesmo fenômeno (i.e., o dano muscular) é que suas respostas nem sempre convergem (LAVENDER; NOSAKA, 2006; CHAPMAN et al., 2008a; LAVENDER; NOSAKA, 2008). Por exemplo, Chapman et al. (2008a) demonstraram diferenças significantes entre 210 contrações excêntricas máximas rápidas versus lentas para a contração voluntária isométrica máxima (CVIM), atividade de CK sanguínea e amplitude de movimento após o exercício, mas reportaram respostas similares entre os grupos para a DMIT e circunferência de membro. Lavender e Nosaka (2006) mostraram que as respostas de CVIM, DMIT e amplitude de movimento ao exercício excêntrico foram significativamente diferentes entre homens jovens e idosos, mas a circunferência de membro foi similar entre os grupos. Por fim, Lavender e Nosaka (2008) demonstraram respostas similares da CVIM, atividade de CK, amplitude de movimento e circunferência de membro após exercício excêntrico entre homens jovens e de meia-idade, mas a DMIT foi diferente entre os grupos. Esta disparidade entre marcadores pode ter acontecido devido à grande variabilidade interindivíduos à suscetibilidade ao dano muscular, uma vez que vários fatores individuais podem interferir nesta resposta, como, por exemplo (mas não limitado à), a novidade do exercício (praticantes iniciantes do TF sofrem maiores magnitudes de dano muscular do que indivíduos treinados em TF (NOSAKA et al., 1991; GIBALA et al., 2000; NEWTON et al., 2008; CHEN et al., 2012b; DAMAS et al., 2016b), uso dos músculos em atividades de vida diária (CHEN et al., 2011), flexibilidade (MCHUGH et al., 1999b), alguns fatores genéticos (CLARKSON et al., 2005; DEVANEY et al., 2007), e esforço realizado no exercício (SAYERS; KNIGHT; CLARKSON, 2003; CHEN et al., 2012b). Alta variabilidade interindivíduos para os marcadores indiretos de dano muscular foi encontrada até mesmo quando os participantes realizaram o mesmo protocolo de exercício (CLARKSON; NOSAKA; BRAUN, 1992; NOSAKA; CLARKSON, 1996b; GULBIN; GAFFNEY, 2002;

SAYERS; KNIGHT; CLARKSON, 2003; CHEN, 2006; HUBAL; RUBINSTEIN; CLARKSON, 2007; PAULSEN et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2014a), se configurando como provável causa de resultados contraditórios e incertezas quanto a etiologia do dano muscular (PAULSEN et al., 2012).

Ainda assim, pesquisadores concordam que, em especial, a medida da capacidade de geração de força muscular, e.g., avaliação da CVIM, é um marcador válido e confiável de dano muscular pós-exercício ((FAULKNER; OPITECK; BROOKS, 1992; WARREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999; PROSKE; MORGAN, 2001). A força muscular foi altamente correlacionada ($r = 0,89$) com rompimentos miofibrilares (RAASTAD et al., 2010) e, de fato, a redução prolongada na força muscular é considerada o melhor marcador indireto de dano muscular, por avaliar a capacidade funcional do músculo como um todo (WARREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999; PAULSEN et al., 2012). Resultados recentes do nosso grupo, corroboraram com estas sugestões, consolidando a capacidade de geração de força muscular pós-exercício como o principal marcador indireto de dano muscular (DAMAS et al., 2016a) (ANEXO 3). Com uma grande amostra ($N = 286$), reportamos que estratificando (procedimento de *clustering*) uma grande amostra de indivíduos baseados na maior redução de força após o exercício, organizou-se as respostas dos outros marcadores indiretos, aumentando a precisão de estimativa da magnitude de dano muscular por meio de outros marcadores indiretos, como a DMIT, atividade de CK, amplitude de movimento e circunferência de membro, validando seu uso extensivo através dos últimos anos para representar o grau de dano muscular induzido por exercício (DAMAS et al., 2016a) (Figura 3).

Figura 3. Os painéis A-E mostram a distribuição de dados individuais e as médias [DP] nos marcadores indiretos de dano muscular antes do procedimento de *clustering*. O painel F apresenta a classificação do cluster de baixos respondedores (BR), cluster de moderados respondedores (MR) e cluster de alta respondedores (AR) baseado em uma análise de k-cluster usando as maiores quedas na contração voluntária isométrica máxima (CVIM) observadas 1-5 dias após exercício excêntrico máximo de flexores do cotovelo (pré = 100%). Os painéis G-J mostram mudanças de pico na dor muscular (DMIT, pré = 0mm), atividade de creatina quinase (CK) máxima, pico de mudança na amplitude de movimento (pré = 100%); e pico de mudanças na circunferência do braço (pré = 0mm) após o exercício excêntrico máximo de flexores do cotovelo nos clusters pré-formados com base na queda de CVIM. ^a: significativamente ($P < 0,02$) diferente de BR; ^b: significativamente ($P < 0,01$) diferente de MR. Figura adaptada de Damas et al. (2016a) – ANEXO 3.

Interessantemente, Paulsen et al. (2012) utilizaram justamente o melhor marcador indireto de dano muscular (força muscular) e resultados de diversos estudos com diferentes medidas e magnitudes de dano muscular, para propor uma estratégia de classificação do dano muscular individualmente: perdas na capacidade de geração de força muscular menores que 20% e recuperação total em 1-2 dias indicariam nenhum sinal de necrose e poucas alterações morfológicas, se configurando como dano muscular leve; perdas na capacidade de geração de força entre 20-50% e recuperação total entre 2-7 dias, indicariam moderadas mudanças morfológicas e pouca/nenhuma necrose

segmentar, se configurando como dano muscular moderado; por fim, perdas da capacidade de geração de força maiores que 50% e recuperação total além de uma semana, indicariam grandes alterações morfológicas, com sinais claros de necrose segmentar, se configurando como dano muscular severo. No mesmo estudo citado antes do nosso grupo, demonstramos que realmente há uma ampla gama de respostas ao dano muscular interindivíduos, após protocolo de exercício excêntrico (DAMAS et al., 2016a), encontrando todos os três graus de dano muscular propostos por Paulsen et al. (2012) na mesma amostra após protocolos de exercício excêntrico bem similares.

A magnitude e duração destas respostas ao dano muscular, bem como se o músculo conseguirá se adaptar positivamente ao estímulo, depende da severidade do dano muscular induzido pelo protocolo de exercício. Alguns dos fatores que influenciam a magnitude da resposta do dano muscular são: a natureza das contrações (e.g., contrações excêntricas – de alongamento, promovem maiores magnitudes de dano muscular que concêntricas ou isométricas) (ASMUSSEN, 1956; GIBALA et al., 1995; NOSAKA; NEWTON, 2002a; PHILIPPOU et al., 2004), o volume/intensidade do TF (quanto maior volume e/ou intensidade, maior o dano muscular) (CHEN; NOSAKA; SACCO, 2007; CHAPMAN et al., 2008a; CHEN et al., 2012b), o grupo muscular exercitado (músculos flexores do cotovelo são mais suscetíveis ao dano muscular que músculos extensores do joelho) (CHEN et al., 2011), o modo de ativação muscular (ativação muscular por meio de estimulação elétrica gera maior magnitude de dano muscular que ativação voluntária) (CRAMERI et al., 2007), e o estado de treinamento (indivíduos treinados sofrem menos dano muscular do que não-treinados) (GIBALA et al., 2000; NEWTON et al., 2008). Portanto, tanto marcadores diretos como indiretos se modificarão de acordo com a magnitude de dano muscular induzido pela sessão de TF. Protocolos envolvendo contrações excêntricas máximas e/ou com alto volume de TF, num estado não-treinado, produzem grandes alterações nas linhas-Z (~80% de fibras acometidas ou indicações de extensivo rompimento de linhas-Z) (GIBALA et al., 1995; STUPKA et al., 2001; BEATON et al., 2002; LAURITZEN et al., 2009) podendo acarretar até mesmo em perda de desmina e distrofina (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a) e em sinais de necrose segmentar em fibras musculares (LAURITZEN et al., 2009), prejudicando o reparo/remodelamento completo e ‘preparo’ da musculatura para

as próximas sessões de treino/adaptações. Casos de rabdomiólise, i.e., um estado que inclui urina escura indicando mioglobínúria além dos sintomas citados anteriormente, também pode ocorrer em casos severos de dano muscular (KNOCHEL, 1982; CLARKSON et al., 2006). Quanto aos marcadores indiretos, altas magnitudes de dano muscular estão associadas à reduções maiores que 50% na capacidade de geração de força, dor muscular de ~65-100 mm, e aumentos na atividade de CK no sangue maiores de 10.000 UI/L (média ~12.000 UI/L e valores máximos de até 66.300 UI/L) (NOSAKA; CLARKSON, 1996b; PAULSEN et al., 2010; DAMAS et al., 2016a). Adicionalmente à magnitude das respostas agudas ao dano muscular, outro fator importante a ser considerado é a cinética e duração destas respostas. Efeitos prolongados de decréscimo na função muscular bem como períodos prolongados de dor muscular, por exemplo, podem acarretar em quedas (especialmente importantes de serem consideradas no caso de idosos) levando possivelmente à lesões, prejuízos na performance em competições, ou perdas de sessões de treino consequentes. Desta forma, tanto no âmbito de saúde pública, como no desempenho de atletas e progressão do processo de treinamento, longos períodos de recuperação (devido ao dano muscular) devem ser monitorados e minimizados. A seguir, descrevemos as etapas, em um curso temporal, envolvidas no acometimento do dano e reparo muscular após exercício.

Durante a sessão de TF há significativa fadiga muscular contribuindo ativamente para a perda de produção de força (por este motivo, quedas no desempenho muscular imediatamente após a sessão de TF não são consideradas como um bom marcador de dano muscular (NOSAKA et al., 2006), i.e. pela presença importante da fadiga neste momento), porém, conjuntamente, a força mecânica envolvida no exercício pode levar a rompimentos em estruturas miofibrilares (e.g., desarranjo de linhas-Z, se dano leve à moderado; rompimento de linhas-Z, se dano moderado à severo), em estruturas envolvidas com o acoplamento de excitação-contração, como retículo sarcoplasmático e túbulos T, e no tecido conjuntivo (PAULSEN et al., 2012). Nas primeiras horas após o exercício, há o começo da recuperação da fadiga, porém um possível prejuízo na regulação de cálcio por meio de dano nas estruturas de acoplamento de excitação-contração, ativa vias de degradação dependentes de cálcio, como a via das calpaínas (RAASTAD et al., 2010), elevando a magnitude do dano às estruturas miofibrilares. Por

outro lado, também neste momento o processo de reparo é iniciado por meio de uma resposta inflamatória com acúmulo de leucócitos (PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005). Neutrófilos invadem o tecido danificado nestas primeiras horas após o exercício, ficando presentes até 24h após a sessão de TF indutora de dano muscular (MACINTYRE et al., 2000; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a). Após 24h, macrófagos podem infiltrar no músculo (MALM et al., 2000; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a). Neutrófilos e macrófagos têm papel, inicialmente, de degradar segmentos musculares necróticos, removendo *debris* celulares, e, posteriormente, liberam fatores (citocinas, discutidas a seguir) necessários para o reparo muscular (PYNE, 1994; TIDBALL, 1995; CHAZAUD et al., 2009; PAULSEN et al., 2012). Ainda assim, é necessário frisar que a adaptação muscular em situações de dano muscular leve à moderado pode ocorrer sem que haja infiltração de neutrófilos e macrófagos (MALM et al., 2000; PAULSEN et al., 2012). Magnitudes menos severas de dano muscular não induzem a uma resposta degenerativa, portanto, não requerem infiltração de neutrófilos/macrófagos. Tanto leucócitos quanto as próprias fibras musculares produzem moléculas mensageiras associadas ao processo inflamatório agudo do dano muscular induzido por sessão de TF: as citocinas (PEDERSEN, 2011). Nesta fase logo após o dano muscular (i.e., 24h após), as citocinas liberadas são basicamente de caráter/função pró-inflamatória, e.g., fator de necrose tumoral alpha (TNF- α), interleucina 1-beta (IL-1 β), IL-6 (que também tem função anti-inflamatória), entre outras. Esta resposta pró-inflamatória das citocinas facilita o influxo de células do sistema imune, como neutrófilos e monócitos (PETERSEN; PEDERSEN, 2005). No entanto, a resposta de leucócitos (neutrófilos e macrófagos) e de citocinas pró-inflamatórias são minimizada em casos de dano leve à moderado (PAULSEN et al., 2012). Especificamente quanto às citocinas, até mesmo em protocolos envolvendo dano muscular severo, nem sempre ocorre aumento sistêmico de citocinas pró-inflamatórias (BERTON et al., 2012). Por outro lado, uma resposta anti-inflamatória da sessão de TF envolvendo citocinas como a IL-6 e IL-10, por exemplo, parece ser bem característica no processo de reparo (HIROSE et al., 2004; CONCEIÇÃO et al., 2012). O processo de dano muscular/reparo do tecido muscular envolve participação de outras citocinas como a IL-15, e fatores de crescimento, como o fator de crescimento do fibroblasto (FGF) e o fator de crescimento induzido por estresse mecânico (MGF) com

ações autócrinas e/ou parácrinas que aumentam a síntese proteica para o remodelamento do tecido (ALLEN; BOXHORN, 1989; NIELSEN; PEDERSEN, 2007; MCKAY et al., 2008b).

Finalmente, o processo de reparo/remodelamento envolve também participação do programa miogênico, modulando a atividade de células satélites. Células satélites são células mononucleadas, indiferenciadas, localizadas entre o sarcolema e a membrana basal (MAURO, 1961). Frente ao dano muscular, as células satélites podem ser ativadas por fatores de crescimento miogênicos (HAWKE; GARRY, 2001; HAWKE, 2005), citocinas (SERRANO et al., 2008; MCKAY et al., 2009), e sobrecarga mecânica (TIDBALL, 2005), se proliferando e diferenciando, para finalmente se fundirem às células musculares, doando seus mionúcleos às mesmas e, conseqüentemente, aumentando a capacidade de transcrição de proteínas (CHARGE; RUDNICKI, 2004; FOLLAND; WILLIAMS, 2007; O'REILLY et al., 2008; LEPPER; PARTRIDGE; FAN, 2011). Dentre os fatores de crescimento envolvidos na atividade de células satélites estão o fator de crescimento do hepatócito (HGF) e o MGF, que são conhecidos por induzir a ativação e proliferação, mas não a diferenciação de células satélites (HILL; WERNIG; GOLDSPIK, 2003; ATES et al., 2007; MCKAY et al., 2008a; O'REILLY et al., 2008; SNIJDERS et al., 2015). Por outro lado, um conhecido regulador negativo da atividade de células satélites é a miostatina, que inibe a ativação, proliferação e diferenciação das mesmas (THOMAS et al., 2000; MCCROSKERY et al., 2003). Em cada fase do ciclo miogênico (quiescência, ativação, proliferação, diferenciação) as células satélites expressam diferentes fatores relacionados à atividade miogênica (MRFs). Especificamente, no estado quiescente, 90% das células satélites expressam o fator de transcrição box pareado 7 (Pax7) e o fator miogênico 5 (MYF5), chamadas de células satélites “comprometidas”. Os outros 10% são células satélites “tronco” (Pax7+; MYF5-). Quando ativadas, 98% de células satélites expressam além de Pax7 e MYF5, o fator determinante miogênico (MyoD) e proliferam. Na fase final de diferenciação, há *down-regulation* do Pax7 e expressão de miogenina (ZAMMIT et al., 2004; WANG; RUDNICKI, 2012). Em conjunto, a resposta inflamatória (incluindo citocinas), liberação de fatores de crescimento e atividade de células satélites, podem aumentar a síntese proteica ativando vias que regulam a iniciação da tradução, como a via da mTORC1 – p70S6K, que é uma das principais reguladoras do crescimento

celular (BODINE, 2006), ou através da ligação a promotores de genes musculares (sequências de DNA músculo-específicas) ativando a miogênese (SABOURIN; RUDNICKI, 2000), a fim de reparar e reforçar o tecido danificado.

Outro componente importante do reparo ao dano muscular é a de-adesão seguida do remodelamento da matriz extracelular (MACKEY et al., 2011b; HYLDAHL et al., 2015). Uma sessão de TF indutora de dano muscular promove aumento da expressão de proteínas de de-adesão da matriz extracelular seguida de uma resposta anabólica de componentes da matriz extracelular, remodelando e adaptando-a ao estresse do exercício (HYLDAHL et al., 2015). Adicionalmente, as células satélites que residem e se movimentam dentro da matriz extracelular, sendo um importante componente desta, interagem com o tecido conjuntivo e fibroblastos (MURPHY et al., 2011). Desta forma, a atividade de células satélites também está relacionada (e talvez seja a principal função das células satélites no processo de reparo) à de-adesão e remodelamento da matriz extracelular em resposta ao dano muscular, como demonstrado anteriormente (MACKEY et al., 2011b). Um estado de forte adesão da matriz extracelular (e.g., em situações de ausência de dano muscular), as células satélites se mantêm num estado quiescente (CAO et al., 2003), porém um ambiente de de-adesão da matriz extracelular (e.g., com o dano muscular induzido por exercício) está relacionado com a movimentação e proliferação de células satélites e remodelamento do tecido (PALECEK et al., 1997; MURPHY-ULLRICH, 2001).

O completo reparo do tecido depende da magnitude de dano muscular induzido pela sessão de TF, podendo levar de alguns dias à semanas (PAULSEN et al., 2012; DAMAS et al., 2016a). No entanto, a repetição do estímulo de sessão de TF promove um efeito adaptativo importante, atenuando a magnitude e duração do dano muscular em sessões subsequentes de TF. Este efeito é conhecido como efeito do exercício repetido, ou também como “efeito da carga repetida” ou “efeito protetor”, e ocorre por meio de adaptações neurais, celulares e do tecido conjuntivo (MCHUGH et al., 1999a; MCHUGH; TETRO, 2003), podendo se estender por até seis meses após a ocorrência de dano muscular ocasionado por uma sessão de TF (NOSAKA et al., 2001). Interessantemente, poucos estudos avaliaram o efeito da carga repetida por meio de marcadores diretos de dano muscular (GIBALA et al., 1995; HORTOBAGYI et al., 1998; GIBALA et al., 2000;

PAULSEN et al., 2009). Hortobagyi et al. (1998) e Paulsen et al. (2009) trabalhando com duas sessões subsequentes envolvendo contrações excêntricas, demonstraram que a magnitude de rompimento miofibrilar foi atenuada após a segunda sessão, em comparação com a modificação causada pela sessão no estado não-treinado. Gibala et al. (1995; 2000) numa sequência de estudos, demonstraram que indivíduos não-treinados apresentaram maior magnitude de dano muscular (i.e. ~40% das fibras musculares sofreram dano muscular severo – rompimentos de linhas-Z sarcomerais) comparados com indivíduos previamente treinados em força após sessão de TF (apenas 3% das fibras apresentaram dano muscular severo). Com relação à marcadores indiretos de dano muscular, o efeito de carga repetida já foi extensivamente investigado (e.g., NOSAKA et al., 1991; NOSAKA; CLARKSON, 1997; NOSAKA; NEWTON, 2002b; CHEN; NOSAKA; SACCO, 2007; CHEN et al., 2010; CHEN; NOSAKA; CHEN, 2012; CHEN et al., 2012a; CHEN et al., 2012b; CHEN et al., 2013a; CHEN et al., 2013b). Nesses marcadores observa-se que o efeito da carga repetida é particularmente potente, atenuando fortemente a magnitude e duração das mudanças na capacidade de produção de força, dor muscular de início tardio, atividade de proteínas musculares na corrente sanguínea, rigidez articular, e inchaço muscular, rapidamente, i.e., já após uma segunda sessão de exercícios (NOSAKA et al., 1991; CHEN; NOSAKA; SACCO, 2007). Como curiosidade, a repetição do estímulo de exercício antes mesmo da completa recuperação do dano muscular (avaliado por meio de marcadores indiretos de dano muscular) inicial não agrava o dano muscular nem retarda seu reparo (NOSAKA; NEWTON, 2002b). Porém, a magnitude e duração deste efeito protetor parece ser dependente do estímulo de TF realizado anteriormente. Por exemplo, Chen et al. (2012b) compararam diferentes intensidades de contrações excêntricas e isométricas, relatando maior efeito protetor para intensidades altas/máximas e contrações excêntricas, porém alguma magnitude efeito protetor pode ainda ser observada com a realização prévia (antes de uma sessão de contrações excêntricas máximas) de contrações excêntricas à 20% de intensidade de uma contração isométrica máxima ou ainda contrações isométricas isoladas à 20° de flexão do cotovelo (CHEN et al., 2012b). Porém, o efeito protetor conseguido por meio de baixas intensidades e/ou contrações isométricas parece não durar muito tempo (por volta de 1 à 2 semanas somente) (CHEN; NOSAKA; CHEN, 2012).

Por fim, outras estruturas também parecem ser envolvidas no efeito do exercício repetido. Por exemplo, analisando as mudanças que ocorrem na matriz extracelular com o exercício repetido, Hyldahl et al. (2015) demonstraram que a imunorreatividade da tenascina-C (proteínas envolvidas na de-adesão e remodelamento da matriz extracelular) aumentou significativamente após a primeira sessão de TF, mas não após o exercício repetido. Em adição, os autores mostraram que a primeira sessão de TF promoveu aumento da expressão de colágenos I, III e IV (componentes da matriz extracelular), no entanto, a expressão destes fatores não foi alterada na sessão de TF seguinte. Portanto, a rápida de-adesão da matriz extracelular permitiu o remodelamento subsequentemente da mesma, contribuindo para o efeito de carga repetida (HYLDAHL et al., 2015). De maneira similar aos outros componentes da matriz extracelular, a quantidade de células satélites aumentou somente após a primeira sessão de TF (HYLDAHL et al., 2015), reforçando o importante papel das mesmas no reparo ao dano muscular em nível da matriz extracelular, ao menos nos estágios iniciais do TF.

Sumarizando, o dano muscular induzido pelo TF envolve vários efeitos deletérios na musculatura, como mudanças na sua morfologia, perda de função muscular, extravasamento de proteínas intramusculares para a corrente sanguínea, aumento de dor, inchaço e redução de amplitude articular no membro exercitado. Porém, segue-se uma resposta de reparo envolvendo células do sistema imune, liberação de citocinas, fatores de crescimento e atividade de células satélites, a fim de remodelar os tecidos submetidos ao estresse da sessão de TF. Com a repetição do estímulo de exercício, há a atenuação do dano muscular pós-sessão de exercício (efeito do exercício repetido), podendo ser observada por meio de diversos marcadores diretos e indiretos de dano muscular, indicando uma potente adaptação das próprias fibras musculares e dos tecidos adjacentes.

O próximo item desta revisão de literatura vai abordar o estado da arte da literatura antes da presente Tese no tocante ao principal tema deste trabalho: a relação entre o dano muscular induzido por exercício (e sua adaptação com a repetição do estímulo de exercício – efeito do exercício repetido), a SPM e suas modulações agudas e crônicas com o processo de TF, e a hipertrofia muscular induzida pela prática crônica do TF.

3.3 Possível relação entre dano muscular e respostas hipertróficas

Como desenvolvido anteriormente, o processo de dano muscular induzido por sessão de TF envolve várias alterações agudas, de caráter deletério, na morfologia e função musculares. Porém, seguem-se eventos de reparo envolvendo a resposta inflamatória, liberação de fatores de crescimento e citocinas e participação de células satélites. Em conjunto, estes processos promovem aumentos na SPM com objetivo de remodelar e fortalecer as estruturas musculares submetidas à sessão de TF. Portanto, um processo potencialmente importante que poderia se relacionar, ou até mesmo ser mecanisticamente ligado ao maior potencial de transcrição/tradução (modulação da taxa de SPM) após sessão de TF é a magnitude de dano muscular.

O que é interessante, e tema de várias discussões, é se a magnitude de dano muscular aumentada inicialmente pelo TF poderia mesmo acarretar em maior resposta hipertrófica muscular, uma vez que o dano muscular provoca prejuízos funcionais (e.g., redução da força muscular) e dor muscular por dias após a sessão de TF, podendo interferir negativamente no desempenho de sessões subsequentes de TF. De fato, como descrito anteriormente, foi relatado que o remodelamento do músculo devido à alta tensão muscular produzida na sessão de TF é concomitante à função muscular prejudicada (força muscular reduzida). No entanto, há estudos que apontam para o comprometimento funcional sem necessariamente envolver estruturas intramusculares, como o sistema contrátil por exemplo, principalmente quando se considera as contrações musculares voluntárias em seres humanos (FRIDEN; LIEBER, 2001; WARREN et al., 2001; WARREN et al., 2002). Estes artigos indicam que a maior parte da perda de força muscular precoce após o estresse elevado da sessão de TF, ocorre devido a uma falha nos mecanismos de acoplamento de excitação-contração, envolvendo, por exemplo, estruturas relacionadas com a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, a despolarização do sarcolema, transmissão de sinal através de túbulos T, e liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (FRIDEN; LIEBER, 2001; WARREN et al., 2001; WARREN et al., 2002). Além disso, a DMIT advinda do exercício, outro sintoma relacionado com o processo de dano muscular (CLARKSON; NOSAKA; BRAUN, 1992; CLARKSON; HUBAL, 2002), não foi relacionada com a infiltração de leucócitos no

músculo esquelético humano (MALM et al., 2000), e, como curiosidade, neste estudo, um sujeito com grave DMIT não mostrou nenhuma mudança na marcação de desmina analisada em várias biópsias musculares sequenciais diferentes. Analisando a fonte de DMIT após o exercício, Malm et al. (2004) indicaram que a DMIT parece estar mais relacionada com eventos inflamatórios no tecido conjuntivo, em vez do próprio músculo. De fato, a DMIT foi relacionada com reações imunológicas no epimísio, mas não com alterações intra-fibra muscular, e nenhum sinal de inflamação em células musculares foi encontrado após o exercício (MALM et al., 2004), como outros pesquisadores já haviam indicado antes (WARREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999). Portanto, estes fatos parecem começar a dissociar os mecanismos de dano muscular induzido por exercício e a resposta hipertrófica de fibras musculares promovida pelo TF.

Ainda que as respostas de marcadores indiretos de dano muscular não reflitam o que acontece intra-celularmente (i.e., com as fibras musculares), a execução de sessão de TF (principalmente quando é realizado de no estado não-treinado) induz áreas de remodelamento nas fibras que ativam mecanismos adaptativos responsáveis por reparar e fortalecer o tecido muscular que foi submetido à alta tensão do exercício. O dano muscular induzido pela sessão de TF foi demonstrado ser concomitante ao aumento da expressão de MGF (MCKAY et al., 2008a), aumento da sinalização de Akt/fator de iniciação eucariótico 2 (eIF2) (MURTON et al., 2014) e aumento da atividade de quinases reguladoras de sinais extracelulares (KEFALOYIANNI; GAITANAKI; BEIS, 2006), processos esses relacionados com o aumento da SPM. Desta forma, o fato da magnitude de dano muscular no início do TF, i.e. estado não-treinado, e a SPM pós-sessão serem elevados, fez com que pesquisadores especulassem que o dano muscular ocasionaria um efeito adicional na hipertrofia muscular ou mesmo que seria um requisito para produzir aumentos na AST muscular/ASTf (GIBALA et al., 2000; MOORE et al., 2005; SHEPSTONE et al., 2005). Especificamente, Gibala et al. (2000) indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o percentual de rupturas miofibrilares pós-exercício concêntrico e excêntrico (excêntrico: ~45%; concêntrico: ~27%), e as taxas de SPM também foram semelhantes entre os dois modos de exercício (excêntrico: ~0,049%•h⁻¹; concêntrico: ~0,055%•h⁻¹). Este padrão de resposta também foi demonstrado anteriormente (PHILLIPS et al., 1997). Estes resultados parecem indicar

que a magnitude de rompimentos de linhas-Z após o exercício é similar entre os modos de exercício, e que o aumento na SPM também foi similar entre eles. Em contraste com os dados de Gibala et al. (2000), Shepstone et al. (2005) demonstraram que o exercício excêntrico rápido ocasionou maior magnitude de rompimentos de linhas-Z quando comparado com o exercício excêntrico lento (~185% maior rompimento de linhas-Z), e os autores especularam que esta diferença foi significativa para ocasionar efeitos aditivos hipertróficos em ASTf tipo II após um programa de TF. Finalmente, Moore et al. (2005) examinaram a integridade de linhas-Z e a taxa de SPMio 4,5h e 8,5h após a execução de exercício excêntrico e concêntrico máximos de extensão de joelho igualados pelo volume total de treino. As áreas de rompimento de linhas-Z induzidas por exercício excêntrico foram significativamente maiores do que as induzidas por exercício concêntrico (excêntrico: ~9,9 areas·mm⁻²; concêntrico: ~1,7 areas·mm⁻²); e o exercício excêntrico promoveu um aumento mais rápido na SPMio comparado com o concêntrico, além da estimulação da SPMio nas 8,5h pós-exercício ter sido significativamente maior no exercício excêntrico que concêntrico (~0,25% e ~0,19%, respectivamente) (MOORE et al., 2005). Neste ponto, o leitor poderia concluir, precocemente, que o fato de maiores áreas de remodelamento de linhas-Z estarem possivelmente relacionados à maiores aumentos na taxa de SPM pós-exercício, ocasionaria, cronicamente, um maior aumento da ASTf. No entanto, esta conclusão necessita cautela, pois a maior estimulação da SPM pós-exercício graças ao dano muscular pode estar mais intimamente relacionada com o reparo/remodelamento da musculatura afetada pelo dano muscular do que a aumentos na ASTf (hipertrofia) em si. Desta forma, um dos prováveis motivos da elevação da SPM/SPMio pós-exercício ser atenuada com a repetição do estímulo da sessão de TF (DAMAS et al., 2015) e da resposta inicial da SPM à primeira sessão de TF não ser correlacionada quantitativamente com a magnitude de hipertrofia muscular crônica individual (MAYHEW et al., 2009; MITCHELL et al., 2014; MITCHELL et al., 2015) pode ser o pronunciado dano muscular induzido no início do TF.

Um mecanismo potencialmente relevante de ser investigado para compreender a relação entre dano muscular e hipertrofia muscular num período crônico de TF mais profundamente é a modulação de células satélites. As células satélites, além de estarem relacionadas com o processo de reparo ao dano muscular, grandes magnitudes de

hipertrofia muscular parecem requisitar a participação de células satélites por meio de adição de novos mionúcleos às fibras musculares (FOLLAND; WILLIAMS, 2007; PETRELLA et al., 2008). Essa necessidade de aumento do número de mionúcleos com grandes magnitudes de hipertrofia está relacionada com o conceito de domínio mionuclear, i.e., cada mionúcleo pode controlar a transcrição e consequente síntese de proteínas de um volume finito de citoplasma (CHEEK, 1985). Desta forma, o aumento do domínio mionuclear por meio do aumento da ASTf induzida pelo TF pode alcançar um efeito teto, necessitando, portanto, de mais mionúcleos (advindos de células satélites) para continuar a aumentar o volume citoplasmático. Um teórico limite de domínio mionuclear foi sugerido anteriormente como sendo aproximadamente 2000 μm^2 ou um aumento na área ASTf muscular maior que 26% (KADI et al., 2004; PETRELLA et al., 2006). Contudo, o papel das células satélites na hipertrofia muscular tem sido objeto de intenso debate (BODINE, 2007; BOOTH, 2007; HIKIDA, 2007; KADI, 2007; LOWE, 2007; MANTILLA; SIECK, 2007; MCCARTHY; ESSER, 2007; O'CONNOR; PAVLATH, 2007; O'CONNOR et al., 2007; REHFELDT, 2007; MCCARTHY et al., 2011; JACKSON et al., 2012; FRY et al., 2014), pois a exata contribuição das células satélites no crescimento muscular, especialmente na hipertrofia muscular humana induzida por TF, está longe de ser completamente esclarecida. Portanto, as células satélites parecem estar envolvidas nos dois processos biológicos discutidos aqui: o dano/remodelamento e a hipertrofia muscular. Se há alguma relação entre a quantidade de células satélites que são ativadas no processo de reparo devido às primeiras sessões de TF (estado não-treinado) e a doação de mionúcleos às fibras musculares por meio de células satélites quando há um grande aumento da ASTf em períodos posteriores do TF (estado treinado), ainda é altamente especulativo. Portanto, a investigação da modulação de células satélites (e número de mionúcleos) em situações de diferentes magnitudes de dano muscular e ASTf durante o TF seria interessante para um conhecimento mais aprofundado da relação dano – hipertrofia muscular.

Em primeira instância, os dados apresentados anteriormente parecem estar de acordo com a especulação que indica que quanto maior for o dano muscular, maior será a hipertrofia muscular. No entanto, ambas magnitudes elevadas precocemente no TF podem ser indicativas de um processo transitório, inicial, relativo às primeiras sessões de

TF, reparando e preparando a musculatura para os próximos estímulos de TF. Portanto, parece adequado questionar se este aumento potente na taxa de SPMio estaria mais relacionado com o próprio reparo do tecido e subsequente remodelamento, aumentando o número de sarcômeros em série, ou se levaria ao aumento na ASTf/AST muscular por meio do aumento do número de sarcômeros em paralelo. Enquanto o aumento de sarcômeros em série é uma adaptação conhecida ao dano muscular (YU; CARLSSON; THORNELL, 2004) e está relacionada a uma distribuição mais eficiente da força à qual o músculo está sendo submetido, dividindo a tensão mecânica por mais unidades (sarcômeros), fazendo com que com haja menos sarcômeros “super-estendidos”; o aumento dos sarcômeros em paralelo aumenta a ASTf, ou seja, acarreta em hipertrofia muscular. Talvez precocemente, alguns estudos indicaram que o dano muscular é importante para a hipertrofia muscular baseados apenas em experimentos agudos (uma única sessão de TF) (HAWKE; GARRY, 2001; SHEPSTONE et al., 2005; FLORES et al., 2011; PAULSEN et al., 2012; PINTO et al., 2012). Portanto, investigar se sessões iniciais de TF que produziram maiores magnitudes de dano muscular também levam a um maior estímulo para aumento de ASTf é interessante para concluir se realmente maiores magnitudes individuais de dano muscular estariam relacionadas com maiores graus de hipertrofia muscular. Em adição, como discorrido anteriormente, a repetição do estímulo de exercício faz com que o dano muscular pós-sessão seja atenuado (efeito do exercício repetido); efeito que é potente, protegendo à musculatura já nas primeiras sessões de TF. Desta forma, se o dano muscular fosse realmente essencial ou relevante de alguma forma ao processo de hipertrofia muscular induzido pelo TF, esse efeito estaria circunscrito às primeiras sessões de TF, o que não parece ser significativo num ponto de vista de adaptações crônicas ao TF, que seria realizado durante meses ou mesmo anos. Neste sentido, Moore et al. (2012) realizaram um estudo comparando adaptações crônicas ao TF concêntrico versus excêntrico máximos (portanto com diferentes magnitudes de dano muscular: excêntrico maior que concêntrico). Os autores reportaram magnitudes de hipertrofia similares para o TF excêntrico e concêntrico depois de 9 semanas de treinamento, quando o trabalho total foi igualado (MOORE; YOUNG; PHILLIPS, 2012). Portanto, esta foi uma primeira evidência que o dano muscular não potencializa a hipertrofia muscular cronicamente, ou, no mínimo, o efeito potencializador

do dano muscular na hipertrofia não seria significativo, tendo em vista a rápida atenuação do dano muscular já nas primeiras sessões de TF. Ainda assim, ela não é conclusiva, pois o fato de diferentes tipos de contrações musculares terem sido utilizadas poderia envolver outros mecanismos que podem interferir na resposta hipertrófica, não isolando o efeito do dano muscular em si. Desta forma, a importância do dano muscular para a hipertrofia muscular necessitava de investigações mais aprofundadas (tema central desta Tese).

4. MÉTODOS

4.1 Voluntários

O tamanho da amostra do presente estudo foi estimado *a priori* por meio de um cálculo amostral baseados num nível alpha de 0,05, poder ($1 - \beta$) de 0,95, correlação pré-pós de 0,7, e magnitude de efeito de 1,93 (baseado num um aumento na área de AST muscular de ~5% na terceira semana de TF, que se mostrou significativa em estudos prévios) (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011), determinando que 10 sujeitos seriam suficientes para nossos testes. Portanto, foram recrutados 10 voluntários homens, clinicamente saudáveis, com idade entre 22-32 anos (idade, média [desvio padrão]: 27 [3] anos; massa corporal: 69,4 [8,8] kg; altura: 172 [6] cm). Como critérios iniciais de inclusão, os voluntários não poderiam ter participado de nenhum TF para membros inferiores por pelo menos 6 meses, porém todos deveriam ter experiência prévia em TF para membros inferiores e não deveriam estar usando suplementos alimentares ou medicamentos anti-inflamatórios. Todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) que descreve com clareza os protocolos e testes realizados neste projeto, bem como riscos e benefícios para os voluntários. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da USP (parecer nº 608.754, de 27 de março de 2014, ANEXO 1). Todos os procedimentos realizados no presente estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki.

4.2 Desenho experimental

O presente estudo possui desenho experimental de grupo único e medidas repetidas ao longo do tempo (*within-subjects design*). Uma representação gráfica do desenho experimental é apresentada na Figura 4. Os voluntários realizaram TF para membros inferiores (exercícios leg-press 45° e cadeira extensora bilaterais) durante 10 semanas (duas vezes por semana, Segundas e Quintas-feiras durante semanas

regulares de treino, e Terças e Sextas-feiras em semanas de avaliação, totalizando 19 sessões de TF). Em três pontos específicos ao longo do período experimental (T1: primeira sessão, na primeira semana de TF; T2: quinta sessão, na terceira semana de TF; e T3: 19ª sessão, na décima semana de TF) foram realizados vários procedimentos: 1) ingestão de 100mL de água deuterada (D_2O , 70%) para marcação de proteínas miofibrilares; 2) biópsias do músculo vasto lateral (VL) para mensuração da taxa de SPMio, integridade de linhas-Z sarcomerais, ASTf (amostras pré-sessão), número de mionúcleos (amostras pré-sessão), domínio mionuclear (amostras pré-sessão) e quantidade de células satélites (todos específicos por tipo de fibra I e II), e análise de expressão gênica global (*microarray*); 3) coletas de saliva (1mL) para avaliar o decaimento de D_2O na água corporal total; 4) coletas de sangue (4mL) para aferição da atividade de CK e concentração de Mb; 5) obtenção e análise de imagens de ultrassom para avaliar a AST do músculo VL (amostras pré-sessão) e a Eco-US; 6) avaliação em dinamômetro isocinético para mensurar a CVIM; e 7) marcação em escala visual analógica para avaliar a DMIT. A cinética das avaliações foi a seguinte em cada um dos três momentos (T1, T2 e T3): 1) ingestão de D_2O : 48h antes da biópsia muscular em cada semana de avaliação; 2) biópsias do VL: 24h antes da sessão (-24h), somente em T1, imediatamente pré-sessão (0h, coletadas 120h após a última sessão de TF em T2 e T3), e 24h e 48h pós-sessão de TF em T1, T2 e T3, totalizando 10 biópsias por sujeito; 3) saliva: imediatamente antes à ingestão de D_2O (48h antes da primeira biópsia em cada semana de avaliação) e diariamente até 48h pós-sessão; 4) sangue: 48h antes da primeira biópsia em cada semana de avaliação e 48h pós-sessão de TF (em T2 e T3 a medida pré foi coletada 72h após a última sessão de TF); 5) ultrassom: 48h antes da primeira biópsia em cada semana de avaliação, 0h, 24h e 48h pós-sessão de TF (em T2 e T3 a medida pré foi coletada 72h após a última sessão de TF); 6) CVIM: 0h, 24h e 48h pós sessão de TF (em T2 e T3 a medida pré foi coletada 120h após a última sessão de TF); 7) DMIT: 0h, 24h e 48h pós-sessão de TF (em T2 e T3 a medida pré foi coletada 120h após a última sessão de TF).

Figura 4. Procedimentos experimentais. CVIM, contração voluntária isométrica máxima; DMIT: dor muscular de início tardio; D₂O: água deuterada; TF: treinamento de força; T1, T2 e T3: primeira, terceira e décima semana de treinamento de força. Partes da figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

4.3 Controle da dieta e atividades físicas

Três dias antes do começo do estudo e durante todo o período experimental, os participantes foram orientados a manter seus hábitos alimentares, não consumir suplementos alimentares (exceto o que provemos) e não ingerir qualquer alimento após as 22h nos dias que antecederam às biópsias. A alimentação dos voluntários foi padronizada nos dias das biópsias (distribuição de macronutrientes: 22% proteína, 41% carboidratos e 37% lipídios). Foi demonstrado que a ingestão de proteínas (~20g de proteína do soro do leite - *whey-protein*) aumenta o efeito anabólico do TF, estimulando a SPM, e potencializando o aumento da massa muscular (CERMAK et al., 2012; WITARD et al., 2014). Por isso, os sujeitos consumiram 25g de proteína do soro do leite isolada imediatamente após cada sessão de TF para estimular maximamente a SPMio após a

sessão. Os sujeitos foram instruídos e lembrados de absterem-se de atividades físicas 72h antes de T1 e durante todo o período experimental a não ser, obviamente, da realização do TF aqui proposto.

4.4 Treinamento de força (TF)

Os voluntários realizaram 6 séries (3 séries de leg-press 45° bilateral, seguidas de 3 séries na cadeira extensora bilateral) de 9-12 repetições máximas (90s de descanso entre séries e exercícios) até a falha concêntrica (quando o voluntário não conseguiu realizar uma concentração concêntrica seguindo a técnica/amplitude de movimento adequada). Para tanto, a carga foi ajustada série-a-série para manter o intervalo de repetições máximas que deveriam ser realizadas na próxima série, i.e., se os participantes realizassem mais de 12 repetições em uma série, a carga era aumentada para manter o intervalo de repetições máximas na próxima série, e o contrário foi utilizado quando os participantes não conseguiram completar 9 repetições. No fim do programa de TF 97,7% das séries ficaram dentro do intervalo de 9-12 repetições máximas. Portanto, o estímulo relativo para promover hipertrofia muscular foi mantido máximo durante todo o TF. O volume total de treino foi definido como séries × repetições × carga realizadas na primeira sessão de TF nas semanas de avaliação (T1, T2 e T3).

4.5 Biópsia muscular

As coletas de tecido muscular foram realizadas por um médico com vasta experiência nesse procedimento, sempre no vasto lateral (VL), alternando a utilização das pernas dos voluntários. Adotamos este procedimento de alternar as pernas para a coleta de tecido devido ao elevado número de biópsias por sujeito (i.e., 10). Porém, as biópsias pré-sessão de TF foram sempre realizadas na mesma perna em T1, T2 e T3, para que a mesma sequência de pernas fosse analisada em T1, T2 e T3 reduzindo, portanto, a variabilidade entre semanas de avaliação. Antes da extração do tecido, a área foi limpa com antisséptico. Uma pequena área, sobre a região selecionada, foi anestesiada com 2-3mL de xilocaína 1%, injetada subcutaneamente. Após a anestesia, uma pequena incisão, de aproximadamente 0,5cm de comprimento, foi feita até a fáscia

do músculo utilizando bisturi cirúrgico. A agulha de biópsia (modelo Bergström) foi introduzida na porção lateral do músculo VL à uma distância de ~15cm da linha média do joelho. A agulha foi introduzida numa profundidade de ~4cm para obtenção da amostra de tecido muscular, (dependendo da espessura da gordura subcutânea), avançando ~2cm além da fáscia muscular (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002a). Foi extraído ~120mg de tecido muscular por biópsia e, após a retirada do tecido, a incisão foi fechada e coberta por bandagens. As amostras foram primeiramente limpas (retirada de sangue e excesso de tecido conjuntivo) e separadas em alíquotas para as diferentes análises. Uma parte da amostra (40-50mg) foi utilizada para quantificar a taxa de SPMio em todas as amostras coletadas. Uma pequena parte (5-10mg) das amostras coletadas pré-sessão com as fibras intactas e orientadas longitudinalmente foram colocadas em gluteraldeído (2%) para marcação com azul de toluidina para análise da integridade de linhas-Z em microscópio de luz. Das amostras pré-sessão de TF em T1, T2 e T3, 20-30mg de tecido com as fibras intactas foram colocadas em meio de incorporação para temperatura ótima de corte (OCT) com as fibras orientadas transversalmente e rapidamente congeladas, primeiro em isopentano resfriado por nitrogênio líquido e depois em nitrogênio líquido para análises de imunofluorescência (ASTf, número de mionúcleos, domínio mionuclear e quantidade de células satélites). Por fim, 20-30mg das amostras pré e 24h pós sessão em T1 e T3 foram separados para análise de *microarray* (expressão gênica global). Após a separação em alíquotas, todas as amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e conservadas à -80°C até o momento das análises.

4.6 Taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio)

Para determinação da taxa de síntese proteica miofibrilar foi utilizado o método de ingestão via oral de D₂O, já utilizado previamente para quantificar a taxa de síntese proteica tanto em animais (DUFNER et al., 2005; GASIER et al., 2009; GASIER et al., 2011) quanto em humanos (GASIER et al., 2012; MACDONALD et al., 2013; WILKINSON et al., 2014; BELL et al., 2015). Este é um dos métodos menos invasivos para determinação da taxa de síntese proteica (GASIER; FLUCKEY; PREVIS, 2010) em comparação com procedimentos envolvendo infusão de isótopos estáveis (e.g. infusão

com L-[ring- $^{13}\text{C}^6$]). Com a ingestão de D_2O pode-se obter a taxa de SPMio integrada durante um período de tempo de dias a semanas (no caso do presente estudo, analisamos a SPMio durante 24h em repouso em T1, e 24 à 48h após o exercício em T1, T2 e T3). A água deuterada (água com átomos mais pesados de hidrogênio denominados deutérios) é um isótopo estável, ou seja, não radioativo. A água deuterada é física e quimicamente muito semelhante à água potável. Na água, dois átomos de hidrogênio se ligam a um oxigênio e criam H_2O . No entanto, na água deuterada, os átomos de deutério (^2H) substituem os átomos de hidrogênio. O deutério é uma forma de hidrogênio que possui um nêutron extra. Este nêutron dá o peso extra do átomo que pode ser detectado no laboratório, portanto, a água deuterada pode ser usada como um marcador no corpo para medir a taxa com que as novas proteínas musculares são sintetizadas e acumuladas ao longo de dias, semanas e até meses. Especificamente, quando a água deuterada é administrada oralmente a seres humanos, ela se mistura com a água total corporal e é incorporada ao músculo ao longo do tempo, permitindo a determinação da taxa média do processo de acúmulo de proteínas no músculo.

É importante frisar que a segurança da ingestão da água deuterada já é bem estabelecida e a *American Food and Drug Administration* (FDA) não requer qualquer precaução no manuseio ou uso em humanos, uma vez que isótopos estáveis têm sido utilizados por 70 anos em humanos para estudar processos fisiológicos (JONES; LEATHERDALE, 1991). Em quantidades muito grandes, água deuterada pode ter efeitos adversos. No entanto, para causar qualquer tipo de resposta tóxica implicaria num teor de deutério no sangue, fluidos corporais, e tecidos de mais de 20%. Para atingir tais níveis, um humano com ~70Kg precisaria beber mais de 40 xícaras de água deuterada rapidamente. Quarenta xícaras são mais de 100 vezes o que os participantes do nosso estudo foram convidados a beber em cada um dos momentos definidos para tal. Quando administrada em doses baixas, os indivíduos raramente (menos de 1 em cada 30) experimentam tontura temporária ou vertigem quando eles ingerem a primeira dose de água deuterada. Isto pode acontecer em alguns indivíduos cujo ouvido interno é sensível à diferença de massa de água no interior e no exterior do ouvido antes do equilíbrio de água se estabelecer. Se este raro evento ocorresse, ainda assim é geralmente passageiro, se resolvendo em 2-4h. Nenhum dos participantes do presente estudo

relatou este efeito colateral. Ao longo dos últimos anos, mais de 300 indivíduos ingeriram a dose proposta de deutério, sem eventos adversos graves (JONES; LEATHERDALE, 1991; HELLERSTEIN et al., 2003; STRAWFORD et al., 2004; MESSMER et al., 2005). Cerca de metade da água no corpo é substituída a cada semana, portanto, uma vez que os participantes pararem de beber água deuterada, o deutério retornará à sua concentração normal em 20-30 dias. No presente estudo D₂O foi dada aos participantes como um *bolus* (100mL de 70% D₂O) 48h antes da primeira biópsia em T1, T2 e T3. O enriquecimento da água corporal total com D₂O foi medido por meio de amostras diárias de saliva.

As amostras musculares foram preparadas (isolamento, hidrólise, purificação e derivatização da proteínas miofibrilares) de acordo com os procedimentos descritos por Moore et al. (2009) e Burd et al. (2012). Uma porção do músculo (40-50mg) foi homogeneizada em gelo em tampão (10 μ L·mg⁻¹ 25mM Tris 0.5% v/v Triton X-100 e coquetel em tabletes inibidores de proteases/fosfatases (Complete Protease Inhibitor Mini-Tabs, Roche, Indianapolis, IN, EUA; PhosSTOP, Roche Applied Science, Mannheim, Alemanha). As amostras foram centrifugadas à 1500g por 10min à 4°C para separar as frações sobrenadante (sarcoplasmática) e o pellet (miofibrilar). O pellet miofibrilar (ainda contendo também colágeno) foi solubilizado em 1mL de NaOH (0,3M) e aquecido à 50°C por 30min, com agitação em vórtice (2s) a cada 10min. As amostras foram centrifugadas à 4000g por 5min à 4°C e o sobrenadante contendo a fração miofibrilar foi coletado e os pellets de colágeno foram descartados. As proteínas miofibrilares foram precipitadas adicionando 1mL de PCA (1M) e centrifugadas à 700g por 10min à 4°C. O sobrenadante foi descartado e o pellet lavado usando 1mL de 70% EtOH. Os aminoácidos das proteínas miofibrilares foram liberados usando hidrólise ácida em 1mL HCl (1M) e 1mL de resina Dowex (50WX8–200 resin; Sigma-Aldrich) com HCl (0,5M) e aquecidos à 100°C por 72h com vórtices (2s) a cada 24h. As amostras foram liberadas da resina com NH₄OH (2M) e evaporadas até secarem. Os preparados musculares foram analisados pela Metabolic Solutions para incorporação de alanina-deuterada utilizando um Thermo Finnigan Delta V IRMS acoplado à Thermo Trace GC Ultra com um GC de interface de pirólise interface III and Conflow IV (GC-pirólise-IRMS) (Metabolic Solutions, Nashua, NH, EUA). Os ésteres de alanina N-acetyl-n-propyl foram analisados usando injeção splitless com CTC

Pal autosampler (1µl), com uma temperatura de injeção de 250°C, e usando uma coluna Zebron ZB-5 de espessura de filme de 30m x 0,25mm x 0,50µm (Phenomenex, Torrance, CA, EUA). O forno GC foi programado com uma temperatura inicial de coluna de 80°C com espera de 2min, seguido de um aumento em rampa de 30°C por minuto até atingir 330°C. Os componentes que saíram da coluna foram direcionados a um reator de pirólise, aquecido à 1450°C e convertido a gás hidrogênio. O enriquecimento de deutério foi primeiramente expresso em delta comparados com gás hidrogênio calibrado e convertidos à % de átomos por equações padrão. Foi utilizado como padrão de calibração o palmitato de metilo (cortesia do Dr. Arndt Schimmelmann, Biogeochemical Laboratories, Universidade de Indiana, EUA).

As amostras de saliva foram analisadas para o enriquecimento de deutério por espectroscopia de anel de cavidade usando um analisador de isótopos de água líquida com sistema de injeção automatizado, versão 2 atualizada (Los Gatos Research, Mountain View, CA, EUA). As amostras foram agitadas em vórtice e centrifugadas a 8000rpm para remover quaisquer partículas. A fase aquosa da saliva foi injetada seis vezes e a média das três últimas medidas foram utilizadas para análise de dados. Uma curva padrão foi executada antes e após as amostras para o cálculo do enriquecimento de deutério. A precisão intra-corrida foi menor que 2 delta por mil (partes por mil) e a precisão inter-corrida foi menor que 3,5 delta por mil.

Determinou-se a taxa sintética fracionária de proteína miofibrilar a partir da incorporação de alanina marcada com deutério, utilizando o enriquecimento de água corporal (corrigido pelo número médio de porções de deutério incorporadas por alanina, i.e., 3,7, e a diluição do número total de hidrogênios no derivado, 11) como marcação de precursor entre biópsias subsequentes. Por conseguinte, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{SPMio } (\% \text{dia}^{-1}) = [(\text{APE}_{\text{Ala}})] / [(\text{APE}_p) \times t] \times 100,$$

onde APE_{Ala} é o enriquecimento de deutério da alanina ligada à proteína (em porcentagem de excesso), APE_p é o enriquecimento médio de deutério (em porcentagem de excesso) na água corporal total entre os pontos de tempo e t é o tempo (em dias) entre as biópsias.

4.7 Integridade de Linhas-Z sarcomerais

As amostras de tecido foram fixadas em tetróxido de ósmio, desidratadas em banho de etanol graduado e incorporadas em resina epóxi (Spurr) com fibras orientadas longitudinalmente. Cada bloco foi seccionado (0,5mm) e marcado com azul de toluidina. As fibras individuais para cada secção do músculo longitudinal foram examinadas a uma ampliação de 1000x num microscópio óptico para análise da integridade de linhas-Z sarcomerais. Em um experimento piloto, selecionamos seções identificadas como contendo alterações na integridade de linhas-Z usando coloração com azul de toluidina/microscopia de luz e confirmamos o desarranjo de linhas-Z utilizando seções ultrafinas dos mesmos blocos sob exame de microscopia eletrônica. Neste experimento houve excelente concordância entre avaliadores (coeficiente de correlação intraclasse = 0,97) nas seções danificadas.

O desarranjo/ruptura de linhas-Z foi analisado por meio de dois métodos, sempre usando os cortes longitudinais. Primeiro, calculou-se a área de fibra visível total e a área ocupada por linhas-Z desarranjadas em cada imagem e registou-se a percentagem de área ocupada por desarranjo de linhas-Z em relação à área de fibra total analisada. Segundo, foi contado o número de fibras que apresentaram qualquer sinal de desarranjo de linhas-Z e foi determinada a percentagem de fibras afetadas pelo número total de fibras analisadas. Analisamos as imagens reconhecendo se estávamos analisando a mesma fibra que na imagem anterior ou uma nova fibra. Várias vezes, diferentes partes da mesma fibra foram analisadas em mais de uma imagem. O número médio (range) de fibras analisadas por indivíduo por ponto de tempo foi: 23 (10-60); e o número de imagens analisadas foi: 28 (10-96). A Figura 5 ilustra um exemplo de uma fibra normal (não afetada) (i.e., sem desarranjo de linhas-Z, Figura 5A) e uma fibra que exhibe desarranjo de linhas-Z (Figura 5B). Com a amostra de biópsia 0h (i.e., pré-sessão de TF) como base de comparação, asseguramos que não houve dano muscular como resultado do procedimento de biópsia. O mesmo investigador analisou todas as imagens de forma cega e a reprodutibilidade entre duas medidas foi excelente (erro típico = 1%).

Figura 5. Coloração com azul de toluidina das fibras musculares mostrando (A) uma fibra sem desarranjo de linhas-Z e (B) uma fibra com áreas (setas brancas) com desarranjo de linhas-Z. Partes da figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

4.8 Análises de imunofluorescência

Para a análise da ASTf, quantidade de mionúcleos e células satélites e domínio mionuclear foram utilizadas secções transversais do tecido muscular obtido (7µm), preparadas a partir de amostras montadas com OCT e trazidas à temperatura ambiente e fixadas em 2% de paraformaldeído (PFA) por 10min, lavadas e em seguida bloqueadas durante 90min em tampão fosfato-salino (contendo 2% de albumina de soro bovino, 5% de soro fetal bovino, 0,02% de Triton X-100, 0,1% de sodium azide e 5% de goat serum). Para a quantificação da ASTf, número de mionúcleos, domínio mionuclear e células satélites, todos específicos por tipo de fibra, as lâminas foram incubadas com anticorpos primários contra Pax7, laminina, MHCI e MHCII e anticorpos secundários apropriados (Pax7: Mouse DSHB Pax7 Neat Alexa 594, 488 goat anti-mouse [1:500]; laminina: Rabbit Abcam ab11575 [1:500] Alexa Fluor 488, 647 goat anti-rabbit [1:500]; MHCI: Mouse DSHB A4.951 isoforma lenta Neat Alexa Fluor 488 goat anti-mouse [1:500]; MHCII: Rabbit Abcam ab91506 isoforma rápida [1:1000] Alexa Fluor 647 goat anti-rabbit, [1:500]). Os núcleos foram visualizados com 40,6-diamidino-2 fenilindole (DAPI, 1:20 000, Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canadá), antes das lâminas serem cobertas com lamínulas sobre meio de montagem fluorescente (Dako, Burlington, ON, Canadá). As imagens foram observadas com um microscópio Eclipse Nikon 90i com uma ampliação de 20X e

capturadas com uma câmera fluorescente “Photometrics coolSNAP HQ2” (Nikon Instrumento, Melville, Nova Iorque, EUA). Imagens representativas são mostradas na Figuras 6.

Figura 6. Imagens representativas das marcações de imunofluorescência. (A) MHC I e Laminina; (B) MHC II; (C) DAPI; (D) Pax7; e (E) Merge – MHC I, Laminina, MHC II e Pax7. Setas brancas indicam as células satélites.

A análise foi concluída usando o software Nikon NIS-Elements AR software (Nikon Instruments, Nova Iorque, EUA) em grande escala de imagem. Para ASTf, número de mionúcleos e domínio mionuclear foram analisadas: média (range), 48,6 (35-50) – fibras tipo I; e 50 (50-50) – fibras tipo II. Para a análise de células satélites específicas por tipo de fibra foram analisadas: média (range), 95,6 (50-201) – fibras tipo I e 234,2 (63-544) – fibras tipo II. Todas as áreas selecionadas para análise foram livres de artefato de fratura por congelamento e cuidado foi tomado para que eventuais fibras na longitudinal não fossem consideradas na análise. As fibras musculares na periferia das secções transversais também não foram utilizadas na análise. Todas as análises de imunofluorescência foram concluídas pelo mesmo investigador experiente, de maneira cega. A reprodutibilidade (erro típico) entre as medidas foi: ASTf – 2,1%; número de mionúcleos – 5,9%; e quantidade de células satélites – 9,9%.

4.9 Microarray

O RNA de amostras musculares foi isolado utilizando o método TRIzol/RNeasy (Qiagen Sciences, Valencia, CA, EUA). Os tecidos foram homogeneizados com 1,0mL de reagente TRIzol (Life Technologies, Burlington, ON, Canadá), usando Lysing Matrix D tubes (MP Biomedicals, Solon, OH, EUA), com FastPrep-24 Tissue and Cell Homogenizer (MP Biomedicals) durante 40s à 6m/s. Clorofórmio (200µL, Sigma-Aldrich) foi adicionado, e os tubos foram vigorosamente agitados por 15s e incubados à temperatura ambiente por 5min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10min (12.000g, à 4°C) e a fase aquosa contendo RNA foi coletada e transferida para uma coluna RNeasy minispin. O RNA foi purificado de acordo com instruções do fabricante do kit comercialmente disponível E.Z.N.A. Total RNA Kit 1 (Omega Bio-Tek, Norcross, GA, EUA). A concentração e pureza do RNA foi quantificada utilizando o espectrofotômetro Nano-Drop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Rockville, MD, EUA). O procedimento de *microarray* foi realizado pela Population Health Research Institute afiliada à McMaster University (Hamilton, ON, Canadá). Resumidamente, a quantidade de RNA (normalizada) foi determinada por meio de quantificação RiboGreen (Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit, Thermo Fisher Scientific, Rockville, MD, EUA) antes de ser utilizada no “Ambion Illumina Total Prep Kit” (Thermo Fisher Scientific, Rockville, MD, EUA) para amplificação, síntese de cRNA e biotinilação. O cRNA gerado foi também quantificado e normalizado por método fluorescente RiboGreen antes de prosseguir com o ensaio de hibridização direta de toda expressão genômica (Human HT-12 v4 Expression BeadChip, Illumina, CA, EUA). As amostras foram processadas randomicamente para evitar a ocorrência de viés sistemático.

As matrizes “Human HT-12 v4 Expression BeadChip” foram digitalizadas em um Sistema iScan (Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA) com iScan Control Software 3.3.29 e salvas como arquivos IDAT, um formato codificado do proprietário Illumina. Os valores de intensidade brutos das matrizes e seu arquivo correspondente foram importados para R/Bioconductor (HUBER et al., 2015) usando a função *read.idat* da versão 3.30.6 do pacote limma (RITCHIE et al., 2015), que por sua vez usa a versão do pacote illuminaio 0.16.0 (SMITH et al., 2013) para ler os arquivos. Após importar as intensidades da sonda,

a proporção de sondas expressas foi estimada utilizando sondas de controle negativo para medir o ruído de fundo (SHI et al., 2010). As matrizes foram corrigidas com o método normexp, e o quantil foi normalizado usando sondas de controle negativo e positivo (SHI; OSHLACK; SMYTH, 2010). Finalmente, após a normalização, as sondas foram filtradas se menos da metade das matrizes tiveram expressão significativa, como estimado, a um nível de $P < 0,05$.

A expressão gênica diferencial foi acessada ajustando modelos lineares em intensidades de expressão normalizadas usando limma (RITCHIE et al., 2015). Para contabilizar as medidas repetidas nos mesmos indivíduos, a correlação entre as mesmas medidas foi estimada com a função `duplicateCorrelation`, sendo esta correlação introduzida no modelo linear. Os testes de expressão diferencial foram realizados para os seguintes contrastes: (pré-T3 – pré-T1); e [(24h-T3 – pré-T3) – (24h-T1 – pré-T1)]. Para controlar a taxa de falsa descoberta (FDR), foi realizada uma correção de teste múltipla (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995), com um corte de $FDR < 0,05$. Como limite de significância, somente foram considerados genes com uma mudança de $\log_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) maior do que $|1|$.

Os termos de *Gene Ontology* (GO) (ASHBURNER et al., 2000) e as vias da Enciclopédia de Kyoto de Genes e Genomas (KEGG) (OGATA et al., 1999) foram testados usando o método CAMERA (WU; SMYTH, 2012) implementado em limma, que realiza testes competitivos que levam em conta a dependência entre genes do modelo linear e usa um teste direcional para distinguir entre os grupos de genes regulados para cima e para baixo. Os termos enriquecidos foram definidos como aqueles com um $FDR < 0,05$. As vias KEGG significativamente enriquecidas foram visualizadas com o pacote `pathview` versão 1.14.0 (LUO et al., 2009). Os dados do *microarray* serão submetidos à base de dados GEO (www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) para o uso da comunidade científica.

4.10 Análises sanguíneas

Amostras de sangue (4mL) foram retiradas da veia antecubital para análise dos níveis de CK e Mb. As amostras foram centrifugadas durante 10min para se obter plasma e armazenadas a -80°C . A atividade de CK foi medida utilizando um kit colorimétrico

(Sigma, MAK116, Oakville, ON, Canadá). O intervalo de referência normal para atividade de CK utilizando este método é 20-180 U/L. As concentrações de Mb foram avaliadas utilizando kits de ensaio de imuno-absorção enzimática (ELISA) de elevada sensibilidade (Innov Research, IHMYGKT, Novi, MI, EUA e Abcam, ab46042, Toronto, ON, Canadá). O coeficiente de variação intra-ensaio em 10 amostras repetidas foi < 5% para CK e < 4,6% para Mb.

4.11 Área de seção transversa (AST) do vasto lateral e intensidade eco (Eco-Us)

Um ultrassom de modo B com probador vetorial linear e frequência de 7,5 MHz (SonoAce R3, Samsung-Medison, Gangwon-do, Coreia do Sul) foi utilizado para capturar imagens no plano axial do músculo VL após os participantes ficarem em decúbito dorsal durante 20min para permitir a distribuição de fluidos antes das avaliações (BERG; TEDNER; TESCH, 1993). Durante as medições, os participantes foram instruídos a relaxar os músculos o máximo possível. Todas as medidas foram coletadas no ponto médio entre a borda inferior do epicôndilo lateral do fêmur e o trocânter maior do fêmur. A pele foi marcada com uma caneta de tinta semipermanente sob o reto femoral e, a partir desse ponto, a pele foi marcada a cada 2cm axialmente. Os processos ósseos e a posição de colocação do probador foram registrados para assegurar a reprodutibilidade na sua colocação. Foram obtidas imagens de ultrassonografia sequenciais, alinhando a borda superior do probador com cada marca na pele, com sentido médio-lateral, começando pela imagem que mostrava a transição entre o músculo reto femoral e o músculo VL. Foi aplicada uma grande quantidade de gel condutor à base de água na superfície do probador do ultrassom para que não houvesse pressão de contato excessiva na pele durante a aquisição das imagens. As imagens gravadas foram sequencialmente abertas em PowerPoint (Microsoft, Seattle, EUA), e cada imagem foi encaixada manualmente até que toda a seção transversal do músculo VL fosse reconstruída. A imagem reconstruída, com a visão completa da seção transversa do músculo VL foi salva para o próximo passo da análise. Mediu-se a AST muscular utilizando planimetria computadorizada (isto é, a imagem montada da AST do VL foi manualmente contornada com um mouse de 800dpi) (Maden 3.2.5, EyePhysics, Los Paladinos, EUA). O software de planimetria foi calibrado

com escalas de distância fixa exibidas nas imagens de ultrassom. Esta técnica foi recentemente validada contra ressonância magnética pelo nosso grupo (LIXANDRAO et al., 2014).

Para a análise da intensidade eco (Eco-US), toda a AST do VL previamente delimitada por planimetria computadorizada, foi analisada com base na Transformação de Fourier Rápida da intensidade dos pixels. Isso resulta em um histograma de tonalidades de escala de cinza (0: preto, 256: branco), onde quaisquer anormalidades – como inchaço muscular induzido por edema, provavelmente devido ao dano muscular – resultam em maior valor Eco-US (alta ecogenicidade – áreas brancas aumentadas), enquanto a massa muscular em estado normal apresenta baixa ecogenicidade (áreas menos brancas). Este método tem sido amplamente utilizado na avaliação de alterações induzidas pelo exercício no músculo e é indicativo de edema e dano muscular (NOSAKA; SAKAMOTO, 2001; CHEN; NOSAKA, 2006; CHEN et al., 2009; CHEN et al., 2012a; CHEN et al., 2013a; GONZALEZ-IZAL; LUSA CADORE; IZQUIERDO, 2014; ROSENBERG et al., 2014). O mesmo pesquisador coletou todas as imagens e realizou todas as análises de maneira cega. Um exemplo das imagens obtidas usando esta técnica de reconstrução de imagem para avaliar a AST e Eco-US pode ser visto na Figura 7. O erro típico entre duas medidas repetidas realizadas em dias diferentes, com 72h de diferença, da AST e Eco-US foi de 1,7% e 5,7%, respectivamente.

Figura 7. Imagens representativas do músculo vasto lateral (VL) utilizadas para medidas de área de seção transversa muscular e intensidade eco, mostrando o VL com baixa ecogenicidade (A), indicativo de pouco/nenhum edema, e o VL com ecogenicidade aumentada (17,6%) (B), indicativo de presença de edema. VI: músculo vasto intermédio. Figura adaptada de Damas et al. (2016c) – ANEXO 4.

4.12 Contração voluntária isométrica máxima (CVIM)

Os participantes foram posicionados em um dinamômetro isocinético (Biodex System Pro 4, NY, EUA) e fixados por cintos no peito, cintura e coxa de sua perna dominante. A articulação do quadril foi fixada à 85° de flexão e os braços ficaram cruzados na altura do peito. Os participantes realizaram aquecimento composto por duas séries de três extensões/flexões de joelho ($90^\circ \cdot s^{-1}$, 90° de amplitude de movimento) separados por intervalo de repouso de 30s. Após 60s os participantes realizaram três tentativas de CVIM de extensão de joelho (5s de duração) usando sua perna dominante com a haste do dinamômetro fixada à 60° da horizontal, separadas por um descanso de 60s entre tentativas. Todos os participantes foram intensa e igualmente encorajados verbalmente a produzir a maior força muscular possível. O pico de torque obtido entre as três tentativas foi utilizado como valor da CVIM. O erro típico entre duas medidas realizadas em diferentes dias, com 72h de intervalo, foi de 3,6%.

4.13 Avaliação da dor muscular de início tardio (DMIT)

A DMIT foi avaliada utilizando uma escala analógica visual de 100mm (0mm: nenhuma dor, 100mm: muita, muita dor). Os participantes avaliaram sua dor fazendo uma marca na escala após sentar-se e levantar-se duas vezes de uma cadeira, sem auxílio dos membros superiores. Posteriormente, a distância em milímetros entre o zero e a marca feita na escala foi utilizada para as análises subsequentes.

4.14 Análise estatística

Para analisar o efeito do TF na força e hipertrofia muscular, analisamos as mudanças entre fases do TF no volume total de treino e na força isométrica (força muscular), e AST do VL e ASTf tipo I e tipo II (hipertrofia muscular) em T1, T2 e T3 utilizando modelos mistos assumindo fase de treinamento como fator fixo e sujeitos como fator aleatório. O mesmo modelo estatístico foi utilizado para as comparações de números de mionúcleos e domínio mionuclear entre fases do TF. Para analisar as mudanças na SPMio foram realizados dois procedimentos. Primeiro, testamos se a SPMio 24h e 48h pós-sessão de TF em T1, T2 e T3 eram diferentes da SPMio de repouso (avaliada considerando o espaço de tempo entre as biópsias -24h e 0h) em T1 (i.e., condição controle) com um teste de Dunnett. Depois, para investigar se as alterações na SPMio 24h e 48h pós-sessão de TF foram diferentes entre as fases de treinamento (T1, T2 e T3), aplicamos um modelo misto assumindo tempo (24h e 48h) e fase de treinamento (T1, T2 e T3) como fatores fixos e sujeitos como fator aleatório. Para os marcadores de dano muscular (integridade de linha-Z e Eco-US) utilizamos modelos mistos assumindo fase de treinamento como fator fixo e sujeitos como fator aleatório; e modelos mistos assumindo tempo e fase de treinamento como fatores fixos e sujeitos como fator aleatório para analisar as mudanças na CVIM, DMIT, CK e Mb. Este último teste também foi utilizado para comparar a quantidade de células satélites. Em todos os modelos, quando foi obtido um valor de F significativo, utilizou-se o pós-hoc LSD de Fisher para comparações entre pares. Foram realizadas séries de correlações utilizando a correlação de Pearson. Os coeficientes de correlação $|r| < 0,2$ foram considerados

pequenos; $0,2 < |r| < 0,7$: moderados; e $|r| > 0,7$: altos. Para a análise estatística envolvendo os dados de *microarray*, favor observar o item 4.9 dos Métodos. Os dados estão apresentados na Tese em médias [desvios-padrão], salvo indicação do contrário. O nível de significância foi estabelecido de $P \leq 0,05$.

5. RESULTADOS¹

5.1 Volume total de treino e força isométrica basal

Ambas variáveis, de volume total de TF (carga × repetições × séries) e força isométrica basal aumentaram significativamente em T3 (volume total de treino: 12.396 [2089] Kg; força isométrica: 265 [48] N•m) comparados com T1 (8.628 [2273] Kg, $P < 0,0001$; 245 [45] N•m, $P = 0,0172$, respectivamente), demonstrando que o protocolo de TF realizado foi eficiente em aumentar a força muscular. Adicionalmente, o volume total de treino também mostrou aumento em T2 (9.641 [2034] kg, $P = 0,002$) comparado com T1, porém a força isométrica não apresentou aumentos em T2 (255 [45] N•m, $P = 0,15$) comparada com os outros momentos.

5.2 Área de secção transversa (AST) do músculo vasto lateral (VL)

O período de TF resultou em aumento significativo na AST do VL em relação a T1 em T2 ($P = 0,001$) e T3 ($P < 0,0001$). Em adição, a AST muscular em T3 foi significativamente maior do que a observada em T2 ($P < 0,0001$) (Figura 8).

¹ Grande parte dos resultados apresentados nessa seção já foram publicados:

Damas et al. Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. **J Physiol**, v. 594, n. 18, p. 5209-22, Sep 15. 2016b.

Damas et al. Early resistance training-induced increases in muscle cross-sectional area are concomitant with edema-induced muscle swelling. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 1, p. 49-56, Jan. 2016c.

Figura 8. Área de secção transversa (AST) do vasto lateral (VL) medida na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e última semana (T3) do treinamento de força. ^a: $P < 0,002$ com relação à T1; ^b: $P < 0,0001$ com relação à T2. Os valores são apresentados como média [DP]. Figura adaptada de Damas et al. (2016c) – ANEXO 4.

5.3 Área de secção transversa de fibras (ASTf) tipo I e tipo II

Similarmente à AST do músculo como um todo, 10 semanas de TF (i.e., em T3) promoveram aumento significativo na ASTf de fibras tipo II em comparação com T1 (T3 versus T1, $P = 0,025$, Figura 9B) e com T2 (T3 versus T2, $P = 0,035$, Figura 9B). Para as fibras tipo I, o TF promoveu aumento não significativo na ASTf ($P > 0,05$, Figura 9A).

Figura 9. Área de secção transversa de fibras (ASTf) tipo I (A) e tipo II (B) na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e última semana (T3) do treinamento de força. ^a: $P < 0,025$ com relação à T1; ^b: $P = 0,035$ com relação à T2. Os valores são apresentados como média [DP].

5.4 Número de mionúcleos e domínio mionuclear em fibras tipo I e tipo II

Não houve aumento no número de mionúcleos por fibra ou no domínio mionuclear em fibras tipo I ou tipo II durante as 10 semanas de TF ($P > 0,05$; Tabela 3).

Tabela 3. Número de mionúcleos e domínio mionuclear na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e última semana (T3) do treinamento de força.

	Fibras	T1	T2	T3
Número de mionúcleos	Tipo I	2,9 [0,4]	3,1 [0,7]	2,7 [0,4]
	Tipo II	3,2 [0,5]	3,3 [0,8]	3,2 [0,8]
Domínio mionuclear (μm^2)	Tipo I	1505 [184]	1356 [393]	1578 [265]
	Tipo II	1476 [350]	1391 [373]	1621 [318]

Os valores são apresentados como média [DP].

5.5 Taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio)

A Figura 10 representa o enriquecimento médio de água corporal (percentagem de excesso de átomos) durante o período de estudo. Após 100ml de D₂O em –48h T1 e –24h T2 e T3, o enriquecimento de água corporal apresentou um decaimento linear ao longo do tempo (r^2 para regressão linear em T1, T2 e T3 foram de 0,981, 0,997 e 0,999, respectivamente).

Figura 10. Curso de tempo de enriquecimento de água corporal (percentagem de excesso de átomos, APE) na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e última semana (T3) do treinamento de força. Os valores são apresentados como média [DP]. Figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

A Figura 11 mostra que a SPMio aumentou significativamente 24h e 48h em T1, 24h em T2 e 24h em T3 em comparação com o valor de repouso em T1 ($P \leq 0,05$). As alterações foram maiores em T1 do que em T2 e T3 ($P < 0,03$), mas similares entre T2 e T3 ($P = 0,748$). Adicionalmente, os valores de SPMio 24h foram maiores que 48h, independentemente da fase de treinamento ($P = 0,003$). A SPMio integrada durante as primeiras 48h (0h a 48h) após a sessão de TF indicou valores mais altos para T1 comparado com T2 e T3 ($P < 0,03$) (valores em T2 e T3 foram similares, $P = 0,8$) (Inserção Figura 11).

Figura 11. Taxa de síntese de proteínas miofibrilares (SPMio) em repouso, 24h e 48h após uma única sessão de treinamento de força na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força. *: $P \leq 0,05$ com relação ao repouso em T1; #: $P = 0,003$ para efeito principal de tempo (24h significativamente diferente de 48h independentemente da fase de treino). ^a: $P < 0,03$ para efeito principal da fase de treinamento (T1 significativamente diferente de T2 e T3). Inserção: SPMio integrada nas primeiras 48h após uma única sessão de treinamento de força em T1, T2 e T3. ^a, $P < 0,03$ com relação à T1. Os valores são apresentados como média [DP]. Figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6

5.6 Integridade de linhas-Z sarcomerais

A Figura 12 mostra os dois métodos de análise da magnitude do dano muscular por meio da integridade de linhas-Z. A Figura 12A mostra os valores pré e 48h na percentagem de área de desarranjo de linhas-Z por área de fibra total em T1, T2 e T3. Após as sessões de TF (48h) houve aumento no desarranjo de linhas-Z em T1 e T2 em comparação aos respectivos valores pré ($P = 0,0008$ e $P = 0,04$, respectivamente); e os valores em 48h em T1 e T2 foram maiores do que 48h em T3 ($P = 0,005$ e $P = 0,003$, respectivamente). Em adição, no estado basal de T2 (pré-T2) há tendência de haver

desarranjos de linhas-Z presentes ($P = 0,07$). Analisando os deltas (48h – pré), observou-se que o valor em T1 foi significativamente maior do que em T3 apenas ($P = 0,006$) (Figura 12A Inserida).

A Figura 12B representa a alteração no percentual de fibras que apresentaram qualquer sinal de desarranjo de linhas-Z pré e 48h nas três fases do TF (i.e., T1, T2 e T3). Por este método, observou-se aumento na quantidade de fibras afetadas em 48h com relação ao pré somente em T1 ($P < 0,0001$), e o valor 48h-T1 foi maior que em 48h-T3 ($P < 0,0001$). Em T2, os valores pré e 48h foram diferentes dos respectivos valores em T1 ($P \leq 0,05$) e em T3 ($P < 0,004$), porém não houve aumento agudo intra-fase de treino ($P > 0,05$). Analisando os deltas (48h – pré) houve uma maior porcentagem de fibras afetadas em T1 do que em T2 e T3 ($P < 0,001$) (Figura 12B Inserida).

Figura 12. Valores pré e 48h após sessão de TF na porcentagem de área de desarranjo de linhas-Z por área de fibra total (A); Inserida: delta da porcentagem de áreas com desarranjo de linhas-Z por área total de fibra; e valores pré e 48h após sessão de TF na porcentagem de fibras que apresentaram qualquer sinal de desarranjo de linhas-Z (B); Inserida: delta na porcentagem de fibras que apresentaram qualquer sinal de desarranjo de linhas-Z na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força. *: $P < 0,05$ com relação ao pré intra-fase de treino; ^a: $P \leq 0,05$ com relação ao mesmo ponto em T1; ^c: $P < 0,01$ com relação ao mesmo ponto em T3; #: $P = 0,07$ com relação ao mesmo ponto em T1. Os valores são apresentados como média [DP]. Partes da figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

Para estimar a quantidade de SPM necessária apenas para regenerar (não induzir hipertrofia muscular) a área “danificada”, corrigimos a SPM pela área de desarranjo de linhas-Z (usando o delta [48h – 0h] do primeiro método, explicado na seção de Métodos, para o cálculo de desarranjo de linhas-Z que considera as áreas) usando a fórmula: $SPM \times (100 - \text{desarranjo de linhas-Z}) / 100$. Após a correção, não foram encontradas diferenças entre T1, T2 e T3 ($P > 0,05$, Figura 13).

Figura 13. Taxa de síntese proteica miofibrilar (SPMio) durante as primeiras 48h após uma única sessão de treinamento de força na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força normalizada pela alteração (48h – 0h) na quantidade (% de áreas afetadas) de desarranjo em linhas-Z ($SPMio \times (100 - \text{desarranjo de linhas-Z}) / 100$) em T1, T2 e T3, respectivamente. Os valores são apresentados como média [DP]. Figura adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

5.7 Intensidade eco de ultrassom do músculo vasto lateral (Eco-US)

A análise de Eco-US do VL mostrou aumentos significantes de T1 para T2 e T3 ($P < 0,0001$) (Figura 14A). Quando a Eco-US foi normalizada pela respectiva AST do VL, observou-se que apenas em T2 o valor se mostrou elevado quando comparado com T1 e T3 ($P < 0,0001$, para ambas as comparações, Figura 14B).

Figura 14. Intensidade eco de ultrassom (Eco-US) e razão Eco-US pela área de secção transversa (AST) do vasto lateral (VL) na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força. ^a: $P < 0,0001$ com relação à T1. ^c, $P < 0,0001$ com relação à T3. Os valores são apresentados como média [DP]. Figura adaptada de Damas et al. (2016c) – ANEXO 4.

5.8 Marcadores indiretos de dano muscular

Todos os marcadores indiretos de dano muscular (CVIM, DMIT, CK e Mb) apresentaram alterações significantes em relação ao pré em T1: diminuição da CVIM e aumento da DMIT 24h e 48h pós-sessão, e aumento de CK e Mb 48h pós sessão ($P < 0,001$ para todos). Em T2, a DMIT e a Mb aumentaram ligeiramente pós-sessão (24h para a DMIT e 48h para Mb) com relação ao pré ($P < 0,04$), mas nenhuma outra alteração foi encontrada em T2 ou T3 em comparação ao pré de cada sessão, para as outras variáveis. Adicionalmente, a CVIM e a DMIT em 24h e 48h em T1, e a CK e Mb em 48h T1, foram significantemente diferentes ($P < 0,001$) dos mesmos pontos de tempo em T2 e T3. O valor de CK e Mb foram diferentes em 48h em T2 em comparação com 48h em T3 ($P < 0,04$) (Tabela 4).

Tabela 4. Mudanças na contração voluntária isométrica máxima (CVIM) com relação ao pré (100%), mudanças absolutas na dor muscular de início tardio (DMIT) e mudanças absolutas nos níveis sanguíneos de creatina quinase (CK) e mioglobina (Mb) após sessão de treinamento de força na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força.

	T1			T2			T3		
	Pré	24h	48h	Pré	24h	48h	Pré	24h	48h
CVIM (% Pré)	100 [0]	77,8 [14,5]*	77,9 [16,4]*	100 [0]	96,7 [8,3] ^a	98,2 [7,4] ^a	100 [0]	94,4 [11,4] ^a	97,7 [5,7] ^a
DMIT (mm)	0 [0]	40 [20]*	61 [24]*	0 [1]	10 [9]*, ^a	8 [6] ^a	0 [0]	8 [7] ^a	8 [10] ^a
CK (U/L)	119 [33]	-	416 [256]*	132 [77]	-	226 [105] ^a	107 [33]	-	110 [29] ^{a,b}
Mb (µg/L)	26 [5]	-	373 [103]*	46 [20]	-	118 [62]*, ^a	23 [4]	-	30 [9] ^{a,b}

*: $P < 0,04$ com relação ao pré para a mesma fase de treino (T1, T2 e T3). ^a: $P < 0,001$ com relação ao ponto no tempo correspondente em T1; ^b: $P < 0,04$ com relação ao ponto no tempo correspondente em T2. Os valores são apresentados como média [DP]. Partes da tabela adaptadas de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

5.9 Quantidade de células satélites em fibras tipo I e tipo II

O número de células satélites por fibras musculares tipo I aumentou significativamente 48h após a sessão de TF, comparado com valores de pré em T1 ($P = 0,021$, Figura 15A). No entanto, não houve alterações significantes entre pré e 48h ($P > 0,05$) em T2 e T3. Quanto às diferenças entre as fases de treinamento, o número de células satélites nas fibras musculares tipo I no pré e 48h em T2 foi significativamente maior do que no pré e 48h em T1 ($P < 0,04$, Figura 15A). Para a quantidade de células satélites por fibras musculares tipo II, não houve alterações agudas (i.e., entre 48h e pré) em T1, T2 ou T3 ($P > 0,05$, Figura 15B). No entanto, ao comparar as fases de treinamento, observou-se um número significativamente maior na quantidade de células satélites nas fibras musculares tipo II em T2 e T3 comparado com T1 (efeito principal de fase de treinamento, $P < 0,04$, Figura 15B).

Figura 15. Quantidade de células satélites por fibras musculares tipo I (A) e tipo II (B) em repouso e 48h após uma única sessão de treinamento de força na primeira semana (T1), terceira semana (T2) e décima semana (T3) de treinamento de força. *: $P = 0,021$ em relação ao pré em T1; ^a: $P < 0,04$ em relação à T1 nos respectivos tempos. Os valores são apresentados como média [DP].

5.10 Correlações entre variáveis de respostas hipertróficas agudas e crônicas e variáveis de dano muscular

Não foram encontradas correlações significantes e elevadas entre os marcadores de resposta hipertrófica do músculo esquelético (SPMio, ASTf e AST do VL) e marcadores indiretos de dano muscular (CVIM, DMIT, CK e Mb), em qualquer momento (T1, T2 ou T3). Quanto à relação entre o desarranjo de linhas-Z e os marcadores hipertróficos, bem como para as correlações entre os resultados hipertróficos agudos e crônicos, os principais resultados estão expostos na Tabela 5. Foram encontradas correlações altas e significantes ($P < 0,04$; $r \sim 0,9$) entre a SPMio integrada (0h a 48h)

pós-sessão de TF em T3 e aumento de ASTf (T3-T1) e entre a SPMio integrada (0h a 48h) pós-sessão de TF em T2 e T3 e o aumento da AST do VL (T3-T1).

Tabela 5. Correlações entre variáveis de respostas hipertróficas agudas e crônicas e variáveis de dano muscular

Variável		SPMio integrada T1 (%·dia ⁻¹)	SPMio integrada T2 (%·dia ⁻¹)	SPMio integrada T3 (%·dia ⁻¹)	Aumento na ASTf (%) (T3-T1)	Aumento na AST do VL (%) (T3-T1)
Desarranjo de linhas-Z (48h-pré) T1 (% área)	<i>r</i>	0,558			-0,431	0,210
	<i>P</i>	0,094			0,393	0,560
Desarranjo de linhas-Z (48h-pré) T2 (% área)	<i>r</i>		-0,137		-0,534	-0,522
	<i>P</i>		0,705		0,275	0,122
Desarranjo de linhas-Z (48h-pré) T3 (% área)	<i>r</i>			-0,196	-0,077	-0,353
	<i>P</i>			0,613	0,884	0,317
Desarranjo de linhas-Z (Total) (% área)	<i>r</i>				-0,432	-0,056
	<i>P</i>				0,393	0,878
Aumento na ASTf (%) (T3-T1)	<i>r</i>	-0,602	0,687	0,911		
	<i>P</i>	0,206	0,131	0,032 *		
Aumento na AST do VL (%) (T3-T1)	<i>r</i>	-0,221	0,864	0,946		
	<i>P</i>	0,540	0,001 *	0,000 *		

AST: área de secção transversal; ASTf: área de secção transversal de fibras musculares; SPMio integrada: síntese de proteína miofibrilar considerando as primeiras 48h (i.e., 0h a 48h) após uma única sessão de treinamento de força; Desarranjo de linhas-Z (Total): cálculo que levou em consideração a quantidade total de área com desarranjo de linhas-Z dividida por área total analisada em T1, T2 e T3; VL: vasto lateral; T1: primeira semana, T2: terceira semana, T3: última semana de treinamento. *: $P < 0,04$ para a correlação. Os números em negrito indicam alta correlação entre as variáveis. Tabela adaptada de Damas et al. (2016b) – ANEXO 6.

5.11 Microarray

O resultado da normalização dos $\log_2$ da intensidade do sinal para que a comparação dos logFoldChange (logFC) entre sujeitos/momentos seja adequada está mostrado na Figura 16. Foi identificada uma observação extrema (*outlier*) (indivíduo 6, momento T3 24h pós exercício), que foi removido das análises subsequentes (Figura 16).

Figura 16. Normalização da transformação dos $\log_2$ relativos à intensidade.

A Figura 17 mostra a análise de distância (“multidimensional scaling”) entre as amostras levando em conta os 500 genes com maior mudança nas suas expressões em cada sujeito/momento da análise. O “multidimensional scaling” reduz e reordena as distâncias para dar uma ideia das relações entre as amostras em um número menor de dimensões. A análise demonstra que nos estados basais (pré-T1 e pré-T3) os 500 genes mais expressos possuem menor dispersão inter-sujeitos. Com o estímulo agudo do TF (24h-T1 e 24h-T3), a dispersão entre sujeitos acentua-se consideravelmente.

Figura 17. Gráfico “*multidimensional scaling*” (MDS).

5.11.1 Comparação da expressão gênica basal em diferentes estados de treinamento

No total, 17.341 genes foram analisados, com 7 genes significativamente alterados favorecendo o estado treinado e apenas 1 gene significativamente alterado favorecendo o estado não-treinado. Para melhor visualização da quantidade de genes e magnitude de mudanças da comparação entre estados de treinamento no estado basal construímos a figura 18 a seguir com um gráfico tipo “volcano plot”.

Figura 18. Volcano plot da expressão gênica entre diferentes estados de treinamento no estado basal. Os genes em verde são mais expressos no estado não-treinado (pré-T1), os em vermelho são mais expressos no estado treinado (pré-T3) e os em preto não se modificaram significativamente ($P > 0,05$, $\log\text{FoldChange} < |1|$).

As tabelas a seguir (6A e 6B) apresentam os genes diferencialmente expressos ($\log\text{FC} > |1|$, $\text{FDR} < 0,05$ e $P(\text{ajustado}) < 0,05$) no estado basal em diferentes estados de treinamento (T3 – T1). Valores de $\log\text{FC}$ positivos favorecem o estado treinado (pré – T3, Tabela 6A), enquanto valores de $\log\text{FC}$ negativos favorecem o estado não-treinado (pré – T1, Tabela 6B).

Tabela 6A. Genes diferencialmente expressos (LogFoldChange (logFC) > 1, P < 0,05) no estado basal favorecendo o estado treinado versus não-treinado.

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
MXRA5	GENE: matrix remodeling associated 5	25878	1,5241	0,0151
COL3A1	GENE: collagen type III alpha 1 chain	1281	1,2961	0,0214
THBS4	GENE: thrombospondin 4	7060	1,2843	0,0158
AKR1B15	GENE: aldo-keto reductase family 1 member B15	441282	1,1303	0,0169
COL4A1	GENE: collagen type IV alpha 1 chain	1282	1,0810	0,0009
CTHRC1	GENE: collagen triple helix repeat containing 1	115908	1,0389	0,0312
LOC100134134	GENE: similar to peroxidasin homolog	NA	1,0043	0,0077

Tabela 6B. Gene diferencialmente expresso (LogFoldChange (logFC) < -1, P < 0,05) no estado basal favorecendo o estado não-treinado versus treinado.

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
MYH1	GENE: myosin heavy chain 1	4619	-1,0346	0,0156

As tabelas a seguir (Tabelas 7-10) apresentam a análise de enriquecimento (P < 0,05, FDR < 0,05,) de vias KEGG (Tabela 7) e termos GO (Tabelas 8-10) no estado basal quando comparados os estados treinado e não-treinado (T3 – T1). Quando a direção é “up”, a via está alterada favorecendo o estado treinado (T3), enquanto a direção “down” favorece o estado não-treinado (T1).

Tabela 7. Análise de enriquecimento de vias da Enciclopédia de Kyoto de Genes e Genomas (KEGG, $P < 0,05$ e taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$) no estado basal entre os estados treinado (*Up*) e não-treinado (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
hsa04512 ECM-receptor interaction	61	Up	8,24E-13	1,80E-10
hsa04974 Protein digestion and absorption	52	Up	2,20E-08	2,41E-06
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	74	Up	1,00E-06	7,31E-05
hsa00190 Oxidative phosphorylation	133	Up	2,74E-06	1,50E-04
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	54	Up	1,02E-05	4,47E-04
hsa00410 beta-Alanine metabolism	27	Up	1,38E-04	5,04E-03
hsa01200 Carbon metabolism	117	Up	2,95E-04	8,69E-03
hsa00910 Nitrogen metabolism	8	Up	3,18E-04	8,69E-03
hsa04510 Focal adhesion	205	Up	3,78E-04	9,21E-03
hsa00620 Pyruvate metabolism	44	Up	4,70E-04	1,03E-02
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	256	Up	1,39E-03	2,57E-02
hsa00020 Citrate cycle (TCA cycle)	34	Up	1,41E-03	2,57E-02
hsa04610 Complement and coagulation cascades	46	Up	1,85E-03	3,11E-02

Quando a direção é “*up*”, a via está alterada favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

Tabela 8. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$ e taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria processos biológicos, no estado basal entre os estados treinado (*Up*) e não-treinado (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0030574 collagen catabolic process	37	Up	1,36E-14	1,12E-10
GO:0044243 multicellular organism catabolic process	38	Up	1,70E-14	1,12E-10
GO:0044259 multicellular organismal macromolecule metabolic process	67	Up	4,95E-14	1,77E-10
GO:0032963 collagen metabolic process	63	Up	5,40E-14	1,77E-10
GO:0035987 endodermal cell differentiation	28	Up	2,84E-11	7,44E-08
GO:0030198 extracellular matrix organization	235	Up	6,68E-11	1,25E-07
GO:0043062 extracellular structure organization	235	Up	6,68E-11	1,25E-07
GO:0044236 multicellular organism metabolic process	76	Up	8,48E-11	1,39E-07
GO:0001706 endoderm formation	34	Up	4,16E-09	6,07E-06
GO:0030199 collagen fibril organization	26	Up	7,89E-09	1,04E-05
GO:0021812 neuronal-glia interaction involved in cerebral cortex radial glia guided migration	2	Up	1,33E-08	1,58E-05
GO:0000303 response to superoxide	28	Up	1,55E-08	1,58E-05

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0032610 interleukin-1 alpha production	6	Up	1,69E-08	1,58E-05
GO:0050703 interleukin-1 alpha secretion	6	Up	1,69E-08	1,58E-05
GO:0000305 response to oxygen radical	29	Up	5,21E-08	4,56E-05
GO:1903225 negative regulation of endodermal cell differentiation	3	Up	1,55E-07	1,28E-04
GO:0007492 endoderm development	49	Up	2,21E-07	1,71E-04
GO:0009753 response to jasmonic acid	4	Up	2,65E-07	1,83E-04
GO:0071395 cellular response to jasmonic acid stimulus	4	Up	2,65E-07	1,83E-04
GO:1903224 regulation of endodermal cell differentiation	4	Up	2,83E-07	1,86E-04
GO:0071360 cellular response to exogenous dsRNA	9	Up	4,62E-07	2,89E-04
GO:0060353 regulation of cell adhesion molecule production	4	Up	6,07E-07	3,46E-04
GO:0060355 positive regulation of cell adhesion molecule production	4	Up	6,07E-07	3,46E-04
GO:0060242 contact inhibition	8	Up	6,75E-07	3,69E-04
GO:0032964 collagen biosynthetic process	23	Up	8,51E-07	4,47E-04
GO:0098869 cellular oxidant detoxification	74	Up	9,18E-07	4,63E-04
GO:0001937 negative regulation of endothelial cell proliferation	29	Up	9,56E-07	4,65E-04
GO:0002523 leukocyte migration involved in inflammatory response	9	Up	1,57E-06	7,32E-04
GO:0043932 ossification involved in bone remodeling	3	Up	1,62E-06	7,32E-04
GO:1990748 cellular detoxification	78	Up	1,69E-06	7,37E-04
GO:0042744 hydrogen peroxide catabolic process	16	Up	1,78E-06	7,55E-04
GO:0098754 detoxification	79	Up	2,89E-06	1,18E-03
GO:0042773 ATP synthesis coupled electron transport	80	Up	3,13E-06	1,21E-03
GO:0042775 mitochondrial ATP synthesis coupled electron transport	80	Up	3,13E-06	1,21E-03
GO:0071450 cellular response to oxygen radical	24	Up	3,66E-06	1,29E-03
GO:0071451 cellular response to superoxide	24	Up	3,66E-06	1,29E-03
GO:0070662 mast cell proliferation	5	Up	3,77E-06	1,29E-03
GO:0010940 positive regulation of necrotic cell death	5	Up	4,10E-06	1,29E-03
GO:0003294 atrial ventricular junction remodeling	1	Up	4,35E-06	1,29E-03
GO:0010232 vascular transport	1	Up	4,35E-06	1,29E-03
GO:0010645 regulation of cell communication by chemical coupling	1	Up	4,35E-06	1,29E-03
GO:0010652 positive regulation of cell communication by chemical coupling	1	Up	4,35E-06	1,29E-03
GO:0060156 milk ejection	1	Up	4,35E-06	1,29E-03
GO:0001810 regulation of type I hypersensitivity	2	Up	4,50E-06	1,29E-03
GO:0001812 positive regulation of type I hypersensitivity	2	Up	4,50E-06	1,29E-03
GO:0016068 type I hypersensitivity	2	Up	4,50E-06	1,29E-03
GO:0072656 maintenance of protein location in mitochondrion	11	Up	5,46E-06	1,53E-03
GO:0006776 vitamin A metabolic process	4	Up	5,84E-06	1,58E-03

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0034138 toll-like receptor 3 signaling pathway	16	Up	6,21E-06	1,58E-03
GO:0022904 respiratory electron transport chain	98	Up	6,26E-06	1,58E-03
GO:0045019 negative regulation of nitric oxide biosynthetic process	17	Up	6,26E-06	1,58E-03
GO:1904406 negative regulation of nitric oxide metabolic process	17	Up	6,26E-06	1,58E-03
GO:0006108 malate metabolic process	7	Up	6,44E-06	1,60E-03
GO:0002279 mast cell activation involved in immune response	24	Up	8,43E-06	1,96E-03
GO:0002448 mast cell mediated immunity	24	Up	8,43E-06	1,96E-03
GO:0043303 mast cell degranulation	24	Up	8,43E-06	1,96E-03
GO:0060352 cell adhesion molecule production	5	Up	8,49E-06	1,96E-03
GO:0022900 electron transport chain	101	Up	9,93E-06	2,18E-03
GO:0001568 blood vessel development	453	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0032752 positive regulation of interleukin-3 production	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0042223 interleukin-3 biosynthetic process	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0045399 regulation of interleukin-3 biosynthetic process	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0045401 positive regulation of interleukin-3 biosynthetic process	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0045423 regulation of granulocyte macrophage colony-stimulating factor biosynthetic process	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0045425 positive regulation of granulocyte macrophage colony-stimulating factor biosynthetic process	1	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0042983 amyloid precursor protein biosynthetic process	9	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0042984 regulation of amyloid precursor protein biosynthetic process	9	Up	1,11E-05	2,18E-03
GO:0002138 retinoic acid biosynthetic process	7	Up	1,13E-05	2,18E-03
GO:0030638 polyketide metabolic process	8	Up	1,35E-05	2,47E-03
GO:0030647 aminoglycoside antibiotic metabolic process	8	Up	1,35E-05	2,47E-03
GO:0044597 daunorubicin metabolic process	8	Up	1,35E-05	2,47E-03
GO:0044598 doxorubicin metabolic process	8	Up	1,35E-05	2,47E-03
GO:0055094 response to lipoprotein particle	22	Up	1,63E-05	2,94E-03
GO:0070206 protein trimerization	37	Up	1,74E-05	3,08E-03
GO:0045333 cellular respiration	169	Up	1,76E-05	3,08E-03
GO:0050830 defense response to Gram-positive bacterium	34	Up	1,90E-05	3,28E-03
GO:0045576 mast cell activation	25	Up	2,08E-05	3,54E-03
GO:0001944 vasculature development	474	Up	2,49E-05	4,20E-03
GO:0072358 cardiovascular system development	475	Up	2,73E-05	4,54E-03
GO:0033005 positive regulation of mast cell activation	8	Up	2,98E-05	4,77E-03
GO:0033008 positive regulation of mast cell activation involved in immune response	8	Up	2,98E-05	4,77E-03
GO:0043306 positive regulation of mast cell degranulation	8	Up	2,98E-05	4,77E-03

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0042522 regulation of tyrosine phosphorylation of Stat5 protein	11	Up	3,06E-05	4,84E-03
GO:0001525 angiogenesis	324	Up	3,16E-05	4,94E-03
GO:0061299 retina vasculature morphogenesis in camera-type eye	12	Up	3,60E-05	5,43E-03
GO:0071402 cellular response to lipoprotein particle stimulus	14	Up	3,63E-05	5,43E-03
GO:0015985 energy coupled proton transport, down electrochemical gradient	37	Up	3,64E-05	5,43E-03
GO:0015986 ATP synthesis coupled proton transport	37	Up	3,64E-05	5,43E-03
GO:0097324 melanocyte migration	3	Up	3,92E-05	5,70E-03
GO:0048514 blood vessel morphogenesis	384	Up	3,93E-05	5,70E-03
GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	8	Up	3,95E-05	5,70E-03
GO:0061298 retina vasculature development in camera-type eye	23	Up	4,13E-05	5,89E-03
GO:0001936 regulation of endothelial cell proliferation	87	Up	4,21E-05	5,94E-03
GO:0031579 membrane raft organization	26	Up	4,61E-05	6,44E-03
GO:0034638 phosphatidylcholine catabolic process	8	Up	4,90E-05	6,77E-03
GO:0042776 mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport	32	Up	5,15E-05	7,04E-03
GO:0006119 oxidative phosphorylation	97	Up	5,30E-05	7,13E-03
GO:0042985 negative regulation of amyloid precursor protein biosynthetic process	8	Up	5,32E-05	7,13E-03
GO:0070208 protein heterotrimerization	15	Up	5,41E-05	7,18E-03
GO:0055098 response to low-density lipoprotein particle	16	Up	5,51E-05	7,23E-03
GO:0002274 myeloid leukocyte activation	86	Up	5,63E-05	7,31E-03
GO:0097529 myeloid leukocyte migration	85	Up	5,99E-05	7,71E-03
GO:0071803 positive regulation of podosome assembly	7	Up	6,07E-05	7,74E-03
GO:0003203 endocardial cushion morphogenesis	20	Up	6,25E-05	7,89E-03
GO:0003158 endothelium development	101	Up	6,37E-05	7,97E-03
GO:0097510 base-excision repair, AP site formation via deaminated base removal	1	Up	6,96E-05	8,62E-03
GO:0022617 extracellular matrix disassembly	51	Up	7,03E-05	8,63E-03
GO:1901342 regulation of vasculature development	187	Up	7,36E-05	8,95E-03
GO:0014031 mesenchymal cell development	60	Up	7,68E-05	9,25E-03
GO:0003272 endocardial cushion formation	17	Up	8,47E-05	1,00E-02
GO:0019430 removal of superoxide radicals	21	Up	8,47E-05	1,00E-02
GO:0071621 granulocyte chemotaxis	45	Up	8,64E-05	1,01E-02
GO:0030335 positive regulation of cell migration	287	Up	8,72E-05	1,01E-02
GO:0032570 response to progesterone	31	Up	8,83E-05	1,02E-02
GO:2001238 positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway	49	Up	8,96E-05	1,02E-02
GO:2000147 positive regulation of cell motility	294	Up	9,17E-05	1,04E-02
GO:0002318 myeloid progenitor cell differentiation	4	Up	9,58E-05	1,07E-02
GO:0003197 endocardial cushion development	27	Up	9,67E-05	1,07E-02
GO:0010894 negative regulation of steroid biosynthetic process	16	Up	9,79E-05	1,07E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0045939 negative regulation of steroid metabolic process	16	Up	9,79E-05	1,07E-02
GO:0003198 epithelial to mesenchymal transition involved in endocardial cushion formation	15	Up	1,00E-04	1,09E-02
GO:0002275 myeloid cell activation involved in immune response	43	Up	1,03E-04	1,11E-02
GO:0010712 regulation of collagen metabolic process	25	Up	1,04E-04	1,11E-02
GO:0038162 erythropoietin-mediated signaling pathway	2	Up	1,06E-04	1,11E-02
GO:0097326 melanocyte adhesion	2	Up	1,06E-04	1,11E-02
GO:0030334 regulation of cell migration	524	Up	1,07E-04	1,11E-02
GO:0031581 hemidesmosome assembly	6	Up	1,08E-04	1,11E-02
GO:0014033 neural crest cell differentiation	58	Up	1,09E-04	1,12E-02
GO:0032632 interleukin-3 production	2	Up	1,18E-04	1,19E-02
GO:0032672 regulation of interleukin-3 production	2	Up	1,18E-04	1,19E-02
GO:0032650 regulation of interleukin-1 alpha production	4	Up	1,19E-04	1,19E-02
GO:0050705 regulation of interleukin-1 alpha secretion	4	Up	1,19E-04	1,19E-02
GO:0002371 dendritic cell cytokine production	3	Up	1,21E-04	1,19E-02
GO:0040017 positive regulation of locomotion	302	Up	1,25E-04	1,19E-02
GO:0010714 positive regulation of collagen metabolic process	13	Up	1,25E-04	1,19E-02
GO:0032967 positive regulation of collagen biosynthetic process	13	Up	1,25E-04	1,19E-02
GO:0044253 positive regulation of multicellular organismal metabolic process	13	Up	1,25E-04	1,19E-02
GO:0050701 interleukin-1 secretion	23	Up	1,25E-04	1,19E-02
GO:0044246 regulation of multicellular organismal metabolic process	26	Up	1,27E-04	1,20E-02
GO:0044273 sulfur compound catabolic process	38	Up	1,27E-04	1,20E-02
GO:0006909 phagocytosis	179	Up	1,30E-04	1,21E-02
GO:0014739 positive regulation of muscle hyperplasia	2	Up	1,33E-04	1,23E-02
GO:0014032 neural crest cell development	55	Up	1,34E-04	1,23E-02
GO:0001667 amoeboid-type cell migration	271	Up	1,38E-04	1,25E-02
GO:0035162 embryonic hemopoiesis	21	Up	1,45E-04	1,31E-02
GO:0048484 enteric nervous system development	7	Up	1,47E-04	1,31E-02
GO:0060326 cell chemotaxis	132	Up	1,47E-04	1,31E-02
GO:0042742 defense response to bacterium	73	Up	1,47E-04	1,31E-02
GO:0046137 negative regulation of vitamin metabolic process	4	Up	1,51E-04	1,33E-02
GO:0045765 regulation of angiogenesis	168	Up	1,52E-04	1,33E-02
GO:0071670 smooth muscle cell chemotaxis	10	Up	1,55E-04	1,34E-02
GO:0030593 neutrophil chemotaxis	40	Up	1,55E-04	1,34E-02
GO:0071622 regulation of granulocyte chemotaxis	18	Up	1,57E-04	1,34E-02
GO:2000145 regulation of cell motility	560	Up	1,60E-04	1,36E-02
GO:0007266 Rho protein signal transduction	111	Up	1,73E-04	1,46E-02
GO:0001935 endothelial cell proliferation	103	Up	1,83E-04	1,54E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0006959 humoral immune response	73	Up	1,84E-04	1,54E-02
GO:0097530 granulocyte migration	49	Up	1,89E-04	1,57E-02
GO:0034142 toll-like receptor 4 signaling pathway	21	Up	1,97E-04	1,63E-02
GO:0048864 stem cell development	58	Up	1,99E-04	1,63E-02
GO:0030595 leukocyte chemotaxis	95	Up	2,06E-04	1,68E-02
GO:0016477 cell migration	869	Up	2,12E-04	1,72E-02
GO:0007229 integrin-mediated signaling pathway	81	Up	2,15E-04	1,73E-02
GO:0051272 positive regulation of cellular component movement	302	Up	2,16E-04	1,73E-02
GO:0050673 epithelial cell proliferation	263	Up	2,33E-04	1,86E-02
GO:0006779 porphyrin-containing compound biosynthetic process	29	Up	2,43E-04	1,91E-02
GO:0033014 tetrapyrrole biosynthetic process	32	Up	2,45E-04	1,91E-02
GO:0032612 interleukin-1 production	41	Up	2,45E-04	1,91E-02
GO:0006911 phagocytosis, engulfment	23	Up	2,46E-04	1,91E-02
GO:0006120 mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	47	Up	2,47E-04	1,91E-02
GO:0050764 regulation of phagocytosis	39	Up	2,68E-04	2,06E-02
GO:0032965 regulation of collagen biosynthetic process	19	Up	2,71E-04	2,07E-02
GO:0040012 regulation of locomotion	576	Up	2,74E-04	2,08E-02
GO:0071675 regulation of mononuclear cell migration	26	Up	2,93E-04	2,21E-02
GO:0048870 cell motility	929	Up	2,96E-04	2,21E-02
GO:0051674 localization of cell	929	Up	2,96E-04	2,21E-02
GO:2000824 negative regulation of androgen receptor activity	1	Up	2,98E-04	2,21E-02
GO:0002888 positive regulation of myeloid leukocyte mediated immunity	10	Up	3,02E-04	2,22E-02
GO:0090130 tissue migration	202	Up	3,03E-04	2,22E-02
GO:0099024 plasma membrane invagination	26	Up	3,05E-04	2,22E-02
GO:1990542 mitochondrial transmembrane transport	78	Up	3,06E-04	2,22E-02
GO:1905065 positive regulation of vascular smooth muscle cell differentiation	3	Up	3,13E-04	2,26E-02
GO:0060252 positive regulation of glial cell proliferation	8	Up	3,19E-04	2,28E-02
GO:1990266 neutrophil migration	43	Up	3,21E-04	2,28E-02
GO:0006778 porphyrin-containing compound metabolic process	34	Up	3,26E-04	2,28E-02
GO:2000392 regulation of lamellipodium morphogenesis	10	Up	3,28E-04	2,28E-02
GO:0019474 L-lysine catabolic process to acetyl-CoA	4	Down	3,30E-04	2,28E-02
GO:0019477 L-lysine catabolic process	4	Down	3,30E-04	2,28E-02
GO:0033512 L-lysine catabolic process to acetyl-CoA via saccharopine	4	Down	3,30E-04	2,28E-02
GO:0046440 L-lysine metabolic process	4	Down	3,30E-04	2,28E-02
GO:0010631 epithelial cell migration	198	Up	3,35E-04	2,28E-02
GO:0090132 epithelium migration	198	Up	3,35E-04	2,28E-02
GO:0043484 regulation of RNA splicing	101	Down	3,37E-04	2,28E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0001765 membrane raft assembly	17	Up	3,37E-04	2,28E-02
GO:1903427 negative regulation of reactive oxygen species biosynthetic process	25	Up	3,43E-04	2,31E-02
GO:0033032 regulation of myeloid cell apoptotic process	22	Up	3,44E-04	2,31E-02
GO:1903557 positive regulation of tumor necrosis factor superfamily cytokine production	36	Up	3,66E-04	2,44E-02
GO:0071404 cellular response to low-density lipoprotein particle stimulus	13	Up	3,78E-04	2,50E-02
GO:0006783 heme biosynthetic process	25	Up	3,84E-04	2,53E-02
GO:0032351 negative regulation of hormone metabolic process	7	Up	3,88E-04	2,54E-02
GO:0045766 positive regulation of angiogenesis	93	Up	4,07E-04	2,66E-02
GO:0050678 regulation of epithelial cell proliferation	221	Up	4,10E-04	2,66E-02
GO:0051270 regulation of cellular component movement	606	Up	4,14E-04	2,66E-02
GO:0050730 regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	157	Up	4,14E-04	2,66E-02
GO:0060323 head morphogenesis	23	Up	4,17E-04	2,66E-02
GO:1904018 positive regulation of vasculature development	110	Up	4,19E-04	2,66E-02
GO:0071801 regulation of podosome assembly	11	Up	4,20E-04	2,66E-02
GO:1901552 positive regulation of endothelial cell development	2	Up	4,35E-04	2,73E-02
GO:1903142 positive regulation of establishment of endothelial barrier	2	Up	4,35E-04	2,73E-02
GO:0002224 toll-like receptor signaling pathway	100	Up	4,45E-04	2,77E-02
GO:0050900 leukocyte migration	231	Up	4,46E-04	2,77E-02
GO:0042168 heme metabolic process	28	Up	4,56E-04	2,79E-02
GO:0072011 glomerular endothelium development	4	Up	4,59E-04	2,79E-02
GO:1903365 regulation of fear response	4	Up	4,62E-04	2,79E-02
GO:1903367 positive regulation of fear response	4	Up	4,62E-04	2,79E-02
GO:2000822 regulation of behavioral fear response	4	Up	4,62E-04	2,79E-02
GO:2000987 positive regulation of behavioral fear response	4	Up	4,62E-04	2,79E-02
GO:0006818 hydrogen transport	142	Up	4,69E-04	2,82E-02
GO:0010715 regulation of extracellular matrix disassembly	11	Up	4,75E-04	2,84E-02
GO:0033033 negative regulation of myeloid cell apoptotic process	12	Up	4,76E-04	2,84E-02
GO:0042743 hydrogen peroxide metabolic process	33	Up	4,88E-04	2,90E-02
GO:0050731 positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	113	Up	5,03E-04	2,98E-02
GO:0008360 regulation of cell shape	132	Up	5,15E-04	3,01E-02
GO:0006775 fat-soluble vitamin metabolic process	20	Up	5,18E-04	3,01E-02
GO:0071798 response to prostaglandin D	5	Up	5,18E-04	3,01E-02
GO:0071799 cellular response to prostaglandin D stimulus	5	Up	5,18E-04	3,01E-02
GO:0033627 cell adhesion mediated by integrin	44	Up	5,27E-04	3,05E-02
GO:0000066 mitochondrial ornithine transport	2	Up	5,33E-04	3,06E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0015822 ornithine transport	2	Up	5,33E-04	3,06E-02
GO:2000394 positive regulation of lamellipodium morphogenesis	9	Up	5,48E-04	3,11E-02
GO:0032760 positive regulation of tumor necrosis factor production	35	Up	5,50E-04	3,11E-02
GO:0002477 antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class Ib	6	Up	5,54E-04	3,11E-02
GO:0002481 antigen processing and presentation of exogenous protein antigen via MHC class Ib, TAP-dependent	6	Up	5,54E-04	3,11E-02
GO:0007596 blood coagulation	241	Up	5,54E-04	3,11E-02
GO:1900122 positive regulation of receptor binding	7	Up	5,69E-04	3,17E-02
GO:0050680 negative regulation of epithelial cell proliferation	87	Up	5,70E-04	3,17E-02
GO:0031663 lipopolysaccharide-mediated signaling pathway	44	Up	5,77E-04	3,20E-02
GO:0051026 chiasma assembly	3	Down	5,87E-04	3,24E-02
GO:0015992 proton transport	140	Up	5,93E-04	3,25E-02
GO:0002551 mast cell chemotaxis	7	Up	5,93E-04	3,25E-02
GO:1903281 positive regulation of calcium:sodium antiporter activity	4	Down	6,02E-04	3,28E-02
GO:0048265 response to pain	18	Up	6,26E-04	3,37E-02
GO:0016114 terpenoid biosynthetic process	11	Up	6,26E-04	3,37E-02
GO:0042445 hormone metabolic process	104	Up	6,29E-04	3,37E-02
GO:0050663 cytokine secretion	99	Up	6,32E-04	3,37E-02
GO:0042340 keratan sulfate catabolic process	10	Up	6,32E-04	3,37E-02
GO:0060244 negative regulation of cell proliferation involved in contact inhibition	4	Up	6,35E-04	3,37E-02
GO:0032418 lysosome localization	34	Up	6,38E-04	3,38E-02
GO:0042573 retinoic acid metabolic process	13	Up	6,66E-04	3,51E-02
GO:0035270 endocrine system development	70	Up	6,70E-04	3,52E-02
GO:0060840 artery development	63	Up	6,80E-04	3,56E-02
GO:0090025 regulation of monocyte chemotaxis	20	Up	6,85E-04	3,57E-02
GO:0032914 positive regulation of transforming growth factor beta1 production	4	Up	6,90E-04	3,58E-02
GO:0070125 mitochondrial translational elongation	108	Up	6,92E-04	3,58E-02
GO:0043252 sodium-independent organic anion transport	11	Up	6,95E-04	3,58E-02
GO:0042523 positive regulation of tyrosine phosphorylation of Stat5 protein	8	Up	7,10E-04	3,64E-02
GO:0050817 coagulation	242	Up	7,18E-04	3,67E-02
GO:0071315 cellular response to morphine	3	Up	7,25E-04	3,67E-02
GO:0071317 cellular response to isoquinoline alkaloid	3	Up	7,25E-04	3,67E-02
GO:0008284 positive regulation of cell proliferation	568	Up	7,26E-04	3,67E-02
GO:0048771 tissue remodeling	99	Up	7,46E-04	3,75E-02
GO:0002428 antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class Ib	7	Up	7,62E-04	3,82E-02
GO:0043542 endothelial cell migration	138	Up	7,78E-04	3,88E-02
GO:0043090 amino acid import	12	Down	8,18E-04	4,07E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:2000542 negative regulation of gastrulation	5	Up	8,24E-04	4,08E-02
GO:0006099 tricarboxylic acid cycle	34	Up	8,55E-04	4,21E-02
GO:1902600 hydrogen ion transmembrane transport	109	Up	8,56E-04	4,21E-02
GO:0033690 positive regulation of osteoblast proliferation	9	Up	8,73E-04	4,28E-02
GO:1903279 regulation of calcium:sodium antiporter activity	5	Down	8,87E-04	4,31E-02
GO:0060325 face morphogenesis	22	Up	8,89E-04	4,31E-02
GO:0071672 negative regulation of smooth muscle cell chemotaxis	5	Up	8,91E-04	4,31E-02
GO:0043302 positive regulation of leukocyte degranulation	13	Up	8,94E-04	4,31E-02
GO:0046148 pigment biosynthetic process	49	Up	8,97E-04	4,31E-02
GO:0002688 regulation of leukocyte chemotaxis	52	Up	9,19E-04	4,39E-02
GO:0006898 receptor-mediated endocytosis	197	Up	9,20E-04	4,39E-02
GO:1903039 positive regulation of leukocyte cell-cell adhesion	151	Up	9,26E-04	4,41E-02
GO:0060374 mast cell differentiation	4	Up	9,35E-04	4,43E-02
GO:0002696 positive regulation of leukocyte activation	199	Up	9,39E-04	4,43E-02
GO:2001236 regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway	137	Up	9,41E-04	4,43E-02
GO:0061732 mitochondrial acetyl-CoA biosynthetic process from pyruvate	4	Up	9,47E-04	4,44E-02
GO:0002577 regulation of antigen processing and presentation	12	Up	9,65E-04	4,46E-02
GO:0036118 hyaluronan cable assembly	3	Up	9,67E-04	4,46E-02
GO:1900104 regulation of hyaluronan cable assembly	3	Up	9,67E-04	4,46E-02
GO:1900106 positive regulation of hyaluronan cable assembly	3	Up	9,67E-04	4,46E-02
GO:0010643 cell communication by chemical coupling	2	Up	9,68E-04	4,46E-02
GO:0042506 tyrosine phosphorylation of Stat5 protein	13	Up	9,87E-04	4,53E-02
GO:0007599 hemostasis	246	Up	9,89E-04	4,53E-02
GO:0060976 coronary vasculature development	35	Up	9,99E-04	4,55E-02
GO:0050829 defense response to Gram-negative bacterium	15	Up	1,00E-03	4,55E-02
GO:0040011 locomotion	1042	Up	1,01E-03	4,56E-02
GO:1903555 regulation of tumor necrosis factor superfamily cytokine production	69	Up	1,02E-03	4,59E-02
GO:0006955 immune response	972	Up	1,02E-03	4,59E-02
GO:0071800 podosome assembly	16	Up	1,04E-03	4,64E-02
GO:0006954 inflammatory response	363	Up	1,04E-03	4,64E-02
GO:0034341 response to interferon-gamma	118	Up	1,04E-03	4,64E-02
GO:0010759 positive regulation of macrophage chemotaxis	4	Up	1,06E-03	4,69E-02
GO:0002480 antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, TAP-independent	13	Up	1,06E-03	4,70E-02

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0048266 behavioral response to pain	10	Up	1,09E-03	4,78E-02
GO:0044091 membrane biogenesis	36	Up	1,11E-03	4,78E-02
GO:0010632 regulation of epithelial cell migration	152	Up	1,12E-03	4,78E-02
GO:0035904 aorta development	45	Up	1,12E-03	4,78E-02
GO:0009268 response to pH	24	Up	1,13E-03	4,78E-02
GO:0010257 NADH dehydrogenase complex assembly	54	Up	1,13E-03	4,78E-02
GO:0032981 mitochondrial respiratory chain complex I assembly	54	Up	1,13E-03	4,78E-02
GO:0097031 mitochondrial respiratory chain complex I biogenesis	54	Up	1,13E-03	4,78E-02
GO:0032371 regulation of sterol transport	24	Up	1,14E-03	4,78E-02
GO:0032374 regulation of cholesterol transport	24	Up	1,14E-03	4,78E-02
GO:0009611 response to wounding	462	Up	1,14E-03	4,78E-02
GO:0050922 negative regulation of chemotaxis	36	Up	1,15E-03	4,78E-02
GO:0007412 axon target recognition	1	Up	1,15E-03	4,78E-02
GO:0010877 lipid transport involved in lipid storage	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:0032805 positive regulation of low-density lipoprotein particle receptor catabolic process	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1901630 negative regulation of presynaptic membrane organization	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1902994 regulation of phospholipid efflux	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1902995 positive regulation of phospholipid efflux	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1903000 regulation of lipid transport across blood brain barrier	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1903002 positive regulation of lipid transport across blood brain barrier	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:1990379 lipid transport across blood brain barrier	1	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:0042060 wound healing	382	Up	1,16E-03	4,78E-02
GO:0034754 cellular hormone metabolic process	69	Up	1,17E-03	4,79E-02
GO:0071709 membrane assembly	32	Up	1,18E-03	4,80E-02
GO:0003094 glomerular filtration	16	Up	1,18E-03	4,80E-02
GO:0019371 cyclooxygenase pathway	6	Up	1,18E-03	4,80E-02
GO:0032730 positive regulation of interleukin-1 alpha production	3	Up	1,20E-03	4,85E-02
GO:0050717 positive regulation of interleukin-1 alpha secretion	3	Up	1,20E-03	4,85E-02
GO:0001704 formation of primary germ layer	78	Up	1,20E-03	4,85E-02
GO:0032020 ISG15-protein conjugation	8	Up	1,21E-03	4,86E-02
GO:0008217 regulation of blood pressure	114	Up	1,24E-03	4,97E-02
GO:0071674 mononuclear cell migration	35	Up	1,25E-03	4,98E-02
GO:0046034 ATP metabolic process	247	Up	1,26E-03	4,98E-02
GO:0050867 positive regulation of cell activation	207	Up	1,26E-03	4,98E-02
GO:0032611 interleukin-1 beta production	27	Up	1,27E-03	4,98E-02
GO:0043330 response to exogenous dsRNA	30	Up	1,27E-03	4,98E-02
GO:0036017 response to erythropoietin	4	Up	1,27E-03	4,98E-02
GO:0036018 cellular response to erythropoietin	4	Up	1,27E-03	4,98E-02

Continua

Conclusão

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0036305 ameloblast differentiation	1	Down	1,29E-03	4,98E-02

Quando a direção é “*up*”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

Tabela 9. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$ e taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria funções moleculares, no estado basal entre os estados treinado (*Up*) e não-treinado (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0005201 extracellular matrix structural constituent	42	Up	1,56E-17	5,69E-14
GO:0048407 platelet-derived growth factor binding	13	Up	4,70E-10	8,59E-07
GO:0005504 fatty acid binding	21	Up	5,71E-08	6,96E-05
GO:0033293 monocarboxylic acid binding	38	Up	2,03E-06	1,00E-03
GO:0019763 immunoglobulin receptor activity	3	Up	2,25E-06	1,00E-03
GO:0005487 nucleocytoplasmic transporter activity	36	Down	2,28E-06	1,00E-03
GO:0004753 saccharopine dehydrogenase activity	2	Down	2,47E-06	1,00E-03
GO:0047130 saccharopine dehydrogenase (NADP+, L-lysine-forming) activity	2	Down	2,47E-06	1,00E-03
GO:0047131 saccharopine dehydrogenase (NAD+, L-glutamate-forming) activity	2	Down	2,47E-06	1,00E-03
GO:0005031 tumor necrosis factor-activated receptor activity	13	Up	3,12E-06	1,03E-03
GO:0005035 death receptor activity	13	Up	3,12E-06	1,03E-03
GO:0004601 peroxidase activity	37	Up	3,40E-06	1,03E-03
GO:0086075 gap junction channel activity involved in cardiac conduction electrical coupling	1	Up	4,35E-06	1,10E-03
GO:1903763 gap junction channel activity involved in cell communication by electrical coupling	1	Up	4,35E-06	1,10E-03
GO:0019767 IgE receptor activity	2	Up	4,50E-06	1,10E-03
GO:0016209 antioxidant activity	64	Up	6,04E-06	1,38E-03
GO:0016655 oxidoreductase activity, acting on NAD(P)H, quinone or similar compound as acceptor	58	Up	1,22E-05	2,62E-03
GO:0016615 malate dehydrogenase activity	6	Up	1,29E-05	2,63E-03
GO:0060228 phosphatidylcholine-sterol O-acyltransferase activator activity	2	Up	1,48E-05	2,65E-03
GO:0016684 oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor	39	Up	1,50E-05	2,65E-03
GO:0050786 RAGE receptor binding	10	Up	1,52E-05	2,65E-03
GO:0005152 interleukin-1 receptor antagonist activity	1	Up	1,70E-05	2,83E-03
GO:0016918 retinal binding	6	Up	1,81E-05	2,87E-03
GO:0008948 oxaloacetate decarboxylase activity	6	Up	1,91E-05	2,91E-03
GO:0047391 alkylglycerophosphoethanolamine phosphodiesterase activity	3	Up	2,29E-05	3,35E-03

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0003840 gamma-glutamyltransferase activity	1	Down	2,51E-05	3,40E-03
GO:0036374 glutathione hydrolase activity	1	Down	2,51E-05	3,40E-03
GO:0005178 integrin binding	87	Up	2,66E-05	3,47E-03
GO:0019838 growth factor binding	101	Up	3,19E-05	3,96E-03
GO:0008503 benzodiazepine receptor activity	3	Up	3,25E-05	3,96E-03
GO:0047023 androsterone dehydrogenase activity	2	Up	4,01E-05	4,53E-03
GO:0008329 signaling pattern recognition receptor activity	13	Up	4,09E-05	4,53E-03
GO:0038187 pattern recognition receptor activity	13	Up	4,09E-05	4,53E-03
GO:0018636 phenanthrene 9,10-monooxygenase activity	3	Up	4,69E-05	4,76E-03
GO:0047086 ketosteroid monooxygenase activity	3	Up	4,69E-05	4,76E-03
GO:0047115 trans-1,2-dihydrobenzene-1,2-diol dehydrogenase activity	3	Up	4,69E-05	4,76E-03
GO:0019841 retinol binding	3	Up	5,65E-05	5,59E-03
GO:0004470 malic enzyme activity	5	Up	7,36E-05	6,95E-03
GO:0005044 scavenger receptor activity	15	Up	7,63E-05	6,95E-03
GO:0030369 ICAM-3 receptor activity	2	Up	7,80E-05	6,95E-03
GO:0005501 retinoid binding	15	Up	7,91E-05	6,95E-03
GO:0043178 alcohol binding	53	Up	7,99E-05	6,95E-03
GO:0004471 malate dehydrogenase (decarboxylating) (NAD ⁺) activity	4	Up	9,39E-05	7,98E-03
GO:0009055 electron carrier activity	113	Up	1,05E-04	8,57E-03
GO:0005020 stem cell factor receptor activity	2	Up	1,06E-04	8,57E-03
GO:0005113 patched binding	3	Up	1,11E-04	8,82E-03
GO:0016620 oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor	42	Up	1,27E-04	9,87E-03
GO:1901681 sulfur compound binding	155	Up	1,32E-04	9,99E-03
GO:0005534 galactose binding	3	Up	1,34E-04	9,99E-03
GO:0038024 cargo receptor activity	27	Up	1,39E-04	1,02E-02
GO:0005518 collagen binding	54	Up	1,64E-04	1,18E-02
GO:0019840 isoprenoid binding	16	Up	1,76E-04	1,24E-02
GO:0001758 retinal dehydrogenase activity	10	Up	1,80E-04	1,24E-02
GO:0004667 prostaglandin-D synthase activity	1	Up	1,92E-04	1,30E-02
GO:0008121 ubiquinol-cytochrome-c reductase activity	9	Up	2,10E-04	1,32E-02
GO:0016679 oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors	9	Up	2,10E-04	1,32E-02
GO:0016681 oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors, cytochrome as acceptor	9	Up	2,10E-04	1,32E-02
GO:0015347 sodium-independent organic anion transmembrane transporter activity	9	Up	2,12E-04	1,32E-02
GO:0005049 nuclear export signal receptor activity	11	Down	2,13E-04	1,32E-02
GO:0016651 oxidoreductase activity, acting on NAD(P)H	92	Up	2,33E-04	1,42E-02
GO:0019863 IgE binding	3	Up	2,44E-04	1,45E-02

Continua

Conclusão

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0005539 glycosaminoglycan binding	119	Up	2,46E-04	1,45E-02
GO:0030613 oxidoreductase activity, acting on phosphorus or arsenic in donors	5	Up	2,88E-04	1,62E-02
GO:0030614 oxidoreductase activity, acting on phosphorus or arsenic in donors, disulfide as acceptor	5	Up	2,88E-04	1,62E-02
GO:0003730 mRNA 3'-UTR binding	55	Down	2,88E-04	1,62E-02
GO:0050683 AF-1 domain binding	1	Up	2,98E-04	1,65E-02
GO:0015485 cholesterol binding	34	Up	3,06E-04	1,67E-02
GO:0030023 extracellular matrix constituent conferring elasticity	2	Up	3,31E-04	1,76E-02
GO:0004032 alditol:NADP+ 1-oxidoreductase activity	7	Up	3,32E-04	1,76E-02
GO:0003954 NADH dehydrogenase activity	41	Up	4,04E-04	2,01E-02
GO:0008137 NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	41	Up	4,04E-04	2,01E-02
GO:0050136 NADH dehydrogenase (quinone) activity	41	Up	4,04E-04	2,01E-02
GO:0008201 heparin binding	90	Up	4,05E-04	2,01E-02
GO:0005496 steroid binding	58	Up	4,07E-04	2,01E-02
GO:0016627 oxidoreductase activity, acting on the CH-CH group of donors	56	Up	4,17E-04	2,03E-02
GO:0031406 carboxylic acid binding	98	Up	5,38E-04	2,59E-02
GO:0004859 phospholipase inhibitor activity	9	Up	5,89E-04	2,80E-02
GO:0061134 peptidase regulator activity	127	Up	6,17E-04	2,89E-02
GO:0030898 actin-dependent ATPase activity	13	Up	6,40E-04	2,96E-02
GO:0016903 oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors	50	Up	6,75E-04	3,08E-02
GO:0051371 muscle alpha-actinin binding	16	Down	6,94E-04	3,13E-02
GO:0001540 beta-amyloid binding	29	Up	7,44E-04	3,32E-02
GO:0003729 mRNA binding	165	Down	7,60E-04	3,35E-02
GO:0015038 glutathione disulfide oxidoreductase activity	8	Up	8,45E-04	3,65E-02
GO:0017077 oxidative phosphorylation uncoupler activity	3	Up	8,48E-04	3,65E-02
GO:0047743 chlordecone reductase activity	1	Up	8,89E-04	3,78E-02
GO:0050501 hyaluronan synthase activity	3	Up	9,67E-04	4,06E-02
GO:0046911 metal chelating activity	1	Up	1,16E-03	4,82E-02
GO:0015037 peptide disulfide oxidoreductase activity	11	Up	1,21E-03	4,92E-02
GO:0019955 cytokine binding	67	Up	1,21E-03	4,92E-02
GO:0016646 oxidoreductase activity, acting on the CH-NH group of donors, NAD or NADP as acceptor	18	Down	1,23E-03	4,92E-02

Quando a direção é “up”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “down” favorece o estado não-treinado.

Tabela 10. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$ e taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria compostos celulares, no estado basal entre o estado treinado (*Up*) e não-treinado (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0098644 complex of collagen trimers	19	Up	3,92E-19	6,36E-16
GO:0005581 collagen trimer	50	Up	1,60E-18	1,29E-15
GO:0005583 fibrillar collagen trimer	8	Up	1,17E-17	4,74E-15
GO:0098643 banded collagen fibril	8	Up	1,17E-17	4,74E-15
GO:0044420 extracellular matrix component	100	Up	2,06E-12	6,68E-10
GO:0005604 basement membrane	77	Up	1,05E-09	2,83E-07
GO:0005578 proteinaceous extracellular matrix	201	Up	1,03E-08	2,38E-06
GO:0005607 laminin-2 complex	2	Up	1,33E-08	2,40E-06
GO:0043257 laminin-8 complex	2	Up	1,33E-08	2,40E-06
GO:0005606 laminin-1 complex	4	Up	2,88E-08	4,67E-06
GO:0042629 mast cell granule	13	Up	1,47E-07	2,16E-05
GO:0005584 collagen type I trimer	3	Up	1,88E-07	2,54E-05
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	122	Up	2,56E-07	3,19E-05
GO:0043259 laminin-10 complex	4	Up	4,32E-07	5,00E-05
GO:0005588 collagen type V trimer	2	Up	6,01E-07	6,49E-05
GO:0098651 basement membrane collagen trimer	5	Up	1,45E-06	1,47E-04
GO:0008305 integrin complex	22	Up	1,64E-06	1,48E-04
GO:0098636 protein complex involved in cell adhesion	22	Up	1,64E-06	1,48E-04
GO:0043256 laminin complex	7	Up	2,59E-06	2,21E-04
GO:0044455 mitochondrial membrane part	185	Up	5,49E-06	4,45E-04
GO:0005746 mitochondrial respiratory chain	78	Up	6,32E-06	4,87E-04
GO:0070469 respiratory chain	86	Up	7,85E-06	5,78E-04
GO:0042611 MHC protein complex	24	Up	1,44E-05	1,02E-03
GO:0031012 extracellular matrix	360	Up	1,90E-05	1,28E-03
GO:0098798 mitochondrial protein complex	156	Up	2,07E-05	1,34E-03
GO:0045259 proton-transporting ATP synthase complex	37	Up	2,32E-05	1,43E-03
GO:0005753 mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex	34	Up	2,38E-05	1,43E-03
GO:0098803 respiratory chain complex	67	Up	3,74E-05	2,16E-03
GO:0005586 collagen type III trimer	1	Up	4,98E-05	2,78E-03
GO:0005615 extracellular space	755	Up	7,13E-05	3,85E-03
GO:0034687 integrin alphaL-beta2 complex	2	Up	7,80E-05	4,08E-03
GO:0005743 mitochondrial inner membrane	482	Up	1,17E-04	5,94E-03
GO:0005587 collagen type IV trimer	4	Up	1,54E-04	7,11E-03
GO:0098642 network-forming collagen trimer	4	Up	1,54E-04	7,11E-03
GO:0098645 collagen network	4	Up	1,54E-04	7,11E-03
GO:0009897 external side of plasma membrane	108	Up	1,82E-04	8,20E-03

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0005788 endoplasmic reticulum lumen	127	Up	2,80E-04	1,22E-02
GO:0005605 basal lamina	21	Up	2,87E-04	1,22E-02
GO:0071556 integral component of luminal side of endoplasmic reticulum membrane	28	Up	3,01E-04	1,22E-02
GO:0098553 luminal side of endoplasmic reticulum membrane	28	Up	3,01E-04	1,22E-02
GO:0071682 endocytic vesicle lumen	14	Up	3,25E-04	1,25E-02
GO:0001726 ruffle	150	Up	3,25E-04	1,25E-02
GO:0098552 side of membrane	272	Up	3,58E-04	1,35E-02
GO:0045263 proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o)	22	Up	3,88E-04	1,42E-02
GO:0031234 extrinsic component of cytoplasmic side of plasma membrane	71	Up	3,95E-04	1,42E-02
GO:0000276 mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o)	19	Up	4,16E-04	1,47E-02
GO:0032587 ruffle membrane	74	Up	4,47E-04	1,49E-02
GO:0060205 cytoplasmic membrane-bounded vesicle lumen	73	Up	4,48E-04	1,49E-02
GO:0019866 organelle inner membrane	517	Up	4,50E-04	1,49E-02
GO:0009986 cell surface	442	Up	5,49E-04	1,77E-02
GO:0031256 leading edge membrane	110	Up	5,56E-04	1,77E-02
GO:0071437 invadopodium	13	Up	6,35E-04	1,98E-02
GO:0031966 mitochondrial membrane	651	Up	6,52E-04	1,98E-02
GO:0000313 organellar ribosome	87	Up	6,72E-04	1,98E-02
GO:0005761 mitochondrial ribosome	87	Up	6,72E-04	1,98E-02
GO:0045254 pyruvate dehydrogenase complex	6	Up	7,64E-04	2,09E-02
GO:0005589 collagen type VI trimer	6	Up	7,98E-04	2,09E-02
GO:0098647 collagen beaded filament	6	Up	7,98E-04	2,09E-02
GO:0005747 mitochondrial respiratory chain complex I	44	Up	8,07E-04	2,09E-02
GO:0030964 NADH dehydrogenase complex	44	Up	8,07E-04	2,09E-02
GO:0045271 respiratory chain complex I	44	Up	8,07E-04	2,09E-02
GO:0044393 microspike	2	Up	8,12E-04	2,09E-02
GO:0030314 junctional membrane complex	8	Down	8,14E-04	2,09E-02
GO:0005740 mitochondrial envelope	687	Up	8,35E-04	2,11E-02
GO:0014701 junctional sarcoplasmic reticulum membrane	9	Down	8,98E-04	2,23E-02
GO:0042643 actomyosin, actin portion	1	Up	9,41E-04	2,23E-02
GO:0005582 collagen type XV trimer	1	Up	9,63E-04	2,23E-02
GO:0036117 hyaluronan cable	3	Up	9,67E-04	2,23E-02
GO:0019897 extrinsic component of plasma membrane	102	Up	9,72E-04	2,23E-02
GO:0005834 heterotrimeric G-protein complex	23	Up	9,79E-04	2,23E-02
GO:1905360 GTPase complex	23	Up	9,79E-04	2,23E-02
GO:0005681 spliceosomal complex	198	Down	9,91E-04	2,23E-02
GO:0031983 vesicle lumen	75	Up	1,19E-03	2,62E-02

Continua

Conclusão

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0042613 MHC class II protein complex	12	Up	1,20E-03	2,62E-02
GO:0042612 MHC class I protein complex	12	Up	1,31E-03	2,84E-02
GO:0045261 proton-transporting ATP synthase complex, catalytic core F(1)	9	Up	1,37E-03	2,92E-02
GO:0072558 NLRP1 inflammasome complex	3	Up	1,41E-03	2,97E-02
GO:0036053 glomerular endothelium fenestra	2	Up	1,62E-03	3,33E-02
GO:0031838 haptoglobin-hemoglobin complex	4	Up	1,62E-03	3,33E-02
GO:0001891 phagocytic cup	17	Up	1,72E-03	3,49E-02
GO:0070022 transforming growth factor beta receptor homodimeric complex	5	Up	1,91E-03	3,82E-02
GO:0005833 hemoglobin complex	7	Up	1,99E-03	3,94E-02
GO:0098857 membrane microdomain	234	Up	2,11E-03	4,11E-02
GO:0043209 myelin sheath	188	Up	2,15E-03	4,11E-02
GO:0046696 lipopolysaccharide receptor complex	8	Up	2,16E-03	4,11E-02
GO:0045121 membrane raft	229	Up	2,28E-03	4,29E-02
GO:0044429 mitochondrial part	948	Up	2,35E-03	4,38E-02
GO:0000930 gamma-tubulin complex	18	Down	2,41E-03	4,44E-02
GO:0098802 plasma membrane receptor complex	94	Up	2,47E-03	4,49E-02
GO:0002177 manchette	2	Up	2,53E-03	4,55E-02
GO:0000314 organellar small ribosomal subunit	31	Up	2,72E-03	4,79E-02
GO:0005763 mitochondrial small ribosomal subunit	31	Up	2,72E-03	4,79E-02
GO:0005576 extracellular region	3034	Up	2,82E-03	4,92E-02

Quando a direção é “up”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “down” favorece o estado não-treinado.

5.11.2 Comparação entre mudanças agudas na expressão gênica após sessão de TF em diferentes estados de treinamento.

No total, 17.341 genes foram analisados, com 27 genes significativamente alterados favorecendo o delta do estado treinado e 63 genes significativamente alterados favorecendo o delta do estado não-treinado. Novamente, para melhor visualização da quantidade de genes e magnitude de mudanças da comparação entre estados de treinamento após sessões de TF construímos a figura 19 a seguir com um gráfico tipo “volcano plot”.

Figura 19. Volcano plot da expressão gênica entre diferentes estados de treinamento após sessão de TF. Os genes em verde são mais expressos no estado não-treinado (pré-T1), os em vermelho são mais expressos no estado treinado (pré-T3) e os em preto não se modificaram significativamente ($P > 0.05$, $\log\text{FoldChange} < |1|$).

As tabelas a seguir (11A e 11B) apresentam os genes diferencialmente expressos ($(\log\text{FC} > |1|$, $\text{FDR} < 0,05$ e $P(\text{ajustado}) < 0,05$) após sessão de TF (24h – pré) nos estados treinado (T3) e não-treinado (T1). Valores de logFC positivos favorecem o estado treinado (24h-T3 – pré-T3, Tabela 11A), enquanto valores de logFC negativos favorecem o estado não-treinado (24h-T1 – pré-T1, Tabela 11B).

Tabela 11A – Genes diferencialmente expressos ($\log\text{FoldChange} (\log\text{FC}) > 1$, $P < 0,05$) após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado e não-treinado.

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
IGFN1	GENE : immunoglobulin-like and fibronectin type III domain containing 1	91156	2,4179	0,0257
NOV	GENE : nephroblastoma overexpressed gene	4856	1,6201	0,0401
SFRP4	GENE : secreted frizzled-related protein 4	6424	1,6000	0,0275
MFAP5	GENE : microfibrillar associated protein 5	8076	1,5756	0,0142
DCN	GENE : decorin	1634	1,5294	0,0179
IGFBP6	GENE : insulin-like growth factor binding protein 6	3489	1,5169	0,0435
ATPGD1	GENE : carnosine synthase 1	NA	1,4005	0,0219

Continua

Conclusão

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
WFDC21P	GENE : WAP four-disulfide core domain 21, pseudogene	NA	1,3419	0,0468
ZMYND17	GENE : zinc finger, MYND-type containing 17	NA	1,3341	0,0192
ISLR	GENE : immunoglobulin superfamily containing leucine-rich repeat	3671	1,2849	0,0394
GSN	GENE : gelsolin	2934	1,2555	0,0200
DIO2	GENE : deiodinase, iodothyronine, type II	1734	1,2396	0,0067
GPMB	GENE : glycoprotein (transmembrane) nmb	10457	1,1675	0,0141
MFAP4	GENE : microfibrillar-associated protein 4	4239	1,1357	0,0446
ADAM19	GENE : ADAM metalloproteinase domain 19 (meltrin beta)	8728	1,1351	0,0109
COQ10A	GENE : coenzyme Q10A	93058	1,1288	0,0356
GPMB	GENE : glycoprotein (transmembrane) nmb	10457	1,1149	0,0391
PRPH2	GENE : peripherin 2	5961	1,1094	0,0390
PDGFR	GENE : platelet-derived growth factor receptor-like	5157	1,1058	0,0100
ATPGD1	GENE : carnosine synthase 1	NA	1,0967	0,0224
ANGPT1	GENE : angiopoietin 1	284	1,0919	0,0141
LOC642005	GENE : similar to zinc finger protein 682	NA	1,0712	0,0248
CA3	GENE : carbonic anhydrase III, muscle specific	761	1,0536	0,0224
FBLN2	GENE : fibulin 2	2199	1,0448	0,0405
ID3	GENE : inhibitor of DNA binding 3, HLH protein	3399	1,0434	0,0264
CDKN2B	GENE : cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (p15, inhibits CDK4)	1030	1,0350	0,0457
TIMP2	GENE : TIMP metalloproteinase inhibitor 2	7077	1,0317	0,0279

Tabela 11B – Genes diferencialmente expressos (LogFoldChange (logFC) < -1, P < 0,05) após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado e não-treinado.

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
SERPINA3	GENE : serpin family A member 3	12	-3,1416	0,0067
HK2	GENE : hexokinase 2	3099	-2,2632	0,0067
FOS	GENE : Fos proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	2353	-2,1978	0,0275
MT2A	GENE : metallothionein 2A	4502	-2,1541	0,0098
HK2	GENE : hexokinase 2	3099	-1,8652	0,0089
TGM2	GENE : transglutaminase 2	7052	-1,6747	0,0179
SLC22A4	GENE : solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 4	6583	-1,6725	0,0082
WIPF3	GENE : WAS/WASL interacting protein family member 3	NA	-1,6677	0,0158
CYP1B1	GENE : cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1	1545	-1,6335	0,0218
UCK2	GENE : uridine-cytidine kinase 2	7371	-1,5699	0,0144
DKFZp451A211	GENE : DKFZp451A211 protein	NA	-1,5540	0,0158
RRAD	GENE : Ras related glycolysis inhibitor and calcium channel regulator	6236	-1,5420	0,0269
GPSM2	GENE : G-protein signaling modulator 2	29899	-1,5239	0,0142
HSPA1A	GENE : heat shock 70kDa protein 1A	3303	-1,5103	0,0067

Continua

Continuação

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
M6PRBP1	GENE : mannose-6-phosphate receptor binding protein 1	NA	-1,4942	0,0091
SEL1L2	GENE : SEL1L2 ERAD E3 ligase adaptor subunit	80343	-1,4857	0,0224
CLCC1	GENE : chloride channel CLIC-like 1	23155	-1,4829	0,0466
NAMPT	GENE : nicotinamide phosphoribosyltransferase	10135	-1,4338	0,0074
HSPA1B	GENE : heat shock 70kDa protein 1B	3304	-1,4246	0,0142
PANX1	GENE : pannexin 1	24145	-1,4059	0,0118
MVP	GENE : major vault protein	9961	-1,2926	0,0122
ASB5	GENE : ankyrin repeat and SOCS box-containing 5	140458	-1,2910	0,0110
RPL29	GENE : ribosomal protein L29	6159	-1,2904	0,0099
NAMPT	GENE : nicotinamide phosphoribosyltransferase	10135	-1,2769	0,0224
SNX5	GENE : sorting nexin 5	27131	-1,2756	0,0006
DDN	GENE : dendrin	23109	-1,2706	0,0358
SOD2	GENE : superoxide dismutase 2, mitochondrial	6648	-1,2635	0,0144
TUBA1C	GENE : tubulin, alpha 1c	84790	-1,2551	0,0348
GPC4	GENE : glypican 4	2239	-1,2441	0,0353
AXUD1	GENE : cysteine and serine rich nuclear protein 1	NA	-1,2372	0,0224
ISG20L1	GENE : interferon stimulated exonuclease gene 20kDa-like 1	NA	-1,2207	0,0218
SLC7A1	GENE : solute carrier family 7 member 1	6541	-1,1918	0,0230
FHL2	GENE : four and a half LIM domains 2	2274	-1,1918	0,0142
LOC285556	-	285556	-1,1849	0,0006
SPCS3	GENE : signal peptidase complex subunit 3	60559	-1,1836	0,0079
LOC642031	-	NA	-1,1804	0,0412
SPOCK1	GENE : SPARC/osteonectin, cwcx and kazal like domains proteoglycan 1	6695	-1,1684	0,0087
RPS7	GENE : ribosomal protein S7	6201	-1,1525	0,0139
HDAC9	GENE : histone deacetylase 9	9734	-1,1362	0,0142
HIPK2	GENE : homeodomain interacting protein kinase 2	28996	-1,1228	0,0047
ANXA2	GENE : annexin A2	302	-1,1179	0,0165
DPH3	GENE : diphthamide biosynthesis 3	285381	-1,1071	0,0067
FAM13A	GENE : family with sequence similarity 13 member A	10144	-1,1029	0,0158
IRAK2	GENE : interleukin-1 receptor-associated kinase 2	3656	-1,1018	0,0356
ASB5	GENE : ankyrin repeat and SOCS box-containing 5	140458	-1,1000	0,0067
HSPBL2	GENE : heat shock 27kDa protein-like 2	NA	-1,0995	0,0067
CALU	GENE : calumenin	813	-1,0878	0,0158
ANXA11	GENE : annexin A11	311	-1,0792	0,0271
LOC650803	-	NA	-1,0767	0,0157
HEATR1	GENE : HEAT repeat containing 1	55127	-1,0687	0,0179
RRP7A	GENE : ribosomal RNA processing 7 homolog A	27341	-1,0665	0,0473
EGLN3	GENE : egl-9 family hypoxia inducible factor 3	112399	-1,0665	0,0282
FHL2	GENE : four and a half LIM domains 2	2274	-1,0502	0,0281
CAST	GENE : calpastatin	831	-1,0447	0,0067
DNAJA4	GENE : DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily A, member 4	55466	-1,0420	0,0218

Continua

Conclusão

Símbolo	Nome	ENTREZID	logFC	P
PTRH1	GENE : peptidyl-tRNA hydrolase 1 homolog	138428	-1,0311	0,0100
RARRES1	GENE : retinoic acid receptor responder 1	5918	-1,0175	0,0248
DPH3	GENE : diphthamide biosynthesis 3	285381	-1,0140	0,0271
RAB15	GENE : RAB15, member RAS onocogene family	376267	-1,0131	0,0466
DPH3	GENE : diphthamide biosynthesis 3	285381	-1,0126	0,0084

As tabelas a seguir (Tabelas 12-15) apresentam a análise de enriquecimento ($P < 0,05$, $FDR < 0,05$) de vias KEGG (Tabela 12) e termos GO (Tabelas 13-15) após sessão de TF nos estados treinado e não-treinado. Similarmente ao descrito antes, quando a direção é “*up*”, a via é positivamente modulada para o delta (T3 24h – T3 pré), ou seja, favorece o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece a mudança após uma sessão de TF no estado não-treinado (T1 24h – T1 pré).

Tabela 12. Análise de enriquecimento de vias da Enciclopédia de Kyoto de Genes e Genomas (KEGG, $P < 0,05$ e taxa de falsa descoberta ($FDR < 0,05$) após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado (*Up*) e destraindo (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
hsa03050 Proteasome	59	Down	5,30E-10	1,16E-07
hsa03008 Ribosome biogenesis in eukaryotes	77	Down	7,68E-06	8,06E-04
hsa00524 Butirosin and neomycin biosynthesis	4	Down	1,10E-05	8,06E-04
hsa03040 Spliceosome	141	Down	6,61E-05	3,62E-03
hsa00190 Oxidative phosphorylation	133	Up	2,21E-04	9,67E-03
hsa01210 2-Oxocarboxylic acid metabolism	19	Up	3,50E-04	1,13E-02
hsa04141 Protein processing in endoplasmic reticulum	182	Down	3,62E-04	1,13E-02
hsa04672 Intestinal immune network for IgA production	19	Up	6,47E-04	1,77E-02
hsa01230 Biosynthesis of amino acids	67	Up	1,35E-03	3,28E-02
hsa00020 Citrate cycle (TCA cycle)	34	Up	1,51E-03	3,31E-02
hsa00970 Aminoacyl-tRNA biosynthesis	42	Down	1,93E-03	3,83E-02

Quando a direção é “*up*”, a via está alterada favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

Tabela 13. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$, taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria processos biológicos, após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado (*Up*) e destraindo (*Down*).

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0051436 negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle	90	Down	9,07E-08	3,28E-04
GO:0031145 anaphase-promoting complex-dependent catabolic process	96	Down	9,31E-08	3,28E-04
GO:1904667 negative regulation of ubiquitin protein ligase activity	91	Down	9,48E-08	3,28E-04
GO:0051437 positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in regulation of mitotic cell cycle transition	94	Down	1,12E-07	3,28E-04
GO:1904666 regulation of ubiquitin protein ligase activity	99	Down	1,48E-07	3,28E-04
GO:0051439 regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle	91	Down	1,54E-07	3,28E-04
GO:2000058 regulation of protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process	116	Down	1,95E-07	3,28E-04
GO:2000060 positive regulation of protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process	108	Down	2,13E-07	3,28E-04
GO:1904668 positive regulation of ubiquitin protein ligase activity	97	Down	2,25E-07	3,28E-04
GO:0042254 ribosome biogenesis	371	Down	2,93E-07	3,85E-04
GO:0006521 regulation of cellular amino acid metabolic process	72	Down	5,23E-07	4,49E-04
GO:0090670 RNA localization to Cajal body	26	Down	5,47E-07	4,49E-04
GO:0090671 telomerase RNA localization to Cajal body	26	Down	5,47E-07	4,49E-04
GO:0090672 telomerase RNA localization	26	Down	5,47E-07	4,49E-04
GO:1904872 regulation of telomerase RNA localization to Cajal body	26	Down	5,47E-07	4,49E-04
GO:1904874 positive regulation of telomerase RNA localization to Cajal body	26	Down	5,47E-07	4,49E-04
GO:0006364 rRNA processing	309	Down	9,78E-07	7,55E-04
GO:0016072 rRNA metabolic process	311	Down	1,07E-06	7,77E-04
GO:1904814 regulation of protein localization to chromosome, telomeric region	21	Down	1,18E-06	8,05E-04
GO:0035691 macrophage migration inhibitory factor signaling pathway	5	Up	1,23E-06	8,05E-04
GO:0051444 negative regulation of ubiquitin-protein transferase activity	98	Down	1,41E-06	8,71E-04
GO:0070199 establishment of protein localization to chromosome	22	Down	1,46E-06	8,71E-04
GO:1904851 positive regulation of establishment of protein localization to telomere	13	Down	1,98E-06	1,12E-03
GO:1904816 positive regulation of protein localization to chromosome, telomeric region	17	Down	2,05E-06	1,12E-03

Continua

Continuação

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:1903405 protein localization to nuclear body	14	Down	2,80E-06	1,27E-03
GO:1904867 protein localization to Cajal body	14	Down	2,80E-06	1,27E-03
GO:1904869 regulation of protein localization to Cajal body	14	Down	2,80E-06	1,27E-03
GO:1904871 positive regulation of protein localization to Cajal body	14	Down	2,80E-06	1,27E-03
GO:1990173 protein localization to nucleoplasm	14	Down	2,80E-06	1,27E-03
GO:0070198 protein localization to chromosome, telomeric region	27	Down	2,95E-06	1,29E-03
GO:0006403 RNA localization	217	Down	3,30E-06	1,38E-03
GO:0051443 positive regulation of ubiquitin-protein transferase activity	120	Down	3,35E-06	1,38E-03
GO:0034660 ncRNA metabolic process	570	Down	3,58E-06	1,42E-03
GO:0015838 amino-acid betaine transport	4	Down	3,77E-06	1,46E-03
GO:0034470 ncRNA processing	432	Down	4,92E-06	1,78E-03
GO:0015879 carnitine transport	3	Down	5,04E-06	1,78E-03
GO:1902603 carnitine transmembrane transport	3	Down	5,04E-06	1,78E-03
GO:0042273 ribosomal large subunit biogenesis	81	Down	5,14E-06	1,78E-03
GO:0006405 RNA export from nucleus	124	Down	5,33E-06	1,80E-03
GO:0000154 rRNA modification	32	Down	6,83E-06	2,17E-03
GO:0031397 negative regulation of protein ubiquitination	154	Down	6,94E-06	2,17E-03
GO:0071426 ribonucleoprotein complex export from nucleus	127	Down	6,95E-06	2,17E-03
GO:0044766 multi-organism transport	88	Down	7,90E-06	2,35E-03
GO:1902579 multi-organism localization	88	Down	7,90E-06	2,35E-03
GO:0071166 ribonucleoprotein complex localization	129	Down	8,06E-06	2,35E-03
GO:0075733 intracellular transport of virus	77	Down	1,01E-05	2,88E-03
GO:0006360 transcription from RNA polymerase I promoter	65	Down	1,10E-05	3,08E-03
GO:0033238 regulation of cellular amine metabolic process	82	Down	1,21E-05	3,24E-03
GO:0022900 electron transport chain	101	Up	1,21E-05	3,24E-03
GO:1901526 positive regulation of macromitophagy	2	Down	1,26E-05	3,24E-03
GO:1904925 positive regulation of mitophagy in response to mitochondrial depolarization	2	Down	1,26E-05	3,24E-03
GO:0070432 regulation of nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 signaling pathway	3	Down	1,29E-05	3,25E-03
GO:0070202 regulation of establishment of protein localization to chromosome	14	Down	1,47E-05	3,58E-03
GO:0070203 regulation of establishment of protein localization to telomere	14	Down	1,47E-05	3,58E-03
GO:1902581 multi-organism cellular localization	78	Down	1,55E-05	3,62E-03
GO:1902583 multi-organism intracellular transport	78	Down	1,55E-05	3,62E-03
GO:0022613 ribonucleoprotein complex biogenesis	508	Down	1,57E-05	3,63E-03
GO:0051168 nuclear export	185	Down	1,61E-05	3,64E-03
GO:0090666 scaRNA localization to Cajal body	5	Down	1,82E-05	4,05E-03

Continua

Continuação

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0042274 ribosomal small subunit biogenesis	71	Down	1,94E-05	4,23E-03
GO:0022904 respiratory electron transport chain	98	Up	1,97E-05	4,23E-03
GO:0046794 transport of virus	83	Down	2,03E-05	4,31E-03
GO:0070200 establishment of protein localization to telomere	15	Down	2,11E-05	4,40E-03
GO:2000446 regulation of macrophage migration inhibitory factor signaling pathway	2	Up	2,18E-05	4,46E-03
GO:0016074 snoRNA metabolic process	15	Down	2,32E-05	4,67E-03
GO:1900034 regulation of cellular response to heat	93	Down	2,35E-05	4,67E-03
GO:0016073 snRNA metabolic process	84	Down	2,47E-05	4,85E-03
GO:0006120 mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	47	Up	2,76E-05	5,17E-03
GO:0002220 innate immune response activating cell surface receptor signaling pathway	122	Down	2,85E-05	5,17E-03
GO:0000470 maturation of LSU-rRNA	32	Down	2,91E-05	5,17E-03
GO:0051438 regulation of ubiquitin-protein transferase activity	132	Down	2,92E-05	5,17E-03
GO:0097050 type B pancreatic cell apoptotic process	7	Down	2,92E-05	5,17E-03
GO:2000674 regulation of type B pancreatic cell apoptotic process	7	Down	2,92E-05	5,17E-03
GO:0006406 mRNA export from nucleus	108	Down	2,95E-05	5,17E-03
GO:0071427 mRNA-containing ribonucleoprotein complex export from nucleus	108	Down	2,95E-05	5,17E-03
GO:1903321 negative regulation of protein modification by small protein conjugation or removal	164	Down	3,29E-05	5,68E-03
GO:0070426 positive regulation of nucleotide-binding oligomerization domain containing signaling pathway	2	Down	3,51E-05	5,91E-03
GO:0070434 positive regulation of nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 signaling pathway	2	Down	3,51E-05	5,91E-03
GO:0034605 cellular response to heat	115	Down	3,79E-05	6,30E-03
GO:0002223 stimulatory C-type lectin receptor signaling pathway	121	Down	3,95E-05	6,48E-03
GO:0000454 snoRNA guided rRNA pseudouridine synthesis	5	Down	4,22E-05	6,84E-03
GO:0032487 regulation of Rap protein signal transduction	2	Up	4,33E-05	6,93E-03
GO:1904995 negative regulation of leukocyte adhesion to vascular endothelial cell	6	Up	4,56E-05	7,22E-03
GO:0006382 adenosine to inosine editing	7	Up	5,52E-05	8,63E-03
GO:0098781 ncRNA transcription	96	Down	5,68E-05	8,78E-03
GO:0016553 base conversion or substitution editing	9	Up	5,82E-05	8,89E-03
GO:0006000 fructose metabolic process	14	Up	6,52E-05	9,84E-03
GO:2000675 negative regulation of type B pancreatic cell apoptotic process	5	Down	7,16E-05	1,07E-02
GO:0031446 regulation of fast-twitch skeletal muscle fiber contraction	4	Up	7,33E-05	1,07E-02
GO:0031448 positive regulation of fast-twitch skeletal muscle fiber contraction	4	Up	7,33E-05	1,07E-02
GO:0006936 muscle contraction	312	Up	7,45E-05	1,08E-02

Continua

Continuação

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0030049 muscle filament sliding	57	Up	8,34E-05	1,18E-02
GO:0033275 actin-myosin filament sliding	57	Up	8,34E-05	1,18E-02
GO:0031126 snoRNA 3'-end processing	8	Down	8,59E-05	1,20E-02
GO:0031118 rRNA pseudouridine synthesis	10	Down	8,76E-05	1,21E-02
GO:0090076 relaxation of skeletal muscle	5	Up	9,33E-05	1,28E-02
GO:0006065 UDP-glucuronate biosynthetic process	6	Up	9,99E-05	1,34E-02
GO:0046398 UDP-glucuronate metabolic process	6	Up	9,99E-05	1,34E-02
GO:0006353 DNA-templated transcription, termination	99	Down	1,16E-04	1,54E-02
GO:0014724 regulation of twitch skeletal muscle contraction	5	Up	1,18E-04	1,55E-02
GO:0042773 ATP synthesis coupled electron transport	80	Up	1,24E-04	1,59E-02
GO:0042775 mitochondrial ATP synthesis coupled electron transport	80	Up	1,24E-04	1,59E-02
GO:0006409 tRNA export from nucleus	38	Down	1,34E-04	1,69E-02
GO:0071431 tRNA-containing ribonucleoprotein complex export from nucleus	38	Down	1,34E-04	1,69E-02
GO:0050657 nucleic acid transport	173	Down	1,39E-04	1,72E-02
GO:0050658 RNA transport	173	Down	1,39E-04	1,72E-02
GO:0006560 proline metabolic process	9	Up	1,44E-04	1,75E-02
GO:0006561 proline biosynthetic process	9	Up	1,44E-04	1,75E-02
GO:0006099 tricarboxylic acid cycle	34	Up	1,50E-04	1,80E-02
GO:0002479 antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, TAP-dependent	83	Down	1,52E-04	1,81E-02
GO:0055011 atrial cardiac muscle cell differentiation	2	Down	1,58E-04	1,85E-02
GO:0055014 atrial cardiac muscle cell development	2	Down	1,58E-04	1,85E-02
GO:0032212 positive regulation of telomere maintenance via telomerase	35	Down	1,60E-04	1,86E-02
GO:0006278 RNA-dependent DNA biosynthetic process	69	Down	1,61E-04	1,86E-02
GO:0015980 energy derivation by oxidation of organic compounds	264	Up	1,63E-04	1,86E-02
GO:0042590 antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	85	Down	1,69E-04	1,87E-02
GO:0010257 NADH dehydrogenase complex assembly	54	Up	1,70E-04	1,87E-02
GO:0032981 mitochondrial respiratory chain complex I assembly	54	Up	1,70E-04	1,87E-02
GO:0097031 mitochondrial respiratory chain complex I biogenesis	54	Up	1,70E-04	1,87E-02
GO:0002218 activation of innate immune response	230	Down	1,85E-04	2,03E-02
GO:0002758 innate immune response-activating signal transduction	225	Down	1,91E-04	2,07E-02
GO:0060513 prostatic bud formation	6	Up	2,08E-04	2,22E-02
GO:0060601 lateral sprouting from an epithelium	6	Up	2,08E-04	2,22E-02
GO:0000460 maturation of 5,8S rRNA	40	Down	2,14E-04	2,27E-02
GO:0051031 tRNA transport	40	Down	2,20E-04	2,31E-02

Continua

Continuação

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0009113 purine nucleobase biosynthetic process	14	Down	2,22E-04	2,31E-02
GO:0006368 transcription elongation from RNA polymerase II promoter	84	Down	2,25E-04	2,32E-02
GO:0033700 phospholipid efflux	7	Up	2,32E-04	2,36E-02
GO:0006011 UDP-glucose metabolic process	8	Up	2,33E-04	2,36E-02
GO:0006119 oxidative phosphorylation	97	Up	2,33E-04	2,36E-02
GO:0051236 establishment of RNA localization	176	Down	2,37E-04	2,37E-02
GO:0006399 tRNA metabolic process	158	Down	2,40E-04	2,38E-02
GO:0009063 cellular amino acid catabolic process	65	Up	2,41E-04	2,38E-02
GO:0042776 mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport	32	Up	2,50E-04	2,45E-02
GO:0009301 snRNA transcription	65	Down	2,54E-04	2,45E-02
GO:0042795 snRNA transcription from RNA polymerase II promoter	65	Down	2,54E-04	2,45E-02
GO:0007004 telomere maintenance via telomerase	66	Down	2,58E-04	2,47E-02
GO:0030198 extracellular matrix organization	235	Up	2,64E-04	2,48E-02
GO:0043062 extracellular structure organization	235	Up	2,64E-04	2,48E-02
GO:0003012 muscle system process	389	Up	2,65E-04	2,48E-02
GO:1902514 regulation of calcium ion transmembrane transport via high voltage-gated calcium channel	5	Down	2,70E-04	2,52E-02
GO:0006354 DNA-templated transcription, elongation	114	Down	2,83E-04	2,62E-02
GO:0038061 NIK/NF-kappaB signaling	123	Down	3,03E-04	2,77E-02
GO:1903279 regulation of calcium:sodium antiporter activity	5	Up	3,05E-04	2,77E-02
GO:0043487 regulation of RNA stability	169	Down	3,05E-04	2,77E-02
GO:0009408 response to heat	155	Down	3,08E-04	2,77E-02
GO:0032650 regulation of interleukin-1 alpha production	4	Down	3,18E-04	2,82E-02
GO:0050705 regulation of interleukin-1 alpha secretion	4	Down	3,18E-04	2,82E-02
GO:0045667 regulation of osteoblast differentiation	83	Up	3,37E-04	2,97E-02
GO:0098787 mRNA cleavage involved in mRNA processing	13	Down	3,47E-04	3,03E-02
GO:0007500 mesodermal cell fate determination	3	Up	3,55E-04	3,09E-02
GO:0043488 regulation of mRNA stability	164	Down	3,61E-04	3,12E-02
GO:2001252 positive regulation of chromosome organization	64	Down	3,64E-04	3,12E-02
GO:0045992 negative regulation of embryonic development	17	Up	3,66E-04	3,12E-02
GO:0032206 positive regulation of telomere maintenance	50	Down	3,90E-04	3,31E-02
GO:0006177 GMP biosynthetic process	6	Down	3,93E-04	3,31E-02
GO:0045089 positive regulation of innate immune response	253	Down	3,97E-04	3,32E-02
GO:0051028 mRNA transport	140	Down	4,05E-04	3,37E-02
GO:0001522 pseudouridine synthesis	22	Down	4,16E-04	3,44E-02
GO:0044275 cellular carbohydrate catabolic process	46	Up	4,21E-04	3,45E-02

Continua

Continuação

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0032210 regulation of telomere maintenance via telomerase	49	Down	4,24E-04	3,45E-02
GO:0043206 extracellular fibril organization	12	Up	4,36E-04	3,53E-02
GO:0034502 protein localization to chromosome	45	Down	4,42E-04	3,56E-02
GO:0009438 methylglyoxal metabolic process	7	Up	4,57E-04	3,66E-02
GO:0006361 transcription initiation from RNA polymerase I promoter	40	Down	4,69E-04	3,68E-02
GO:0030574 collagen catabolic process	37	Up	4,70E-04	3,68E-02
GO:0002474 antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I	113	Down	4,70E-04	3,68E-02
GO:0002756 MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway	37	Down	4,73E-04	3,68E-02
GO:1904358 positive regulation of telomere maintenance via telomere lengthening	36	Down	4,73E-04	3,68E-02
GO:0009068 aspartate family amino acid catabolic process	15	Up	4,80E-04	3,69E-02
GO:0046395 carboxylic acid catabolic process	157	Up	4,80E-04	3,69E-02
GO:1901837 negative regulation of transcription of nuclear large rRNA transcript from RNA polymerase I promoter	7	Down	5,23E-04	3,99E-02
GO:0045333 cellular respiration	169	Up	5,39E-04	4,09E-02
GO:0045088 regulation of innate immune response	298	Down	5,54E-04	4,18E-02
GO:0032804 negative regulation of low-density lipoprotein particle receptor catabolic process	4	Down	5,73E-04	4,30E-02
GO:0046112 nucleobase biosynthetic process	16	Down	5,80E-04	4,33E-02
GO:0090140 regulation of mitochondrial fission	22	Up	5,92E-04	4,39E-02
GO:0046487 glyoxylate metabolic process	27	Up	6,00E-04	4,43E-02
GO:0051659 maintenance of mitochondrion location	5	Up	6,04E-04	4,43E-02
GO:0044243 multicellular organism catabolic process	38	Up	6,13E-04	4,47E-02
GO:0038095 Fc-epsilon receptor signaling pathway	145	Down	6,29E-04	4,56E-02
GO:0007171 activation of transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity	9	Up	6,39E-04	4,61E-02
GO:0000463 maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5,8S rRNA, LSU-rRNA)	11	Down	6,51E-04	4,63E-02
GO:0010833 telomere maintenance via telomere lengthening	70	Down	6,57E-04	4,63E-02
GO:0060685 regulation of prostatic bud formation	4	Up	6,61E-04	4,63E-02
GO:0060345 spleen trabecula formation	2	Up	6,66E-04	4,63E-02
GO:0070839 divalent metal ion export	2	Up	6,66E-04	4,63E-02
GO:1903414 iron cation export	2	Up	6,66E-04	4,63E-02
GO:1903988 ferrous iron export	2	Up	6,66E-04	4,63E-02
GO:0032730 positive regulation of interleukin-1 alpha production	3	Down	6,78E-04	4,66E-02
GO:0050717 positive regulation of interleukin-1 alpha secretion	3	Down	6,78E-04	4,66E-02
GO:0048714 positive regulation of oligodendrocyte differentiation	6	Down	7,00E-04	4,78E-02
GO:0048251 elastic fiber assembly	5	Up	7,02E-04	4,78E-02

Continua

Conclusão

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	362	Up	7,10E-04	4,80E-02
GO:0006189 'de novo' IMP biosynthetic process	8	Down	7,12E-04	4,80E-02
GO:0006188 IMP biosynthetic process	11	Down	7,35E-04	4,90E-02
GO:0030490 maturation of SSU-rRNA	49	Down	7,35E-04	4,90E-02

Quando a direção é “*up*”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

Tabela 14. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$, taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria funções moleculares, após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado (*Up*) e destraindo (*Down*).

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0004298 threonine-type endopeptidase activity	24	Down	7,07E-08	1,29E-04
GO:0070003 threonine-type peptidase activity	24	Down	7,07E-08	1,29E-04
GO:0005201 extracellular matrix structural constituent	42	Up	2,37E-07	2,89E-04
GO:0055131 C3HC4-type RING finger domain binding	6	Down	2,12E-06	1,94E-03
GO:0015199 amino-acid betaine transmembrane transporter activity	3	Down	5,04E-06	2,88E-03
GO:0015226 carnitine transmembrane transporter activity	3	Down	5,04E-06	2,88E-03
GO:0005518 collagen binding	54	Up	5,52E-06	2,88E-03
GO:0003983 UTP:glucose-1-phosphate uridylyltransferase activity	5	Up	7,88E-06	2,88E-03
GO:0051748 UTP-monosaccharide-1-phosphate uridylyltransferase activity	5	Up	7,88E-06	2,88E-03
GO:0005523 tropomyosin binding	16	Up	8,69E-06	2,88E-03
GO:0004340 glucokinase activity	4	Down	1,10E-05	2,88E-03
GO:0004396 hexokinase activity	4	Down	1,10E-05	2,88E-03
GO:0008865 fructokinase activity	4	Down	1,10E-05	2,88E-03
GO:0019158 mannokinase activity	4	Down	1,10E-05	2,88E-03
GO:0030899 calcium-dependent ATPase activity	4	Up	2,22E-05	5,40E-03
GO:0008536 Ran GTPase binding	31	Down	3,09E-05	7,07E-03
GO:0008307 structural constituent of muscle	63	Up	5,26E-05	1,12E-02
GO:0047280 nicotinamide phosphoribosyltransferase activity	2	Down	5,51E-05	1,12E-02
GO:0034513 box H/ACA snoRNA binding	10	Down	8,76E-05	1,69E-02
GO:0008083 growth factor activity	80	Up	1,33E-04	2,43E-02
GO:0017098 sulfonylurea receptor binding	4	Down	1,58E-04	2,75E-02
GO:0004000 adenosine deaminase activity	9	Up	1,92E-04	2,93E-02
GO:0008794 arsenate reductase (glutaredoxin) activity	2	Down	1,93E-04	2,93E-02
GO:0030611 arsenate reductase activity	2	Down	1,93E-04	2,93E-02

Continua

Conclusão

ID e nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0004800 thyroxine 5'-deiodinase activity	1	Up	2,01E-04	2,94E-02
GO:0001884 pyrimidine nucleoside binding	3	Down	2,61E-04	3,28E-02
GO:0002134 UTP binding	3	Down	2,61E-04	3,28E-02
GO:0002135 CTP binding	3	Down	2,61E-04	3,28E-02
GO:0032551 pyrimidine ribonucleoside binding	3	Down	2,61E-04	3,28E-02
GO:0036402 proteasome-activating ATPase activity	10	Down	2,77E-04	3,31E-02
GO:0051082 unfolded protein binding	105	Down	2,80E-04	3,31E-02
GO:0030613 oxidoreductase activity, acting on phosphorus or arsenic in donors	5	Down	2,99E-04	3,31E-02
GO:0030614 oxidoreductase activity, acting on phosphorus or arsenic in donors, disulfide as acceptor	5	Down	2,99E-04	3,31E-02
GO:0016903 oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors	50	Up	3,22E-04	3,46E-02
GO:0032554 purine deoxyribonucleotide binding	5	Down	3,76E-04	3,72E-02
GO:0032558 adenylyl deoxyribonucleotide binding	5	Down	3,76E-04	3,72E-02
GO:0032564 dATP binding	5	Down	3,76E-04	3,72E-02
GO:0008201 heparin binding	90	Up	3,93E-04	3,78E-02
GO:0008513 secondary active organic cation transmembrane transporter activity	3	Down	4,18E-04	3,83E-02
GO:0031369 translation initiation factor binding	33	Down	4,26E-04	3,83E-02
GO:0016151 nickel cation binding	2	Up	4,30E-04	3,83E-02
GO:0036122 BMP binding	10	Up	4,50E-04	3,91E-02
GO:0030172 troponin C binding	4	Up	4,81E-04	4,01E-02
GO:0019871 sodium channel inhibitor activity	6	Down	4,83E-04	4,01E-02
GO:0000339 RNA cap binding	14	Down	5,04E-04	4,09E-02
GO:0008175 tRNA methyltransferase activity	18	Down	5,68E-04	4,51E-02

Quando a direção é “*up*”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

Tabela 15. Análise de enriquecimento de termos *Gene Ontology* (GO, $P < 0,05$, taxa de falsa descoberta (FDR) $< 0,05$), categoria compostos celulares, após sessão de treinamento de força comparando os estados treinado (*Up*) e destraindo (*Down*).

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:1905368 peptidase complex	107	Down	1,34E-09	1,84E-06
GO:0019773 proteasome core complex, alpha-subunit complex	11	Down	2,40E-09	1,84E-06
GO:0005732 small nucleolar ribonucleoprotein complex	25	Down	3,40E-09	1,84E-06
GO:0000502 proteasome complex	90	Down	6,13E-09	1,99E-06
GO:1905369 endopeptidase complex	90	Down	6,13E-09	1,99E-06

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0005578 proteinaceous extracellular matrix	201	Up	5,17E-08	1,39E-05
GO:0005839 proteasome core complex	25	Down	1,26E-07	2,86E-05
GO:0030684 preribosome	79	Down	1,41E-07	2,86E-05
GO:0044452 nucleolar part	68	Down	1,68E-07	3,03E-05
GO:0098644 complex of collagen trimers	19	Up	2,23E-07	3,62E-05
GO:1990204 oxidoreductase complex	94	Up	9,34E-07	1,27E-04
GO:0071953 elastic fiber	6	Up	9,43E-07	1,27E-04
GO:0030686 90S preribosome	30	Down	2,36E-06	2,94E-04
GO:0042470 melanosome	115	Down	3,21E-06	3,46E-04
GO:0048770 pigment granule	115	Down	3,21E-06	3,46E-04
GO:0032040 small-subunit processome	34	Down	4,87E-06	4,89E-04
GO:0070469 respiratory chain	86	Up	5,23E-06	4,89E-04
GO:0005581 collagen trimer	50	Up	1,08E-05	9,10E-04
GO:0005583 fibrillar collagen trimer	8	Up	1,18E-05	9,10E-04
GO:0098643 banded collagen fibril	8	Up	1,18E-05	9,10E-04
GO:0005832 chaperonin-containing T-complex	15	Down	2,55E-05	1,88E-03
GO:0044420 extracellular matrix component	100	Up	2,76E-05	1,94E-03
GO:0043292 contractile fiber	259	Up	3,55E-05	2,38E-03
GO:0036379 myofilament	31	Up	3,68E-05	2,38E-03
GO:0005746 respiratory chain	78	Up	3,94E-05	2,46E-03
GO:0042613 MHC class II protein complex	12	Up	4,19E-05	2,51E-03
GO:0030478 actin cap	7	Up	4,83E-05	2,79E-03
GO:0030016 myofibril	248	Up	5,31E-05	2,97E-03
GO:0005865 striated muscle thin filament	29	Up	6,69E-05	3,61E-03
GO:0044449 contractile fiber part	235	Up	7,54E-05	3,91E-03
GO:0031429 box H/ACA snoRNP complex	10	Down	8,76E-05	3,91E-03
GO:0072588 box H/ACA RNP complex	10	Down	8,76E-05	3,91E-03
GO:0072589 box H/ACA scaRNP complex	10	Down	8,76E-05	3,91E-03
GO:0090661 box H/ACA telomerase RNP complex	10	Down	8,76E-05	3,91E-03
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	122	Up	8,79E-05	3,91E-03
GO:0005747 mitochondrial respiratory chain complex I	44	Up	9,40E-05	3,91E-03
GO:0030964 NADH dehydrogenase complex	44	Up	9,40E-05	3,91E-03
GO:0045271 respiratory chain complex I	44	Up	9,40E-05	3,91E-03
GO:0042611 MHC protein complex	24	Up	1,22E-04	4,86E-03
GO:0098798 mitochondrial protein complex	156	Up	1,23E-04	4,86E-03
GO:0098803 respiratory chain complex	67	Up	1,28E-04	4,88E-03
GO:0005859 muscle myosin complex	25	Up	1,31E-04	4,88E-03
GO:0030017 sarcomere	214	Up	1,33E-04	4,88E-03
GO:0031595 nuclear proteasome complex	13	Down	1,45E-04	5,14E-03
GO:0005838 proteasome regulatory particle	33	Down	1,46E-04	5,14E-03
GO:1990667 PCSK9-AnxA2 complex	3	Down	1,53E-04	5,29E-03
GO:0044455 mitochondrial membrane part	185	Up	1,90E-04	6,41E-03

Continua

Continuação

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0031597 cytosolic proteasome complex	16	Down	2,03E-04	6,73E-03
GO:0005589 collagen type VI trimer	6	Up	2,21E-04	7,02E-03
GO:0098647 collagen beaded filament	6	Up	2,21E-04	7,02E-03
GO:0030687 preribosome, large subunit precursor	35	Down	2,36E-04	7,34E-03
GO:0000974 Prp19 complex	18	Down	2,40E-04	7,34E-03
GO:0022624 proteasome accessory complex	37	Down	2,60E-04	7,79E-03
GO:0015030 Cajal body	50	Down	3,29E-04	9,70E-03
GO:0044445 cytosolic part	247	Down	3,54E-04	1,02E-02
GO:0000428 DNA-directed RNA polymerase complex	115	Down	3,86E-04	1,07E-02
GO:0055029 nuclear DNA-directed RNA polymerase complex	115	Down	3,86E-04	1,07E-02
GO:0045259 proton-transporting ATP synthase complex	37	Up	3,88E-04	1,07E-02
GO:0016529 sarcoplasmic reticulum	76	Up	4,34E-04	1,16E-02
GO:0005753 mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex	34	Up	4,38E-04	1,16E-02
GO:0045263 proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o)	22	Up	4,43E-04	1,16E-02
GO:0000276 mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o)	19	Up	4,54E-04	1,17E-02
GO:0030880 RNA polymerase complex	116	Down	4,71E-04	1,17E-02
GO:0005811 lipid particle	65	Down	4,78E-04	1,17E-02
GO:0016459 myosin complex	58	Up	4,81E-04	1,17E-02
GO:0097422 tubular endosome	6	Down	4,86E-04	1,17E-02
GO:0034709 methylosome	15	Down	4,97E-04	1,18E-02
GO:0005697 telomerase holoenzyme complex	25	Down	6,44E-04	1,51E-02
GO:0001527 microfibril	5	Up	6,59E-04	1,53E-02
GO:0070724 BMP receptor complex	3	Up	6,72E-04	1,53E-02
GO:0097524 sperm plasma membrane	6	Down	7,55E-04	1,70E-02
GO:0005584 collagen type I trimer	3	Up	7,91E-04	1,76E-02
GO:0035749 myelin sheath adaxonal region	6	Down	8,02E-04	1,76E-02
GO:0070685 macropinocytic cup	2	Down	8,46E-04	1,83E-02
GO:0005787 signal peptidase complex	4	Down	1,01E-03	2,15E-02
GO:0005668 RNA polymerase transcription factor SL1 complex	4	Down	1,10E-03	2,31E-02
GO:0016528 sarcoplasm	83	Up	1,16E-03	2,40E-02
GO:0008541 proteasome regulatory particle, lid subcomplex	10	Down	1,31E-03	2,63E-02
GO:1990712 HFE-transferrin receptor complex	7	Up	1,32E-03	2,63E-02
GO:0005861 troponin complex	9	Up	1,32E-03	2,63E-02
GO:0022625 cytosolic large ribosomal subunit	82	Down	1,34E-03	2,63E-02
GO:0034361 very-low-density lipoprotein particle	9	Up	1,37E-03	2,63E-02
GO:0034385 triglyceride-rich lipoprotein particle	9	Up	1,37E-03	2,63E-02
GO:0005643 nuclear pore	85	Down	1,49E-03	2,84E-02
GO:0016012 sarcoglycan complex	7	Up	1,66E-03	3,13E-02
GO:0034098 VCP-NPL4-UFD1 AAA ATPase complex	11	Down	1,71E-03	3,18E-02

Continua

Conclusão

ID e Nome	Número de Genes	Direção	P	FDR
GO:0031672 A band	37	Up	1,75E-03	3,19E-02
GO:0090575 RNA polymerase II transcription factor complex	96	Down	1,75E-03	3,19E-02
GO:0005577 fibrinogen complex	4	Up	1,85E-03	3,33E-02
GO:0043205 fibril	6	Up	1,94E-03	3,43E-02
GO:0033017 sarcoplasmic reticulum membrane	49	Up	1,96E-03	3,43E-02
GO:0005964 phosphorylase kinase complex	8	Up	1,98E-03	3,43E-02
GO:0071013 catalytic step 2 spliceosome	104	Down	2,00E-03	3,43E-02
GO:1902560 GMP reductase complex	3	Up	2,01E-03	3,43E-02
GO:0005666 DNA-directed RNA polymerase III complex	22	Down	2,35E-03	3,95E-02
GO:0022626 cytosolic ribosome	152	Down	2,37E-03	3,95E-02
GO:0005845 mRNA cap binding complex	14	Down	2,48E-03	4,02E-02
GO:0034518 RNA cap binding complex	14	Down	2,48E-03	4,02E-02
GO:0044798 nuclear transcription factor complex	118	Down	2,49E-03	4,02E-02
GO:0016591 DNA-directed RNA polymerase II, holoenzyme	87	Down	2,50E-03	4,02E-02
GO:0034455 t-UTP complex	2	Down	2,60E-03	4,09E-02
GO:0016011 dystroglycan complex	8	Up	2,60E-03	4,09E-02
GO:0031012 extracellular matrix	360	Up	2,68E-03	4,17E-02
GO:0070545 PeBoW complex	6	Down	2,74E-03	4,23E-02
GO:0034719 SMN-Sm protein complex	17	Down	2,91E-03	4,45E-02
GO:0000124 SAGA complex	9	Down	2,95E-03	4,47E-02
GO:1990726 Lsm1-7-Pat1 complex	6	Down	3,08E-03	4,62E-02
GO:0016460 myosin II complex	31	Up	3,17E-03	4,71E-02
GO:0043033 isoamylase complex	3	Up	3,39E-03	5,00E-02

Quando a direção é “*up*”, o termo está alterado favorecendo o estado treinado, enquanto a direção “*down*” favorece o estado não-treinado.

6. DISCUSSÃO

A presente Tese buscou investigar como problema central, um tema bastante controverso na área do TF, mais especificamente, relacionado com os processos que controlam o processo hipertrófico muscular com a prática do TF: se o dano muscular induzido por sessão de TF é parte determinante ou não é necessário para o aumento da ASTf/AST muscular. Nossos principais resultados convergem para o mesmo ponto central: inicialmente num período de TF, o aumento da taxa de SPMio induzida por exercício é direcionado para o reparo/remodelamento do tecido muscular que apresenta altas magnitudes de dano muscular nesta fase; a taxa de SPMio é somente direcionada (podendo contribuir mais significativamente) para a hipertrofia muscular quando o dano muscular é progressivamente atenuado no processo de TF. Desta forma, o dano muscular não potencializa, muito menos promove a hipertrofia muscular, pelo contrário, ele onera a taxa de SPMio para um papel de reparo, e apenas quando o dano muscular é progressivamente atenuado durante o TF, a SPMio pode contribuir para o aumento da ASTf e AST muscular (i.e., hipertrofia muscular). Com relação aos mecanismos investigados aqui, observamos aumento na quantidade de células satélites após a primeira sessão de TF (papel das células satélites no reparo ao dano muscular), e esta quantidade aumentada se manteve elevada durante as 10 semanas de TF (sem novos aumentos agudos devido à sessões de TF subsequentes em T2 e T3), indicando uma função das células satélites envolvendo reparo/remodelamento em resposta ao dano muscular inicial e um estado de “prontidão” ao invés de um papel direto na hipertrofia muscular, pelo menos durante as primeiras 10 semanas de TF (sem necessidade de adição de novos mionúcleos) em homens jovens. Quanto aos resultados do *microarray*, observamos modulações na expressão gênica indicando que a musculatura se adaptou ao TF, tanto no estado basal quanto em resposta à sessão de TF, com alterações na expressão gênica no estado treinado demonstrando fortalecimento de componentes estruturais celulares envolvendo matriz extracelular e citoesqueleto, melhora na eficiência de contração muscular e resposta imunológica ao estresse (indicando que o remodelamento induzido pelas primeiras sessões de TF foi bem sucedido (efeito de carga

repetida)) e regulação do crescimento e desenvolvimento muscular para hipertrofia miofibrilar.

A realização de TF máximo para membros inferiores (três séries até a falha concêntrica de leg-press, seguidas de três séries até a falha concêntrica de extensão de joelhos), duas vezes por semana, produziu aumento na AST do VL já no início do programa de TF no presente estudo (i.e., em T2, após quatro sessões de TF obtivemos um aumento de ~2,7% na AST do VL) (Figura 8). Estudos anteriores relataram valores ligeiramente maiores (~4,5-6%) após períodos de TF semelhantes (ou seja, ~3 semanas de TF) (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011). Apesar de ambos os estudos também terem utilizado TF de alta intensidade, a disparidade na magnitude do aumento da AST muscular entre os nossos resultados e dos estudos citados (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011) pode ter sido devido ao diferente tipo de TF (utilizamos TF concêntrico-excêntrico isoinercial, enquanto Seynnes et al (2007) usaram um treinamento de *flywheel*, ou seja, com alto componente excêntrico); ao músculo avaliado (avaliamos o VL, enquanto DeFreitas et al (2011) avaliaram a AST de todos os músculos da coxa); ou, muito provavelmente, devido à maior frequência semanal de TF empregada pelos estudos citados, resultando em um número diferente de sessões de TF antes da avaliação na terceira semana (9-12 sessões em (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011) versus apenas quatro sessões de TF em nosso estudo). Ainda mais relevante, os outros estudos que relataram hipertrofia precoce (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; KRENTZ; FARTHING, 2010; DEFREITAS et al., 2011) não incluíram uma medida de edema muscular, o que põe em questão o grau de mudança na AST que pode ser realmente atribuído à verdadeira hipertrofia muscular. Krentz e Farthing (2010) mostraram aumentos iniciais na espessura muscular (~6,6%) após apenas 8 dias (~3-4 sessões) de treinamento excêntrico, mas como a força muscular foi diminuída durante este período, os autores sugeriram que o edema muscular, provavelmente proveniente do dano muscular de sessões prévias, poderia ter contribuído para o rápido aumento do tamanho do músculo. Adicionalmente, DeFreitas et al. (2011) especularam que o aumento significativo na AST muscular observado após uma semana de RT (~3,5%) foi provavelmente devido ao inchaço muscular induzido por edema. No entanto, nenhum dos estudos mencionados

anteriormente apresentou dados empíricos para apoiar tal sugestão. Por outro lado, nosso estudo incluiu uma medida de Eco-US, que, como discutida na seção de Métodos da presente Tese, é representativa da magnitude do edema induzido pelo exercício. Nossos resultados indicam que os aumentos observados na AST muscular em T2 foram concomitantes com maiores Eco-US em comparação com T1 (~17,2% maiores) (Figura 14A). O aumento de Eco-US em T2 era esperado, pois exercícios extenuantes induzem edema muscular transitório durante e após o exercício (FLECKENSTEIN et al., 1988), especialmente numa fase inicial do programa de TF quando há uma maior probabilidade de dano muscular (NOSAKA; SAKAMOTO, 2001; CHEN et al., 2009; CHEN et al., 2013a). Relatamos valores em torno de 61,5 UA em T2 (3 dias após a última sessão de TF) e trabalho prévio relatou 62,7 UA para um participante típico e aumentos médios de ~15-20% 2 a 3 dias após uma sessão de TF indutora de dano muscular (CHEN; NOSAKA, 2006; CHEN et al., 2012a; CHEN et al., 2013a; GONZALEZ-IZAL; LUSA CADORE; IZQUIERDO, 2014). Essa evidência fortalece nosso argumento de que algum grau de dano muscular ainda existia previamente à sessão de TF em T2. Adicionalmente, nossos dados de ASTf tipo I e II não demonstram alteração em T2 em comparação à T1 (Figura 9). Portanto, concluímos que o inchaço muscular induzido por edema proveniente de sessões de TF prévias é responsável por grande parte do aumento na AST do VL precoce (i.e., em T2) encontrado no presente estudo. Em adição, é interessante notar que o edema não parece ser intracelular, uma vez que a área das fibras não se alterou em T2, apesar do aumento demonstrado na área do músculo como um todo. Os estudos prévios que encontraram a hipertrofia precoce demonstraram aumento na AST muscular após ~9-12 sessões de TF (diferentemente do presente estudo), onde é possível que a hipertrofia muscular ‘real’ poderia realmente ter ocorrido; entretanto, pela falta de marcadores de inchaço/edema nestes estudos, sugerimos que a extensão da hipertrofia muscular apresentada anteriormente estaria superestimada em ambos os estudos (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011). Nesses mesmos trabalhos também foram reportados aumentos na força muscular, mas uma parte significativa dos aumentos de força pode ter ocorrido devido à adaptações neurais induzidas pelo TF (SEYNNES; DE BOER; NARICI, 2007; DEFREITAS et al., 2011). Em concordância, Seynnes et al. (2007) relataram um aumento significativo de ~30% na

atividade eletromiográfica do VL após ~9 sessões de TF, indicando a ocorrência de adaptações neurais; e em DeFreitas et al. (2011) a contribuição de adaptações neurais para os ganhos de força não pôde ser determinada. Como nosso protocolo de treino teve o número de séries e repetições constante ao longo do período experimental e foi realizado sempre até a falha muscular, o significativo aumento do volume total de treinamento já na terceira semana de TF (~12% de aumento em T2 versus T1) indica que os participantes conseguiram, em geral, realizar o TF em T2 com uma carga (i.e., Kg) maior do que na primeira sessão de treinamento (T1); estes aumentos aconteceram provavelmente graças à adaptações neurais advindas do TF. Em suporte a esta sugestão, já é amplamente descrito que ganhos iniciais na força muscular (i.e., nas primeiras duas semanas de TF, no caso do presente estudo) são em grande parte devido a adaptações neurais (MORITANI; DEVRIES, 1979; SALE, 1992; KAMEN; KNIGHT, 2004; GABRIEL; KAMEN; FROST, 2006). Adicionalmente, os valores de força isométrica não modificaram de T1 para T2. O teste de força isométrica é inespecífico quando considerado os exercícios de treinamento (i.e. treinamento isoinercial), fazendo com que o aumento na capacidade de recrutar as unidades motoras disponíveis não fosse detectado num teste inespecífico que requer um padrão coordenativo distinto ao dos exercícios de treino (WILSON; MURPHY, 1996). De fato, estudo prévio indicou que a não especificidade da tarefa pode até mesmo resultar em nenhum aumento num teste de força isométrica após um protocolo de TF que induziu hipertrofia muscular (SALE; MARTIN; MOROZ, 1992).

Ao fim das 10 semanas de TF, ambas medidas da capacidade de geração de força muscular aumentaram em comparação ao pré-TF (volume total: ~44%; força isométrica: ~8%), indicando a participação da hipertrofia muscular na capacidade de geração de força. Os dados de hipertrofia muscular suportam esta afirmação, indicando hipertrofia de ~10,4% na AST do VL ao fim das 10 semanas de TF (Figura 8). O aumento da AST do VL após 10 semanas de TF aqui reportada está de acordo com estudos anteriores que relataram ganhos de ~9-11% na AST muscular após 8-12 semanas de TF em indivíduos jovens previamente não-treinados (DEFREITAS et al., 2011; WAKAHARA et al., 2015). Embora inesperado, o aumento na AST do VL em T3 foi também concomitante com aumento da Eco-US (~13,7%) (Figura 14A), o que poderia indicar um processo de

remodelamento contínuo no músculo, uma vez que a última sessão de TF havia sido realizada três dias previamente à avaliação da Eco-US em T3. No entanto, é importante notar que, em comparação com T1, o aumento na AST do VL foi significativamente maior em T3 ($\sim 10,4\%$; $\sim 2,23 \text{ cm}^2$) do que em T2 ($\sim 2,7\%$; $\sim 0,58 \text{ cm}^2$), portanto os valores de Eco-US poderiam estar sendo influenciados pela maior área de músculo analisada já que essa medida também foi realizada na secção transversa do músculo VL. Para corrigir esta possível interferência, normalizamos os valores da Eco-US pela AST do VL, demonstrando que os valores corrigidos em T2 foram significativamente maiores do que em T1 e T3 (os valores corrigidos em T3 foram similares aos em T1) (Figura 14B). Portanto, parece plausível sugerir que uma grande parte do aumento precoce da AST do VL encontrado na terceira semana de RT (ou seja, após 4 sessões de TF, em T2) pode ser atribuída ao inchaço muscular induzido por edema; por outro lado, em T3, ou seja, após 10 semanas de TF, o aumento da AST do VL pode ser considerado como hipertrofia muscular ‘real’. Os dados de ASTf em T3 corroboram com tal afirmação, indicando que somente ao fim das 10 semanas de TF houve aumento na ASTf de $\sim 16\%$ nas fibras tipo II e $\sim 8\%$ (não-significante) nas fibras tipo I (Figura 9).

Embora esta magnitude de aumento na hipertrofia muscular observada por meio de aumento na ASTf não seja extremamente elevada, estudos anteriores reportaram resultados similares, i.e., $\sim 18\%$ de aumento em fibras tipo II e $\sim 9\%$ (não-significante também) em fibras do tipo I após 14 semanas de TF (AAGAARD et al., 2001). É esperado que fibras do tipo II hipertrofiassem mais em relação as do tipo I, uma vez que fibras tipo II são mais responsivas à hipertrofia (MCCALL et al., 1996; AAGAARD et al., 2001; HARBER et al., 2004; SNIJDERS et al., 2016). Ainda assim, a magnitude de aumento na ASTf encontrada no presente estudo não foi suficiente para promover aumento no número de mionúcleos durante as 10 semanas de TF (Tabela 3). Inicialmente, a transcrição/tradução de proteínas é controlada por mionúcleos previamente existentes, os quais sob estímulo(s) anabólico(s), expandem a transcrição/tradução de proteínas; entretanto, aumentos muito elevados de ASTf podem fazer com que os mionúcleos pré-existent não sejam capazes de controlar esta quantidade aumentada de citoplasma (cada mionúcleo consegue controlar um volume finito de citoplasma – domínio mionuclear (CHEEK, 1985)), e mionúcleos adicionais (provenientes de células satélites)

possam ser necessários para tal controle (KADI et al., 2004; KADI et al., 2005; PETRELLA et al., 2006; MCCARTHY; ESSER, 2007; O'CONNOR; PAVLATH, 2007). De fato, parece ser consistente na literatura que aumentos não muito extremos na ASTf (e.g., ~20% para o tipo II e ~9% para o tipo I após 10 semanas de TF em (ANDERSEN et al., 2009; MACKEY et al., 2011a)) não induzem a aumentos na quantidade de mionúcleos cronicamente. Por outro lado, outros estudos demonstraram que maiores aumentos na ASTf (~27-59%) promoveram aumento no número de mionúcleos em períodos mais extensos de TF (12-16 semanas) (PETRELLA et al., 2006; PETRELLA et al., 2008; SNIJDERS et al., 2016). Nossos dados e a literatura estão de acordo com sugestões de que os aumentos na ASTf acima de 26% (mas não inferior ou igual a 15%), exigiriam aumentos no número de mionúcleos por fibra (KADI et al., 2004). Portanto, períodos mais longos de TF permitem maiores magnitudes de aumento na ASTf, atingindo um limite de domínio mionuclear teórico (~2000 μm^2) (PETRELLA et al., 2006) que pode ser controlado por mionúcleos pré-existentes. Nossos valores de domínio mionuclear foram relativamente baixos no pré T1 (~1500 μm^2) permitindo uma grande expansão na ASTf, suportada pelos mionúcleos pré-existentes, antes de necessitar adição de novos mionúcleos. No final do período de TF, os nossos resultados não mostram alteração no domínio mionuclear, atingindo valores de ~1600 μm^2 (Tabela 3). Embora os resultados pareçam, de certa forma, conflitantes (pois observamos aumento na ASTf, mas nenhum aumento no número de mionúcleos e domínio mionuclear) o aumento discreto, não significativo, no domínio mionuclear (~5% nas fibras tipo I e ~10% nas fibras tipo II), parece sustentar os dados de aumento na ASTf. Em adição, não é incomum a ausência de mudança no domínio mionuclear durante TF (MACKEY et al., 2011a; BELLAMY et al., 2014; SNIJDERS et al., 2016). Considerando o discutido anteriormente, nossos dados indicam que os mionúcleos pré-existentes foram capazes de expandir a transcrição suficientemente para suportar o crescimento da fibra muscular, pelo menos considerando o aumento da ASTf promovida por 10 semanas de TF na presente investigação. Curiosamente, nossos participantes tinham experiência prévia em TF (apesar de não terem realizado TF nos seis meses antecedentes ao início do presente estudo), portanto, é possível que eles obtiveram aumentos no número de mionúcleos por fibra durante a realização de TF em fases em que realizaram TF nas suas vidas. Essa afirmação é

sustentada pelo fato de que os mionúcleos não parecem ser perdidos durante períodos de destreino ou desuso, e há sugestões de que os mionúcleos incorporados nunca são perdidos ao longo da vida; portanto o número de mionúcleos nas fibras representariam o maior tamanho que a fibra já teve (KADI et al., 2004; BRUUSGAARD et al., 2010; BRUUSGAARD et al., 2012; EGNER et al., 2013; DIRKS et al., 2014a; DIRKS et al., 2014b; SNIJDERS et al., 2014; GUNDERSEN, 2016). No início do estudo, nossos participantes apresentaram 2,9 e 3,2 mionúcleos por fibras musculares tipo I e II, respectivamente. Trabalhos de Petrella et al. (PETRELLA et al., 2006; PETRELLA et al., 2008) mostraram que homens jovens (20-35 anos) aumentaram o número de mionúcleos por fibra após 16 semanas de TF para valores finais em torno de 3,0 e, em adição, altos respondedores alcançaram valores de ~3,1 após 16 semanas de TF. Estes dados, adicionados ao fato de que reportamos baixos valores pré T1 de domínio mionuclear, dão suporte à sugestão de que nossos participantes tenham mantido os mionúcleos previamente incorporados (adquiridos pela experiência anterior em TF), e, portanto, não necessitaram de incorporação extra de novos mionúcleos durante as 10 semanas de TF aqui realizado. Portanto, no presente estudo, os mionúcleos pré-existent nas fibras musculares foram capazes de expandir a capacidade de transcrição/tradução aumentando a ASTf por meio de sequenciais aumentos na SPMio após cada sessão de TF.

A expansão na síntese de proteínas pós-sessão de TF é rápida (nas primeiras horas após o exercício) (MACDOUGALL et al., 1995; PHILLIPS et al., 1997), portanto, deve ser controlada por mionúcleos pré-existent nas fibras musculares. Na presente Tese utilizamos uma abordagem integrada e medimos a SPMio ao longo de dias (em oposição a horas), com os participantes em estados alimentados e em jejum, e mostrarmos que o aumento de SPMio após sessão de TF foi maior em magnitude no começo do TF (em T1) do que após 10 semanas de TF (em T3) (Figura 11). Curiosamente, também mostramos uma atenuação muito precoce (já em T2) na SPMio pós-sessão de TF em comparação com a observada em T1, sem diferença entre as taxas de SPMio pós-sessão em T2 e T3 (Figura 11). Interessantemente, apesar de observarmos este aumento potente na taxa de SPMio integrada 48h após a primeira sessão de TF (T1), essa elevação não se correlacionou com a hipertrofia muscular

crônica (Tabela 5); resultado congruente com os anteriores que utilizaram procedimentos de infusão intravenosa de isótopos estáveis (MAYHEW et al., 2009; MITCHELL et al., 2014) em que foram medidas as taxas de SPMio durante horas (em oposição à dias, utilizado aqui). Portanto, o método de análise, pelo menos inicialmente no TF, não parece ser o fator chave para a ausência de correlação entre a taxa de síntese proteica e hipertrofia muscular encontrada anteriormente. É importante destacar que demonstramos que a mudança de 0h para 48h na SPMio pós-sessão de TF no final do período de TF (T3) foi altamente correlacionada ($r = 0,911$) com o aumento da ASTf após as 10 semanas de TF e, adicionalmente, a elevação na SPMio 0h a 48h pós-sessão de TF tanto em T2 (terceira semana de TF) quanto em T3 foram significante e fortemente correlacionados ($r = 0,864$ e $r = 0,946$) com os aumentos na AST do músculo VL após 10 semanas de RT (Tabela 5). Vale ressaltar que a resposta de SPMio integrada de 0h a 48h em T2 apresentou correlação razoável ($r \sim 0,7$) com o aumento da ASTf após 10 semanas de TF. Um estudo recente (BROOK et al., 2015) mediu a SPMio integrada ao longo das três primeiras semanas de TF (participantes treinavam três vezes por semana) e encontrou uma correlação significativa ($r \sim 0,7$) com o aumento da espessura muscular (*thickness* do ultrassom, envolvendo apenas uma dimensão de medida – distância; enquanto utilizamos duas – AST muscular, diminuindo o erro de medida). Os autores também mostraram uma atenuação no aumento da SPMio com a progressão do TF (declínio na taxa de SPMio integrada de três semanas, considerando as semanas 3-6 do TF), retornando aos valores pré-TF. De acordo com os resultados de Brook et al. (2015), nossos resultados demonstram uma atenuação muito precoce no aumento da SPMio em T2 versus T1 sem mudanças adicionais de T2 para T3; entretanto, observamos aumentos significativos na SPMio durante as primeiras 24h pós-sessão de TF na terceira (T2) e na décima (T3) semana de TF (Figura 11). Embora nossos resultados possam parecer discordantes com os de Brook et al. (2015), propomos que a diferença é explicada predominantemente pelo fato de que nossas medidas englobaram dias (24h e 48h) logo após as sessões de TF, enquanto as de Brook et al. (2015) foram realizadas ao longo de (três) semanas. Baseado em nossos dados atuais e anteriores (PHILLIPS et al., 1997), a taxa de síntese proteica pós sessão tem valores pico em torno de 24h e, a partir daí começa a declinar; portanto, aferir a SPMio durante três semanas (BROOK et al., 2015)

teria impedido a captura mais precisa do aumento da SPMio após cada sessão de TF. Em adição, no presente estudo demonstramos que, além de três semanas de TF, as alterações na SPMio pós-sessão de TF são atenuadas em comparação com a mudança pós-sessão na primeira semana. Desta forma, sugerimos que Brook et al. (2015) observaram incrementos na SPMio pós-sessões de TF progressivamente menores no decorrer das sessões após três semanas de treino, e esses incrementos teriam sido “diluídos” na aferição da taxa de SPMio durante um período de três semanas. Por sua vez, isto levaria a uma redução na SPMio global retornando aos valores de pré-treino e uma falta de correlação entre a SPMio com hipertrofia muscular nessa fase de TF, em comparação com as três semanas iniciais, reportada pelos autores (BROOK et al., 2015). Portanto, nossos resultados expandem os achados de Brook et al. (2015), permitindo uma resolução temporal mais detalhada e precisa da SPMio durante um programa de TF. Relatamos que 24h a 48h pós-sessão de TF, o aumento da SPMio integrada já é atenuado em uma fase precoce (semana três, T2), sem atenuações posteriores até a semana 10 de TF (T3), e ambas as SPMio pós-sessão de TF nas semanas T2 e T3 se correlacionaram com a hipertrofia muscular.

Na Introdução da presente Tese sugerimos que num estado não-treinado os aumentos da SPMio após a primeira sessão de TF seriam direcionados para o reparo do tecido muscular submetido ao dano muscular, o qual apresentaria magnitude elevada após esta sessão de exercício. Como esperado, a primeira sessão de TF promoveu dano muscular significativo, como evidenciado tanto por marcador direto (desarranjo de linhas-Z; Figura 12) quanto por marcadores indiretos (CVIM, DMIT, CK e Mb; Tabela 4). A magnitude de alterações em linhas-Z encontrada em T1 é menor do que a reportada em investigações anteriores utilizando TF composto por exercícios excêntricos (GIBALA et al., 1995; BEATON et al., 2002), o que é coerente, uma vez que o exercício excêntrico isolado normalmente induz maiores magnitudes de desarranjo nas linhas-Z, por submeter a estrutura passiva da musculatura à cargas mais elevadas, e maiores cargas (intensidades) estão relacionadas com maior magnitude de dano muscular (MOORE et al., 2005). De acordo, a magnitude das mudanças nos marcadores indiretos de dano muscular no presente trabalho é representativa de dano leve à moderado (PAULSEN et al., 2012), não sendo indicativo de perda de proteínas miofibrilares (STUPKA et al., 2001;

YU; THORNELL, 2002; CRAMERI et al., 2004; CRAMERI et al., 2007; CORONA et al., 2010; MURPHY et al., 2013). Essa sugestão é sustentada pelo fato de que todas as alterações nos marcadores de danos indiretos retornaram aos valores pré-exercício em T2 e a magnitude da alteração em CVIM, DMIT, CK e Mb após a sessão em T2 também foi substancialmente atenuada. Esta atenuação do dano muscular induzida por repetição do estímulo do TF (i.e., efeito do exercício repetido) não foi completa em pré-T2 para o marcador direto de dano muscular – desarranjo de linhas-Z (Figura 12), pois ainda pode-se observar desarranjos em linhas-Z em pré-T2. Em adição, a quantidade de desarranjo em linhas-Z ainda aumentou após o exercício, mas a alteração (48h – 0h) foi menor do que em T1, mostrando uma atenuação na alteração de linhas-Z após a sessão de TF em já em T2.

O potente efeito do exercício repetido, observado logo após as primeiras sessões de TF (NOSAKA et al., 2007; CHEN et al., 2009; MUTHALIB et al., 2011; CHEN et al., 2012b; STARBUCK; ESTON, 2012; CHEN et al., 2013a), parece ser bem mais preponderante (de acordo com resultados do presente trabalho) em marcadores indiretos (e.g., CVIM, DMIT, CK e Mb) do que em marcador direto, como alterações em linhas-Z, pelo menos quando se utiliza o TF tradicional (isoinercial). De certa forma, este fato dissocia as respostas dos marcadores indiretos de dano muscular das mudanças nos diretos, indicando que os processos fisiológicos que regulam mudanças nos marcadores indiretos não sejam, pelo menos até certo ponto, relacionados à estrutura proteica contrátil muscular. Por exemplo, a perda de força muscular nos primeiros dias após o exercício parece estar muito mais relacionada com dano à matriz extracelular e estruturas do acoplamento de excitação-contração (WARREN et al., 1993; WARREN et al., 2001; CORONA et al., 2010; RAASTAD et al., 2010; HYLDAHL et al., 2015); o aumento de dor muscular foi atribuído à distúrbios/dano e à resposta inflamatória no tecido conjuntivo (componentes da matriz extracelular), ativando neurônios receptores de dor (ABRAHAM, 1977; NOSAKA; NEWTON; SACCO, 2002; HYLDAHL; HUBAL, 2014); e o extravasamento de CK e Mb parece ser relacionado ao aumento da permeabilidade de membrana provavelmente graças a ativação de canais de sódio e cálcio por alongamento (DUNCAN; JACKSON, 1987; FRIDEN; LIEBER, 2001; WHITEHEAD et al., 2006) ou, até mesmo, a um mecanismo de “sobrevivência” (BEHRINGER et al., 2014). De fato, uma

sequência de elegantes estudos conduzidos por Yu et al. (2002; 2002; 2003; 2004; 2013), demonstraram que o músculo não é “danificado” numa sessão de exercício (ainda que a mesma induza DMIT), mas sim “remodelado”, adicionando sarcômeros em série para que o estresse de um novo estímulo de exercício alongue menos cada sarcômero, distribuindo a carga mecânica mais adequada e igualmente entre as estruturas do citoesqueleto sarcomeral. A discussão pode ser apenas semântica, mas de fato, sessões de TF tradicionais (i.e., com contrações isoinerciais concêntricas-excêntricas), ainda que máximas, não parecem produzir altas magnitudes de dano muscular, produzindo quedas na geração de força leves à moderadas e recuperação total da função muscular dentro de uma semana (Tabela 4), porém induzem alterações em linhas-Z significantes que se mantêm elevadas ainda nas primeiras semanas de TF (Figura 12). Após 19 sessões de TF (em T3) conseguimos detectar uma potente atenuação no desarranjo de linhas-Z (Figura 12), mas reconhecemos que essa atenuação substancial poderia ter ocorrido anteriormente (em algum ponto entre T2 e T3). Previamente, um estudo com desenho transversal demonstrou que a quantidade de dano muscular mostrada pela alteração de linhas-Z após sessão de TF é maior em indivíduos não-treinados do que treinados (GIBALA et al., 2000). Nós confirmamos e expandimos esses achados fornecendo evidências longitudinais (intra-indivíduo) da diferença no nível de desarranjo das linhas-Z sarcomerais conforme o nível de treinamento vai se desenvolvendo.

Observamos uma correlação moderada, mas não significativa, entre a magnitude de desarranjo em linhas-Z e o aumento da SPMio pós-sessão de TF em T1 ($r \sim 0,6$, $P = 0,09$, Tabela 5). Isto, somado ao fato de que a SPMio em T1 não se correlaciona com hipertrofia muscular, nos leva a sugerir que o aumento na SPMio observado em T1 está relacionado mais ao reparo de proteínas danificadas resultantes da sessão de TF no estado não-treinado. Portanto, propomos que a resposta inicial de SPMio é direcionada, se não totalmente, mas, em grande parte, para o aumento de sarcômeros em série (YU; CARLSSON; THORNELL, 2004), em vez de em paralelo (i.e., hipertrofia muscular). De fato, a Figura 13 corrobora com esta sugestão, uma vez que quando a alteração da SPMio integrada nas primeiras 48h pós-sessão de TF é normalizada pelas áreas com desarranjos de linhas-Z (que pode ser considerada como uma estimativa da contribuição da quantidade de SPMio necessária para regenerar a área danificada), o aumento em

maior magnitude da SPMio encontrado em T1 (Figura 11) não é mais detectável, e as fases de TF (T1, T2 e T3) demonstram valores de SPMio semelhantes (Figura 13). Portanto, quando o estresse da sessão de TF é novo e causa dano muscular (em T1), ele promove um aumento potente na SPMio direcionado ao reparo muscular em vez de promover aumentos na ASTf. No entanto, a resposta de SPMio se adapta rapidamente e, já na terceira semana de TF (em T2) ou mesmo mais cedo, os marcadores indiretos de dano muscular mostram uma atenuação potente pós-sessão de TF e, ainda que algum desarranjo em linhas-Z ainda seja detectável, ele é atenuado em magnitude pós-sessão de TF (Figuras 12 Inseridas), direcionando a SPMio para o aumento na ASTf/AST muscular. Em geral, os nossos dados indicam que o dano muscular não potencializa, muito menos faz parte do processo que promove o aumento na ASTf/AST muscular (i.e., hipertrofia muscular) com a prática do TF. Em conclusão, a primeira sessão de TF promove um aumento robusto na taxa de SPMio não direcionado para a hipertrofia, mas sim “orientado ao reparo”; no entanto, as mudanças na SPMio pós sessão de exercícios são rapidamente adaptadas e “refinadas” com a repetição do estímulo de exercícios de força, passando a promover principalmente a hipertrofia muscular.

A fim de aprofundar no estudo central da presente Tese, investigamos também mecanismos potencialmente envolvidos com o dano muscular, reparo/remodelamento e regulação da taxa de SPMio no decorrer do TF, como a participação de células satélites e a expressão gênica global, que ainda não foram adequadamente colocados em contexto na literatura.

A literatura indica que as células satélites possuem papel em ambos os processos de dano muscular (CHARGE; RUDNICKI, 2004; FOLLAND; WILLIAMS, 2007; O'REILLY et al., 2008; MCKAY et al., 2010; LEPPER; PARTRIDGE; FAN, 2011; SAMBASIVAN et al., 2011) e de hipertrofia muscular (FOLLAND; WILLIAMS, 2007; PETRELLA et al., 2008). No presente estudo, o número de células satélites aumentou de forma aguda (ou seja, 48h após a sessão de TF) em T1 (~74% nas fibras musculares tipo I, e ~58% nas fibras musculares tipo II, Figura 15), provavelmente em resposta ao dano muscular induzido pela sessão de exercício, não para auxiliar a hipertrofia muscular, uma vez que a SPMio está orientada para o reparo do tecido neste ponto. De acordo, estudos mostraram consistentemente uma expansão aguda na quantidade de células satélites

24h a 72h após sessões de exercício que causaram dano muscular em humanos (CRAMERI et al., 2004; O'REILLY et al., 2008; MCKAY et al., 2010; MCKAY et al., 2012; BELLAMY et al., 2014; FARUP et al., 2014). Analisando especificamente componentes da matriz extracelular, Hyldahl et al. (2015), demonstraram que a quantidade de células satélites (que residem e se movem dentro da matriz extracelular) e a imunorreatividade da tenascina-C (proteína envolvida na de-adesão da matriz extracelular) aumentaram significativamente após a primeira sessão de TF, demonstrando de-adesão da matriz extracelular para subsequente remodelamento. Porém, a repetição da sessão de TF após o remodelamento da matriz extracelular, não proporcionou aumentos subsequentes na imunorreatividade da tenascina-C, na expressão de colágenos e nem na quantidade de células satélites (HYLDAHL et al., 2015). Resultados similares foram encontrados no presente estudo, pois quando analisamos a quantidade de células satélites na terceira semana de TF (T2), onde o dano muscular está sendo progressivamente atenuado e a SPMio passa a ser direcionada para suportar a hipertrofia muscular, a quantidade de células satélites não aumentou de forma aguda (pré-T2 para 48h-T2), nem nas fibras musculares tipo I ou nas fibras tipo II, fato também encontrado em T3, quando o dano muscular é quase nulo e o aumento da SPMio pós-sessão é altamente correlacionado com hipertrofia de fibras musculares/músculo. Portanto, expansões da quantidade de células satélites pós-sessões de TF parecem ocorrer para fins de reparo/remodelamento do tecido (envolvendo a matriz extracelular), em resposta ao dano muscular (quando presente).

Cronicamente (i.e., comparando T1, T2 e T3), nossos resultados mostram aumentos no conteúdo de células satélites (~70% nas fibras musculares tipo I, e ~114% nas fibras musculares tipo II) na terceira semana do TF (pré-T2), e aumentos de ~34% (não-significante) e ~108% para fibras tipo I e II, respectivamente, após 10 semanas de TF (pré-T3) (Figura 15). Os valores ligeiramente mais altos de expansão da quantidade de células satélites em T2 versus T3 corroboram com as sugestões de que, precocemente no TF, as células satélites estão relacionadas com o reparo/remodelamento em resposta ao dano muscular ocasionado pelas primeiras sessões de TF. Em fases posteriores do TF, estudos anteriores relataram aumentos semelhantes ao do presente estudo na quantidade de células satélites associada às

fibras musculares tipo I (~40-65%) e tipo II (~50-165%) após 10-12 semanas de TF (MACKEY et al., 2011a; SNIJDERS et al., 2016). Nossos resultados e os da literatura mostram que tanto a manutenção elevada da quantidade de células satélites cronicamente, como o aumento da ASTf são mais evidentes nas fibras musculares de tipo II. Como não observamos aumento no número de mionúcleos nas 10 semanas de TF, um possível papel das células satélites na hipertrofia das fibras musculares tipo II, envolveria a doação de mionúcleos para as fibras em fases posteriores do TF (i.e., se tivéssemos progredido com o TF e maiores aumentos na ASTf fossem adquiridos além de 10 semanas de TF). O fato dos nossos resultados demonstrarem: 1) expansão aguda da quantidade de células satélites após a primeira sessão de TF; 2) ausência de mudanças agudas na quantidade de células satélites pós sessões de TF em T2 e T3; 3) manutenção da quantidade elevada de células satélites cronicamente; 4) o número de mionúcleos não se modificou ao longo do TF; e 5) o TF promoveu aumento na ASTf de fibras musculares; indica que nas primeiras 10 semanas de TF, sugerimos que as células satélites mantêm sua quantidade elevada cronicamente como um mecanismo antecipatório para auxiliar no remodelamento muscular, possivelmente envolvendo a matriz extracelular (ou, posteriormente no TF, em aumentos adicionais na ASTf).

O outro mecanismo estudado aqui, a fim de compreender ainda mais os processos envolvidos com a adaptação muscular no decorrer das 10 semanas de TF, foi a análise do transcriptoma global em diferentes estados de treinamento (T1 e T3) nos estados basal e em resposta a uma sessão de TF. Uma análise inicial da quantidade de genes diferencialmente ($\log_{2}FC > |1|$, $P(\text{ajustado}) < 0,05$) modulados nos estados basais indica que uma baixa quantidade de genes (somente um) favorece o estado não-treinado (pré-T1), e que a prática do TF modifica ligeiramente o panorama gênico basal, com sete genes sendo diferencialmente expressos, favorecendo o estado treinado (pré-T3) (Tabelas 6A e 6B) de um total de 17,341 genes analisados, ou seja, 17,333 genes não são significativamente expressos em qualquer estado basal, seja não-treinado ou treinado (após 10 semanas de treinamento) (Figura 18). Portanto, apesar da realização do TF modificar o panorama de expressão gênica, este efeito é mínimo no estado basal. Por outro lado, a resposta de expressão gênica em resposta à uma sessão de TF máximo é modulada em maior magnitude, com 60 genes favorecendo a mudança aguda no estado

não-treinado (Tabela 11A) e 27 genes favorecendo o estado treinado (Tabela 11B) (Figura 19). Uma vez que a novidade do estímulo do exercício causa maior distúrbio na homeostase celular, produzindo maiores efeitos na magnitude de aumento da taxa de SPMio, do dano muscular e quantidade de células satélite, espera-se, portanto, que em nível gênico, regulador destes processos, a novidade do exercício também promova maiores mudanças. O gráfico de MDS (Figura 17) suporta estas conclusões, pois demonstra que nos estados basais (T1 pré e T3 pré) os 500 genes mais expressos são mais compactos entre sujeitos (menor variabilidade inter-sujeitos), ou seja, menor é a dispersão. Com o estímulo agudo do TF, (24h-T1 e 24h-T3) há uma mudança na dispersão dos sujeitos, e especificamente a primeira sessão de TF parece produzir maiores efeitos na modulação de genes, deslocando os dados para baixo e direita, o que está de acordo com o efeito da novidade do estresse da sessão de TF na musculatura. Adicionalmente, a dispersão entre sujeitos se acentua com o estímulo agudo do TF, indicando que a disparidade entre responsividade inter-sujeitos se dá de maneira mais significativa à resposta aos estímulos agudos do TF, e não nos estados basais.

Uma análise mais profunda do panorama gênico e vias que são enriquecidas em diferentes estados de treinamento no estado basal e em resposta a uma sessão de TF será exposta a seguir.

Um único gene foi diferencialmente modulado favorecendo o estado basal em T1 em comparação ao basal em T3, e este gene foi o *myosin heavy chain 1* (MYH1, Tabela 6B), que transcreve a cadeia pesada de miosina IIb (MHCIIb). Resultados similares foram encontrados em estudo prévio (GORDON et al., 2012). Esse resultado de expressão gênica de MYH1 favorecendo o estado basal não-treinado é esperado, pois com a realização do TF, é conhecido que a isoforma IIb da cadeia pesada de miosina de fibras tipo II são transformadas para a isoforma IIa, favorecendo o metabolismo oxidativo em comparação à isoforma IIb (ADAMS et al., 1993). De acordo, a análise das vias metabólicas (Tabelas 7-10) que foram enriquecidas por meio de genes mais expressos no estado basal treinado (T3) em comparação com o estado não-treinado (T1), demonstram um favorecimento do metabolismo oxidativo (e.g., vias KEGG: *oxidative phosphorylation*; *hematopoietic cell lineage*; *beta-alanine metabolismo*; *carbon metabolism*; *nitrogen metabolism*; *pyruvate metabolism*; *TCA cycle*; e termos GO: e.g.,

electron carrier activity, vascular transport, blood vessel development, cellular respiration, angiogenesis, electron transport chain, ATP synthesis coupled proton transport, oxidative phosphorylation, respiratory chain, e vários termos envolvendo mitocôndria), contribuindo para uma maior eficiência energética no estado basal após 10 semanas de TF. Seguindo nesta mesma linha, outras vias enriquecidas mais no estado treinado corroboram com um estado mais 'preparado' e 'eficiente' da musculatura, como vias de resposta imunológica ao dano muscular e à agentes patogênicos (e.g., vias KEGG: *cascatas de complemento e coagulação*; e termos GO: *leukocyte migration involved in inflammatory response, defense response to Gram-positive bacterium, positive regulation of mast cell activation involved in immune response, aminoglycoside antibiotic metabolic process*) e melhora na resposta anti-oxidante (e.g., termos GO: *response to superoxide, response to oxygen radical, cellular oxidant detoxification, antioxidant activity, negative regulation of nitric oxide biosynthetic and metabolic processes*), corroborando com o menor dano muscular induzido pelo exercício (efeito do exercício repetido) observado no estado treinado versus não-treinado. Outro componente importante do efeito de exercício repetido, reduzindo a magnitude de dano muscular, é a melhora da estrutura muscular, se fortificando e se organizando para receber o estímulo do exercício. Neste sentido, observamos por meio de genes/vias favorecendo o estado treinado, melhora em componentes estruturais da musculatura esquelética, principalmente envolvendo a matriz extracelular e organização do citoesqueleto (e.g., genes (Tabela 6A): MXRA5, COL3A1, THBS4, COL4A1, CTHRC1, LOC100134134; vias KEGG: *ECM-receptor interaction e focal adhesion*; e termos GO: e.g., *collagen fibril organization, extracellular matrix organization, extracellular structure organization, extracellular matrix structural constituent, integrin binding, extracellular matrix, extracellular space, laminin complexes*) indicando que o tecido está mais forte e preparado para o estímulo do exercício. Além disso, estes genes/vias envolvidos com componentes/processos estruturais da musculatura indicam melhora na transmissão do sinal mecânico externo (e.g., proveniente do estímulo da sessão de TF) para processos metabólicos intracelulares envolvendo a síntese de proteínas musculares, por exemplo. Neste sentido, observamos regulação positiva no estado treinado versus não-treinado da via da KEGG *PI3K-Akt signalling pathway*, que envolve a mTORC1-p70S6K *down-stream* (como descrito

anteriormente nesta Tese, uma das principais vias de síntese de proteínas do músculo esquelético), permite que a ativação da tradução de proteínas no estado treinado possa ocorrer mais rapidamente pós-sessão de TF. De fato, estudo anterior com proteínas codificadas por estas vias, corrobora com os achados gênicos do presente trabalho, indicando que a proteína quinase de adesão focal (FAK) – sensora de tensão mecânica – está aumentada no estado basal treinado (após 10 semanas de TF), bem como proteínas da via da PI3K-Akt: a própria Akt e fator de iniciação de tradução eucariótico 4 (eIF4E) (WILKINSON et al., 2008). Em adição, Leger et al. (2006) observaram aumento na fosforilação de AKT e, também da mTOR no estado basal após 8 semanas de TF. Por fim, é interessante também notar que no estado treinado houve enriquecimento da via KEGG: *protein digestion and absorption*, indicando maior eficiência na oferta de aminoácidos provenientes da alimentação para utilização em processos de tradução de proteínas na musculatura esquelética no estado treinado, bem como enriquecimento do termo GO: *growth factor binding*, relacionado com processos hipertróficos musculares. Estes mecanismos indicam que o maquinário envolvido com a taxa de SPMio está mais eficiente, com maior oferta de aminoácidos provenientes da alimentação, e mais preparado para acumular proteínas no tecido muscular.

Em resumo, é importante notar que a maioria dos genes super-expressos e das vias KEGG e termos GO enriquecidos no estado basal treinado versus basal não-treinado estão relacionadas com melhoras na eficiência metabólica favorecendo o metabolismo oxidativo e componentes estruturais envolvendo, principalmente, a matriz extracelular e citoesqueleto. Portanto, a prática do TF muda a expressão gênica basal para um estado de maior eficiência metabólica, de transmissão de sinal mecânico do meio extra para o intracelular, e de preparo para aumento da resposta de síntese de proteínas mais rapidamente pós-sessão de TF. Estes resultados estão de acordo com uma resposta mais rápida da taxa de SPMio no estado treinado versus não-treinado como apontado anteriormente (TANG et al., 2008; DAMAS et al., 2015).

As análises das respostas à uma sessão de TF, em diferentes estados de treinamento, colaboram e avançam na discussão apresentada anteriormente sobre os estados basais (Tabelas 11-15, Figura 19). A primeira sessão de TF promoveu maior distúrbio na homeostase celular em nível da expressão gênica (Figura 19), aumentando

a expressão de um maior número de genes vinculados à diferentes mecanismos modulados em resposta à sessão de TF no estado não-treinado de exercício (em T1) em comparação à sessão de exercício num estado treinado (em T3). Energeticamente, é interessante notar que o metabolismo modulado em nível gênico no estado não-treinado envolve principalmente a glicólise anaeróbia (e.g., genes: HK2, M6PRBP1; vias KEGG: *Butirosin and neomycin biosynthesis*; termos GO: *glucokinase activity, hexokinase activity, fructokinase activity, mannokinase activity*), enquanto no estado treinado a sessão de TF favorece a expressão de genes envolvidos com o metabolismo oxidativo (ver a seguir a discussão do estado treinado), demonstrando melhora na eficiência metabólica com a prática crônica do TF. Até mesmo autofagia/degradação de compostos mitocondriais são encontrados pós-sessão no estado não-treinado versus treinado (termos GO: *positive regulation of macromitophagy, positive regulation of mitophagy in response to mitochondrial depolarization*), demonstrando que uma vez que o metabolismo glicolítico é o que está sendo mais requisitado, compostos mitocondriais envolvidos no metabolismo oxidativo estão sendo degradados.

Além do impacto energético, o alto estresse imposto pela primeira sessão de TF promoveu maior expressão de genes de proteínas de choque térmico (HSPs) (e.g., genes: HSPA1A, HSPA1B, HSPBL2, DNAJA4, termos GO: *regulation of cellular response to heat, cellular response to heat*). É conhecido que uma sessão de exercício que induz dano muscular promove aumento na expressão tanto do mRNA (MAHONEY et al., 2008; MACKEY et al., 2011b) quanto da proteína de HSPs (THOMPSON et al., 2001), portanto, o aumento da expressão gênica de HSPs após a primeira sessão de TF em comparação à sessão no estado treinado está de acordo com o maior dano muscular observado em T1. Foi sugerido que as HSPs têm papel importante na degradação de proteínas danificadas e na manutenção da integridade celular após dano muscular induzido por estresse mecânico do exercício (THALACKER-MERCER et al., 2010). Em adição, é bem descrito que o dano muscular induzido por exercício leva à uma resposta inflamatória envolvendo, principalmente, leucócitos e citocinas (PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005). De acordo, observamos a modulação de genes envolvidos com a resposta inflamatória após a primeira sessão (e.g., genes: NAMPT, PANX1, IRAK2; termos GO: *innate immune*

response activating cell surface receptor signaling pathway, stimulatory C-type lectin receptor signaling pathway).

A maior magnitude de dano muscular pós-sessão de TF em T1 pôde ser observada por meio de áreas de desarranjo de linhas-Z (Figura 12), indicativas de remodelamento das proteínas. De fato, observamos aumento da expressão de genes pós-sessão de TF no estado não-treinado relacionados com reorganização do citoesqueleto e membrana extracelular (e.g., genes: WIPF3, RRAD, TUBA1C, FHL2, ANXA2, TGM2; termos GO: *chaperonin-containing T-complex*). O remodelamento de proteínas envolve processos de degradação e síntese proteica, portanto, maiores áreas de remodelamento observadas em T1 devem estar relacionadas com maiores taxas de degradação e síntese de proteínas. De fato, Phillips et al. (PHILLIPS et al., 1999) demonstraram que a taxa de degradação proteica é mais potentemente estimulada após uma sessão de TF no estado não-treinado em comparação ao treinado; e dados apresentados na presente Tese, bem como em artigos anteriores (PHILLIPS et al., 1999; TANG et al., 2008; DAMAS et al., 2015) demonstram que realmente a síntese de proteínas é mais pronunciada no estado não-treinado. Quanto à degradação de proteínas, observamos que a regulação dos processos proteolíticos é controlada por diversas super-expressões de genes após a sessão de TF no estado não-treinado versus treinado (e.g., genes: SPCS3, FAM13A, CAST; vias KEGG: *Proteasome*; termos GO: *positive regulation of protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process, positive regulation of ubiquitin protein ligase activity, threonine-type endopeptidase activity, threonine-type peptidase activity, Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1, peptidase complex*, vários termos envolvendo complexos do proteassomo). Uma análise mais aprofundada dos genes/vias enriquecidas na presente investigação indica que o processo de remodelamento é regulado por genes envolvendo principalmente o sistema ubiquitina-proteassoma, mas também o sistema de degradação das calpaínas. De fato, 80-90% das proteínas celulares são, em última instância, poli-ubiquitinadas e degradadas pelo proteassoma (GOLL et al., 2008), porém, as calpaínas (proteases ativas por Ca^{2+} , que têm o seu mRNA (VISSING et al., 2008) e atividade (RAASTAD et al., 2010) aumentados após sessão indutora de dano muscular) parecem ser necessárias para clivar proteínas miofibrilares do

citoesqueleto e associadas à membrana, para ser degradadas (BELCASTRO; SHEWCHUK; RAJ, 1998). Intrigantemente, encontramos também modulação de alguns genes e termos GO relacionados com a regulação negativa da degradação de proteínas (e.g., genes: SERPINA3; termos GO: *negative regulation of ubiquitin protein ligase activity, negative regulation of protein ubiquitination*), indicando um controle complexo deste processo. Quanto aos genes que controlam o aumento da SPMio, observamos aumento da expressão de genes que controlam o processamento de proteínas no retículo endoplasmático (e.g., genes: SEL1L2, CLCC1, CALU; vias KEGG: *Protein processing in endoplasmic reticulum*), mas, principalmente, a regulação positiva de genes relacionados com a síntese e processamento de RNA (e.g., genes: UCK2, GPSM2, MVP, DDN, DPH3; vias KEGG: *Spliceosome, Aminoacyl-tRNA biosynthesis*; termos GO: *RNA localization to Cajal body, RNA localization, telomerase RNA localization, ncRNA metabolic process, transcription from RNA polymerase I promoter, scaRNA localization to Cajal body, snoRNA metabolic process, telomerase RNA localization, RNA export from nucleus, snRNA metabolic process, box H/ACA - snoRNP, RNP, scaRNP, telomerase RNP – complexes, mRNA export from nucleus, PTRH1*), sendo que vários genes diziam respeito especificamente à biossíntese ribossomal (e.g., genes: RPL29, ISG20L1, RPS7, HEATR1, RRP7A; vias KEGG: *Ribosome biogenesis in eukaryotes*; termos GO: *ribosome biogenesis, rRNA metabolic process, rRNA processing, ribosomal large subunit biogenesis, rRNA modification, ribonucleoprotein complex export from nucleus, ribosomal small subunit biogenesis, maturation of LSU-rRNA, snoRNA guided rRNA pseudouridine synthesis, small nucleolar ribonucleoprotein complex, preribosome, 90S preribosome, preribosome, large subunit precursor*). Estes dados indicam que um dos mecanismos relacionados com a realização da sessão de TF no estado não-treinado, é o rápido aumento da capacidade de tradução de proteínas, por meio do aumento da expressão gênica da quantidade total e processamento de RNA, bem como o aumento da biossíntese de ribossomos. De acordo, foi demonstrado aumento da expressão do 45S pre-rRNA e aumento de componentes proteicos da subunidade 40S do ribossomo em jovens 24h após uma única sessão de TF (STEC; MAYHEW; BAMMAN, 2015). Como este aumento da expressão gênica de biogênese ribossomal pós-sessão de TF favoreceu somente a condição destreinada (T1 versus T3), especula-se que o conteúdo ribossomal

permaneceu elevado durante as 10 semanas de TF, uma vez que foi demonstrado anteriormente que 8 semanas de TF resultaram em aumento basal de subunidades ribossomais (18S, 5.8S, e 28S rRNAs, e pre-rRNA 45S) (FIGUEIREDO et al., 2015). Por fim, a sessão de TF no estado não-treinado também modulou genes relacionados com o mecanismo do ciclo celular, possivelmente envolvendo células satélites (e.g., genes: FOS, GPC4, HDAC9; termos GO: *positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in regulation of mitotic cell cycle transition, regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle, Ran GTPase binding*). Especulando, estes genes poderiam regular o aumento do conteúdo de células satélites pós-sessão em T1 (Figura 15) para auxiliar no remodelamento muscular.

Resumidamente, a sessão de TF no estado não-treinado (T1) em comparação com o estado treinado (T3) aumentou a expressão de genes relacionados com 1) alta demanda energética favorecendo o metabolismo de glicólise; 2) resposta ao estresse no estado não-treinado; 3) dano muscular elevado seguido de resposta inflamatória; 4) remodelamento do tecido por meio de alto *turnover* proteico (degradação e síntese); 5) aumento da capacidade de tradução de proteínas por meio de aumento da expressão de genes relacionados com quantidade e processamento de RNA e, especificamente, biogênese ribossomal; e 6) regulação do ciclo celular de células satélites para reparo/remodelamento. Todos estes processos estão de acordo com o maior distúrbio da homeostase celular induzido pela sessão de exercícios de força em T1 (não-treinado).

Por outro lado, a sessão de TF no estado treinado, em comparação com a sessão no estado não-treinado, demonstrou aumento da expressão gênica de genes (similarmente ao estado basal) relacionados com a melhora da eficiência energética por meio de maior estimulação do metabolismo oxidativo (e.g., genes: COQ10A, ANGPT1; vias KEGG: *Oxidative phosphorylation, Citrate cycle (TCA cycle), 2-Oxocarboxylic acid metabolismo*; termos GO: *electron transport chain, respiratory electron transport chain, mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone, oxidoreductase complex, respiratory chain*, e também vários compostos envolvendo a mitocôndria). Também em consonância com o estado basal, a grande maioria de genes regulados positivamente após sessão de TF favorecendo o estado treinado versus não-treinado têm relação com reforços estruturais envolvendo a matriz extracelular e citoesqueleto e transmissão de

sinais na comunicação extra/intra-celular (e.g., genes: *IGFN1*, *NOV*, *MFAP5*, *DCN*, *ISLR*, *GSN*, *GPNMB*, *MFAP4*, *ADAM19*, *FBLN2*, *TIMP2*; termos GO: *extracellular matrix structural constituent*, *collagen binding*, *proteinaceous extracellular matrix*, *complex of collagen trimers*, *elastic fiber*, *fibrillar collagen trimer*, *banded collagen fibril*, *extracellular matrix component*, *collagen type VI trimer*, *collagen beaded filament*), podendo explicar parcialmente o sucesso da adaptação (efeito de carga repetida) nesta fase do TF (T3). Em adição, observa-se a super-expressão de genes no estado treinado relacionados com maior eficiência da contração muscular (e.g., termos GO: *tropomyosin binding*, *calcium-dependent ATPase activity*), demonstrando que o remodelamento inicial em resposta ao dano muscular promovido pelas primeiras sessões foi bem-sucedido. Outros fatores envolvidos numa resposta atenuada de dano muscular envolvem a super expressão de genes envolvidos, por exemplo, com uma resposta antioxidante (e.g., genes: *ATPGD1*) e melhora na resposta imunológica ao estresse (e.g., via KEGG: *intestinal immune network for IgA production*, *macrophage migration inhibitory factor signaling pathway*, *negative regulation of leukocyte adhesion to vascular endothelial cell*, *MHC class II protein complex*, *MHC protein complex*).

A sessão no estado treinado também aumentou a expressão de genes envolvidos:

- 1) no crescimento e desenvolvimento muscular envolvendo também controle do ciclo celular de células satélites (genes: *IGFBP6*, *ADAM19*, *PDGFRL*, *ID3*, *CDKN2B*, termos GO: *regulation of Rap protein signal transduction*, *BMP binding*, *BMP receptor complex*);
- 2) na sinalização de vias WNT (*wingless-type MMTV integration site family*) (gene: *SFRP4*) que são sugeridas de estarem envolvidas com sobrecarga mecânica, hipertrofia muscular e proliferação de células satélites (STEELMAN et al., 2006; LEAL et al., 2011);
- 3) na biossíntese *de novo* de aminoácidos (via KEGG: *Biosynthesis of amino acids*) para suprir a SPMio, e 4) na SPMio em si (e.g., termos GO: *contractile fiber*, *myofilament*, *actin cap*, *myofibril*, *striated muscle thin filament*, *contractile fiber part*, *sarcomere*), direcionada para suportar a hipertrofia muscular nesta fase do TF (i.e., em T3).

Em resumo, a sessão de TF no estado treinado (T3) em comparação com o estado não-treinado (T1) aumentou a expressão de genes relacionados com 1) uma melhora na eficiência metabólica, super-expressando genes relacionados como metabolismo oxidativo e componentes estruturais mitocondriais; 2) componentes estruturais celulares

envolvendo a matriz extracelular e o citoesqueleto; 3) melhora na eficiência de contração muscular; 4) melhora na resposta imunológica ao estresse; e 5) regulação do ciclo celular e do crescimento/desenvolvimento muscular para hipertrofia miofibrilar. Portanto, o transcriptoma em resposta a uma sessão de TF (i.e., 24h – pré) no estado treinado demonstra como os processos de eficiência metabólica (oxidativa), remodelamento da matriz extracelular e citoesqueleto, dano muscular atenuado, regulação do ciclo celular de células satélites, SPMio e hipertrofia muscular discutidos anteriormente, são regulados em nível gênico. Gordon et al. (2012) avaliaram a resposta do transcriptoma mais perto temporalmente do fim da sessão de exercícios de força (i.e., 4h) em diferentes estados de treinamento, e encontraram que a prática do TF reduz a resposta de transcrição de ativação imune pós-sessão, aumenta genes de vias de fosforilação oxidativa, estrutura mitocondrial, metabolismo de glicose, e de genes estruturais da matriz extracelular e desenvolvimento do citoesqueleto. Analisando um ponto mais tarde pós-sessão de exercícios, i.e., 24h, encontramos regulação na expressão gênica enriquecendo algumas vias similares ao reportado por Gordon et al. (2012), com o TF modulando a resposta gênica à uma sessão de TF no estado treinado favorecendo o metabolismo oxidativo, mitocôndria, genes estruturais de matriz extracelular/citoesqueleto. No entanto, nossa análise em um ponto mais distante temporalmente do fim do exercício no estado treinado versus não-treinado tornou possível encontrarmos genes/vias super-expressos indicando regulação de uma resposta atenuada ao dano muscular, aumento de SPMio para hipertrofia miofibrilar e regulação do ciclo celular favorecendo o estado treinado, o que diretamente se relaciona com outras medidas/discussões da presente Tese.

Tendo em vista a quantidade de resultados/discussões da presente Tese, optamos por incluir ao fim desta seção, um resumo pontual dos principais pontos discutidos:

- Este é, até onde sabemos, o primeiro trabalho que demonstrou que os aumentos precoces (i.e., na terceira semana de TF, após somente quatro sessões de TF) na AST muscular induzidos pelo TF em indivíduos jovens não treinados são concomitantes com edema/dano muscular; portanto, afirmamos que estes aumentos iniciais na AST muscular são em grande parte devido ao inchaço muscular induzido por edema, e não devem ser considerados como

hipertrofia muscular. Nossos resultados destacam a necessidade de cautela ao interpretar os aumentos iniciais induzidos por TF na AST muscular como hipertrofia muscular e não como inchaço edematoso sem fazer alguma estimativa do grau de edema/dano muscular.

- Como principal discussão e avanço no conhecimento da Área, estudamos a relação entre dano muscular e hipertrofia muscular. Demonstramos que a primeira sessão de TF em um programa de treinamento promove o maior aumento na taxa de SPMio, significantes desarranjos em linhas-Z sarcomerais e mudanças nos marcadores indiretos de dano muscular, mas nenhuma dessas variáveis correlacionou com a hipertrofia muscular promovida por 10 semanas de TF. Porém, precocemente num período de TF (terceira semana) há uma atenuação no aumento da SPMio após sessão de TF, desarranjos em linhas-Z podem ainda ser observados, porém estão atenuados após o exercício, e as alterações nos marcadores indiretos de dano muscular são insignificantes após a sessão de exercício. Adicionalmente, os aumentos na SPMio pós-exercício, correlacionou-se com hipertrofia na semana três (em T2), porém nenhum dos marcadores de dano muscular apresentou tal associação. Na décima semana de TF (em T3), as alterações nos marcadores de dano (incluindo desarranjos em linhas-Z) após sessão de TF se mostraram potentemente atenuados, mas os aumentos na SPMio pós-exercício foram semelhantes aos observados na terceira semana de TF, e são altamente correlacionados com a hipertrofia muscular. Quando as alterações na SPMio foram normalizadas pela área de desarranjo de linhas-Z, as respostas de SPMio foram semelhantes em T1, T2 e T3. Portanto, a primeira sessão de TF promove os maiores aumentos nas taxas de SPMio, porém a SPMio é direcionada principalmente para o reparo/remodelamento do tecido acometido pelo dano muscular da sessão inicial de TF; com a atenuação progressiva do dano muscular, a taxa de SPMio é “desonerada” podendo ser direcionada para a hipertrofia muscular.

- Analisamos as modulações na quantidade de células satélites aguda e longitudinalmente decorrentes do TF, em diferentes condições de dano muscular, SPMio (orientada para reparo do tecido ou hipertrofia muscular) e hipertrofia muscular, uma vez que o mecanismo envolvendo as células satélites é relacionado com ambos os processos de dano e hipertrofia muscular. No estado não-treinado, observamos expansão na quantidade de células satélites em resposta ao dano muscular induzido pela sessão inicial de TF, possivelmente relacionada com o reparo do tecido muscular envolvendo a matriz extracelular. Com a progressão do TF e atenuação progressiva do dano muscular, houve aumento da ASTf, embora não em magnitude suficiente para aumentar o número de mionúcleos nas fibras musculares. No entanto, mesmo com o dano muscular atenuado, a quantidade de células satélites foi mantida elevada cronicamente, possivelmente como uma resposta antecipatória para uma nova situação que requeira reparo de tecidos ou para doar os seus mionúcleos para as fibras musculares se, posteriormente no TF, a ASTf aumentasse em maiores magnitudes, atingindo o teto do domínio mionuclear dos mionúcleos pré-existent. Portanto, ao longo das primeiras 10 semanas de TF, há aumento da quantidade de células satélites, mas nenhum aumento no número de mionúcleos ou no domínio mionuclear, uma vez que os mionúcleos pré-existent foram capazes de aumentar a transcrição para possibilitar a elevação da SPMio pós-exercício induzindo hipertrofia muscular. Nossos resultados favorecem uma função das células satélites envolvendo remodelamento em resposta ao dano muscular e um estado de “prontidão” ao invés de um papel direto na hipertrofia muscular, pelo menos durante as primeiras 10 semanas de TF em homens jovens.
- Por fim, analisamos como a modulação da expressão gênica em situações de repouso e em resposta a uma sessão de TF nos estados não-treinado e treinado, regula os processos de aumento da taxa SPMio, dano muscular e atividade de células satélites. Em adição, como realizamos uma análise exploratória da expressão gênica (*microarray*), pudemos fazer mais inferências

sobre outros *clusters* de genes, considerando o panorama da modulação global do transcriptoma basal e em resposta a sessões de TF nos estados treinado e não-treinado. Nossos resultados indicam que no repouso, a prática do TF induz modulações na expressão gênica relacionadas com melhoras na eficiência metabólica favorecendo o metabolismo oxidativo e componentes estruturais envolvendo, principalmente, a matriz extracelular e citoesqueleto. Com relação às modulações gênicas agudas em resposta à uma sessão de TF em diferentes estados de treinamento, observamos maior distúrbio da homeostase celular induzido pela sessão de exercícios de força em T1 (não-treinado) também em nível gênico, demonstrando favorecimento do metabolismo de glicose, aumento de HSPs, resposta inflamatória, remodelamento proteico (alto *turnover* proteico - degradação e síntese), aumento da capacidade de tradução de proteínas (aumento na quantidade e processamento de RNA; especificamente, biogênese ribossomal), e regulação do ciclo celular de células satélites para o reparo/remodelamento. A repetição do estímulo do TF modulou a resposta de expressão gênica aguda à uma sessão de TF, demonstrando uma melhora na eficiência metabólica (favorecendo o metabolismo oxidativo e componentes estruturais mitocondriais), fortalecimento de componentes estruturais celulares envolvendo matriz extracelular e citoesqueleto (indicando que remodelamento induzido pelas primeiras sessões de TF foi bem sucedido), melhora na eficiência de contração muscular e na resposta imunológica ao estresse, e regulação do ciclo celular e do crescimento/desenvolvimento muscular para hipertrofia miofibrilar. Estes resultados indicam como os processos de dano muscular progressivamente atenuado durante o TF, aumento de SPMio direcionada para hipertrofia miofibrilar ao fim de 10 semanas treino, e o controle do ciclo celular, são regulados em nível gênico.

7. POSSÍVEIS LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Ainda está para ser determinado o tempo mínimo (ou número de sessões de TF) para a hipertrofia muscular ocorrer. Até o presente momento, esta resposta permanece especulativa, pelo menos quando o inchaço muscular induzido por edema é considerado e medido. Futuros estudos controlados e randomizados que avaliem o tempo de evolução da hipertrofia muscular devem particionar a contribuição do inchaço muscular induzido pelo edema no volume ou área da fibra muscular a fim de elucidar esta questão.

Com relação à taxa de SPMio, não medimos a SPMio de repouso em T2 e T3. Uma variedade de estudos de TF mostraram que a síntese de proteínas mista medida durante horas em repouso não foi significativamente diferente entre diferentes estados de treinamento (PHILLIPS et al., 1999; TANG et al., 2008) ou aumentou no estado treinado (PHILLIPS et al., 2002; KIM; STARON; PHILLIPS, 2005); porém não houve diferenças na SPMio de repouso entre estados de treinamento quando considerada a fração miofibrilar (KIM; STARON; PHILLIPS, 2005; WILKINSON et al., 2008), que foi a fração medida no presente estudo. Portanto, especulamos que tenha havido um pequeno aumento ou nenhuma mudança nas taxas de SPMio de repouso em T2 e T3, quando comparadas com T1. Apesar da nossa escolha de não medir a SPMio de repouso em T2 e T3 (isso aumentaria o número de biópsias de 10 para 12 biópsias por sujeito), ainda observamos que a alteração na SPMio após a sessão de TF foi menor em T2 e T3 do que em T1, e correlações significantes entre a resposta de SPMio integrada (i.e., SPMio 0-48h pós-sessão de TF) e a hipertrofia muscular foram encontradas em T2 e T3. Especulamos que a nossa capacidade de observar estas correlações foi devido ao fato de que as mudanças na SPMio de repouso com o TF não serem a principal causa da hipertrofia muscular e que, por outro lado, apesar do aumento na SPMio pós-exercício estar atenuado com a progressão do TF, os aumentos periódicos na SPMio pós-sessão de TF representam a maior fração para o acúmulo de proteínas que leva à hipertrofia muscular.

Quanto a análise de células satélite, apesar de analisarmos a modulação na sua quantidade, não pudemos inferir sobre a atividade específica das células satélite:

ativação, proliferação e diferenciação; ou mesmo fases do ciclo celular ainda mais específicas (e.g., G₀/G₁, fase-S, G₂/M), que poderiam ser analisadas por meio de colorações de imunofluorescência específicas e/ou métodos de citometria de fluxo. Estudos posteriores que incluam essas análises de forma aguda e crônica com o TF proporcionariam uma maior compreensão da atividade de células satélites ao longo do TF. Adicionalmente, os resultados do presente estudo devem ser considerados sob as circunstâncias de 10 semanas de TF em homens jovens que tinham experiência com TF no passado, porém não-treinados por pelo menos seis meses. Deve-se notar, entretanto, que vários estudos incluem participantes “ativos recreacionalmente”, portanto, possivelmente eles estão incluindo participantes com (pelo menos) alguma experiência prévia em TF. Protocolos experimentais mais longos, utilizando populações diferentes, como pessoas que nunca treinaram em toda sua vida, indivíduos idosos e frágeis, também são desejados a fim de obtermos mais informações sobre a necessidade de adição de mionúcleos provenientes de células satélites nestas situações.

Por fim, analisamos o transcriptoma global nos estados basais e em resposta à uma sessão de exercícios nos estados não-treinado e treinado (depois de 10 semanas de TF), porém, consideramos que seria interessante também investigar a expressão gênica global em um ponto mais cedo durante o TF, por exemplo em T2, quando o dano muscular está sendo progressivamente atenuado, desonerando a taxa de SPMio, a qual passa a contribuir com a hipertrofia muscular. Estudar como os processos gênicos controlam estes processos neste ponto do TF pode contribuir com o avanço do entendimento destes processos fisiológicos.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em resumo e colocando todos nossos resultados em contexto, demonstramos que a primeira sessão de TF ocasionou o maior distúrbio na homeostase celular, ocasionando dano muscular significativo, aumento de expressão gênica relacionados ao estresse do exercício, fazendo com que a taxa de SPMio tenha de ser direcionada para o reparo/remodelamento, e expandindo a quantidade de células satélites possivelmente para remodelamento do músculo envolvendo a matriz extracelular. No entanto, demonstramos que o músculo se adapta rapidamente, e já na terceira semana, o dano é progressivamente atenuado e a quantidade de células satélites não muda agudamente, favorecendo a hipótese de um papel das células satélites no reparo dos tecidos, ao menos no início do período de TF. Interessantemente, já nesta terceira semana quando o dano passa a ser progressivamente atenuado, a taxa de SPMio passa a contribuir mais com o aumento da ASTf (hipertrofia muscular). Após um período de 10 semanas de TF, podemos observar que a musculatura está adaptada ao estresse imposto pelo exercício (fato demonstrado por meio da inalteração dos marcadores de dano muscular, da quantidade de células satélites e o panorama da expressão gênica global tanto basal quanto pós-sessão de TF) e que os aumentos sequenciais da taxa de SPMio direcionadas para a hipertrofia muscular (já a partir da semana três até a semana 10 de TF), induzidos pelos mionúcleos pré-existent nas fibras musculares, resultaram no aumento da ASTf e AST muscular (i.e., hipertrofia muscular).

Numa tentativa de uma finalização simplificada e, de certa forma, mais “palatável”, nossos resultados indicam que a hipertrofia muscular é o resultado do acúmulo de proteínas provenientes de aumentos intermitentes na síntese de proteínas pós-sessões de treinamento de força, principalmente após uma atenuação progressiva do dano muscular. Portanto, a presente Tese conclui que o dano muscular não explica, nem mesmo potencializa, a hipertrofia muscular.

9. REFERÊNCIAS

- AAGAARD, P. et al. A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. **J Physiol**, v. 534, n. Pt. 2, p. 613-23., 2001.
- ABRAHAM, W. M. Factors in delayed muscle soreness. **Med Sci Sports**, v. 9, n. 1, p. 11-20, 1977.
- ACSM. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 7, p. 1510-30, 2009a.
- _____. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 3, p. 687-708, 2009b.
- ADAMS, G. R. et al. Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 74, n. 2, p. 911-5, 1993.
- AHTIAINEN, J. P. et al. Acute hormonal and neuromuscular responses and recovery to forced vs maximum repetitions multiple resistance exercises. **Int J Sports Med**, v. 24, n. 6, p. 410-8, 2003.
- ALLEN, R. E.; BOXHORN, L. K. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and fibroblast growth factor. **J Cell Physiol**, v. 138, n. 2, p. 311-5, 1989.
- ALWAY, S. E. et al. Effects of resistance training on elbow flexors of highly competitive bodybuilders. **J Appl Physiol (1985)**, v. 72, n. 4, p. 1512-21, 1992.
- ANDERSEN, L. L. et al. Effect of contrasting physical exercise interventions on rapid force capacity of chronically painful muscles. **J Appl Physiol (1985)**, v. 107, n. 5, p. 1413-9, 2009.
- ASHBURNER, M. et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. **Nat Genet**, v. 25, n. 1, p. 25-9, 2000.
- ASMUSSEN, E. Observations on experimental muscular soreness. **Acta Rheumatol Scand**, v. 2, n. 2, p. 109-16, 1956.
- ATES, K. et al. The IGF-I splice variant MGF increases progenitor cells in ALS, dystrophic, and normal muscle. **FEBS Lett**, v. 581, n. 14, p. 2727-32, 2007.
- ATHERTON, P. J.; SMITH, K. Muscle protein synthesis in response to nutrition and exercise. **J Physiol**, v. 590, n. Pt 5, p. 1049-57, 2012.

BEATON, L. J. et al. Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 5, p. 798-805, 2002.

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. Pt 3, p. 849-59, 2002a.

_____. Variability in estimating eccentric contraction-induced muscle damage and inflammation in humans. **Can J Appl Physiol**, v. 27, n. 5, p. 516-26, 2002b.

BEHRINGER, M. et al. Exhaustive exercise--a near death experience for skeletal muscle cells? **Med Hypotheses**, v. 83, n. 6, p. 758-65, 2014.

BELCASTRO, A. N.; SHEWCHUK, L. D.; RAJ, D. A. Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. **Mol Cell Biochem**, v. 179, n. 1-2, p. 135-45, 1998.

BELL, K. E. et al. Day-to-Day Changes in Muscle Protein Synthesis in Recovery From Resistance, Aerobic, and High-Intensity Interval Exercise in Older Men. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 2015.

BELLAMY, L. M. et al. The Acute Satellite Cell Response and Skeletal Muscle Hypertrophy following Resistance Training. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e109739, 2014.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **J R Stat Soc Series B Stat Methodol**, v. 57, p. 289-300, 1995.

BERG, H. E.; TEDNER, B.; TESCH, P. A. Changes in lower limb muscle cross-sectional area and tissue fluid volume after transition from standing to supine. **Acta Physiol Scand**, v. 148, n. 4, p. 379-85, 1993.

BERTON, R. et al. Dano muscular: resposta inflamatória sistêmica após ações excêntricas máximas. **Rev bras Educ Fís Esp**, v. 26, n. 3, p. 367-374, 2012.

BIOLO, G. et al. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. **Am J Physiol**, v. 273, n. 1 Pt 1, p. E122-9, 1997.

BODINE, S. C. mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 11, p. 1950-7, 2006.

_____. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1105-6, 2007.

BODINE, S. C. et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat Cell Biol**, v. 3, n. 11, p. 1014-9, 2001.

BOOTH, F. W. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1105, 2007.

BROOK, M. S. et al. Skeletal muscle hypertrophy adaptations predominate in the early stages of resistance exercise training, matching deuterium oxide-derived measures of muscle protein synthesis and mechanistic target of rapamycin complex 1 signaling. **FASEB J**, 2015.

BRUUSGAARD, J. C. et al. No change in myonuclear number during muscle unloading and reloading. **J Appl Physiol (1985)**, v. 113, n. 2, p. 290-6, 2012.

BRUUSGAARD, J. C. et al. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 34, p. 15111-6, 2010.

BURD, N. A. et al. Muscle time under tension during resistance exercise stimulates differential muscle protein sub-fractional synthetic responses in men. **J Physiol**, v. 590, n. Pt 2, p. 351-62, 2012.

BURD, N. A. et al. Resistance exercise volume affects myofibrillar protein synthesis and anabolic signalling molecule phosphorylation in young men. **J Physiol**, v. 588, n. Pt 16, p. 3119-30, 2010a.

BURD, N. A. et al. Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. **J Appl Physiol (1985)**, v. 106, n. 5, p. 1692-701, 2009.

BURD, N. A. et al. Enhanced amino acid sensitivity of myofibrillar protein synthesis persists for up to 24 h after resistance exercise in young men. **J Nutr**, v. 141, n. 4, p. 568-73, 2011.

BURD, N. A. et al. Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. **PLoS One**, v. 5, n. 8, p. e12033, 2010b.

CAO, Y. et al. Role of metalloprotease disintegrin ADAM12 in determination of quiescent reserve cells during myogenic differentiation in vitro. **Mol Cell Biol**, v. 23, n. 19, p. 6725-38, 2003.

CERMAK, N. M. et al. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. **Am J Clin Nutr**, v. 96, n. 6, p. 1454-64, 2012.

CHAPMAN, D. W. et al. Effect of lengthening contraction velocity on muscle damage of the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 5, p. 926-33, 2008a.

CHAPMAN, D. W. et al. Effect of lengthening contraction velocity on muscle damage of the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 5, p. 926-33, 2008b.

CHAPMAN, D. W. et al. Changes in serum fast and slow skeletal troponin I concentration following maximal eccentric contractions. **J Sci Med Sport**, v. 16, n. 1, p. 82-5, 2013.

CHARGE, S. B.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiol Rev**, v. 84, n. 1, p. 209-38, 2004.

CHAZAUD, B. et al. Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 37, n. 1, p. 18-22, 2009.

CHEEK, D. B. The control of cell mass and replication. The DNA unit--a personal 20-year study. **Early Hum Dev**, v. 12, n. 3, p. 211-39, 1985.

CHEN, H. L.; NOSAKA, K.; CHEN, T. C. Muscle damage protection by low-intensity eccentric contractions remains for 2 weeks but not 3 weeks. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 2, p. 555-65, 2012.

CHEN, H. L. et al. Two maximal isometric contractions attenuate the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 37, n. 4, p. 680-9, 2012a.

CHEN, T. C. Variability in muscle damage after eccentric exercise and the repeated bout effect. **Res Q Exerc Sport**, v. 77, n. 3, p. 362-71, 2006.

CHEN, T. C. et al. Effect of two maximal isometric contractions on eccentric exercise-induced muscle damage of the elbow flexors. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 6, p. 1545-54, 2013a.

CHEN, T. C. et al. Muscle damage responses of the elbow flexors to four maximal eccentric exercise bouts performed every 4 weeks. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 2, p. 267-75, 2009.

_____. Potent protective effect conferred by four bouts of low-intensity eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 5, p. 1004-12, 2010.

CHEN, T. C. et al. Attenuation of eccentric exercise-induced muscle damage by preconditioning exercises. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 11, p. 2090-8, 2012b.

CHEN, T. C. et al. Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 2, p. 211-23, 2011.

CHEN, T. C.; NOSAKA, K. Responses of elbow flexors to two strenuous eccentric exercise bouts separated by three days. **J Strength Cond Res**, v. 20, n. 1, p. 108-16, 2006.

CHEN, T. C.; NOSAKA, K.; SACCO, P. Intensity of eccentric exercise, shift of optimum angle, and the magnitude of repeated-bout effect. **J Appl Physiol (1985)**, v. 102, n. 3, p. 992-9, 2007.

CHEN, T. C. et al. Low-intensity eccentric contractions attenuate muscle damage induced by subsequent maximal eccentric exercise of the knee extensors in the elderly. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 4, p. 1005-15, 2013b.

CHESLEY, A. et al. Changes in human muscle protein synthesis after resistance exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 73, n. 4, p. 1383-8, 1992.

CLARKSON, P. M. et al. Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 7, n. 3, p. 152-5, 1986.

CLARKSON, P. M. et al. ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage. **J Appl Physiol (1985)**, v. 99, n. 2, p. 564-9, 2005.

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, 2002.

CLARKSON, P. M. et al. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 4, p. 623-7, 2006.

CLARKSON, P. M.; NOSAKA, K.; BRAUN, B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 24, n. 5, p. 512-20, 1992.

COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports Med**, v. 37, n. 9, p. 737-63, 2007.

COFFEY, V. G. et al. Effect of high-frequency resistance exercise on adaptive responses in skeletal muscle. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 12, p. 2135-44, 2007.

COFFEY, V. G. et al. Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. **FASEB J**, v. 20, n. 1, p. 190-2, 2006.

CONCEIÇÃO, M. S. et al. Effects of eccentric exercise on systemic concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin (E2): comparison between young and postmenopausal women. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 9, p. 3205-13, 2012.

CORONA, B. T. et al. Junctophilin damage contributes to early strength deficits and EC coupling failure after eccentric contractions. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 298, n. 2, p. C365-76, 2010.

CRAMERI, R. M. et al. Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. **J Physiol**, v. 583, n. Pt 1, p. 365-80, 2007.

CRAMERI, R. M. et al. Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. **J Physiol**, v. 558, n. Pt 1, p. 333-40, 2004.

CRIBB, P. J. et al. The effect of whey isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 16, n. 5, p. 494-509, 2006.

CUTHBERTSON, D. J. et al. Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 290, n. 4, p. E731-8, 2006.

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. 633-40, 2016a.

DAMAS, F. et al. A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. **Sports Med**, v. 45, n. 6, p. 801-7, 2015.

DAMAS, F. et al. Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. **J Physiol**, v. 594, n. 18, p. 5209-22, 2016b.

DAMAS, F. et al. Early resistance training-induced increases in muscle cross-sectional area are concomitant with edema-induced muscle swelling. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 1, p. 49-56, 2016c.

DANKEL, S. J.; LOENNEKE, J. P.; LOPRINZI, P. D. Participation in muscle-strengthening activities as an alternative method for the prevention of multimorbidity. **Prev Med**, v. 81, p. 54-7, 2015.

_____. Determining the Importance of Meeting Muscle-Strengthening Activity Guidelines: Is the Behavior or the Outcome of the Behavior (Strength) a More Important Determinant of All-Cause Mortality? **Mayo Clin Proc**, v. 91, n. 2, p. 166-74, 2016a.

_____. Dose-dependent association between muscle-strengthening activities and all-cause mortality: Prospective cohort study among a national sample of adults in the USA. **Arch Cardiovasc Dis**, 2016b.

DEFREITAS, J. M. et al. An examination of the time course of training-induced skeletal muscle hypertrophy. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 11, p. 2785-90, 2011.

DEVANEY, J. M. et al. IGF-II gene region polymorphisms related to exertional muscle damage. **J Appl Physiol**, v. 102, n. 5, p. 1815-23, 2007.

DIRKS, M. L. et al. Skeletal muscle disuse atrophy is not attenuated by dietary protein supplementation in healthy older men. **J Nutr**, v. 144, n. 8, p. 1196-203, 2014a.

DIRKS, M. L. et al. Neuromuscular electrical stimulation prevents muscle disuse atrophy during leg immobilization in humans. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 210, n. 3, p. 628-41, 2014b.

DREYER, H. C. et al. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 576, n. Pt 2, p. 613-24, 2006.

DUFNER, D. A. et al. Using 2H₂O to study the influence of feeding on protein synthesis: effect of isotope equilibration in vivo vs. in cell culture. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 288, n. 6, p. E1277-83, 2005.

DUNCAN, C. J.; JACKSON, M. J. Different mechanisms mediate structural changes and intracellular enzyme efflux following damage to skeletal muscle. **J Cell Sci**, v. 87 (Pt 1), p. 183-8, 1987.

EGAN, B.; ZIERATH, J. R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. **Cell Metab**, v. 17, n. 2, p. 162-84, 2013.

EGNER, I. M. et al. A cellular memory mechanism aids overload hypertrophy in muscle long after an episodic exposure to anabolic steroids. **J Physiol**, v. 591, n. 24, p. 6221-30, 2013.

ELIASSON, J. et al. Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 291, n. 6, p. E1197-205, 2006.

FARUP, J. et al. Whey protein supplementation accelerates satellite cell proliferation during recovery from eccentric exercise. **Amino Acids**, v. 46, n. 11, p. 2503-16, 2014.

FAULKNER, J. A.; BROOKS, S. V.; OPITECK, J. A. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. **Phys Ther**, v. 73, n. 12, p. 911-21, 1993.

FAULKNER, J. A.; OPITECK, J. A.; BROOKS, S. V. Injury to skeletal muscle during altitude training: induction and prevention. **Int J Sports Med**, v. 13 Suppl 1, p. S160-2, 1992.

FIGUEIREDO, V. C. et al. Ribosome biogenesis adaptation in resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 309, n. 1, p. E72-83, 2015.

FLECKENSTEIN, J. L. et al. Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers. **AJR Am J Roentgenol**, v. 151, n. 2, p. 231-7, 1988.

FLORES, D. F. et al. Dissociated time course of recovery between genders after resistance exercise. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 11, p. 3039-44, 2011.

FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A. G. The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Med**, v. 37, n. 2, p. 145-68, 2007.

FRIDEN, J.; LIEBER, R. L. Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. **Acta Physiol Scand**, v. 171, n. 3, p. 321-6, 2001.

FRY, C. S. et al. Regulation of the muscle fiber microenvironment by activated satellite cells during hypertrophy. **FASEB J**, v. 28, n. 4, p. 1654-65, 2014.

FUJITA, S. et al. Blood flow restriction during low-intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 903-10, 2007.

GABRIEL, D. A.; KAMEN, G.; FROST, G. Neural adaptations to resistive exercise: mechanisms and recommendations for training practices. **Sports Med**, v. 36, n. 2, p. 133-49, 2006.

GARBER, C. E. et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 7, p. 1334-59, 2011.

GASIER, H. G.; FLUCKEY, J. D.; PREVIS, S. F. The application of 2H₂O to measure skeletal muscle protein synthesis. **Nutr Metab (Lond)**, v. 7, p. 31, 2010.

GASIER, H. G. et al. Acute resistance exercise augments integrative myofibrillar protein synthesis. **Metabolism**, v. 61, n. 2, p. 153-6, 2012.

GASIER, H. G. et al. Cumulative responses of muscle protein synthesis are augmented with chronic resistance exercise training. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 201, n. 3, p. 381-9, 2011.

GASIER, H. G. et al. A comparison of 2H₂O and phenylalanine flooding dose to investigate muscle protein synthesis with acute exercise in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 297, n. 1, p. E252-9, 2009.

GIBALA, M. J. et al. Myofibrillar disruption following acute concentric and eccentric resistance exercise in strength-trained men. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 78, n. 8, p. 656-61, 2000.

GIBALA, M. J. et al. Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 78, n. 2, p. 702-8, 1995.

GLOVER, E. I. et al. Resistance exercise decreases eIF2Bepsilon phosphorylation and potentiates the feeding-induced stimulation of p70S6K1 and rpS6 in young men. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 295, n. 2, p. R604-10, 2008.

GLYNN, E. L. et al. Muscle protein breakdown has a minor role in the protein anabolic response to essential amino acid and carbohydrate intake following resistance exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 299, n. 2, p. R533-40, 2010.

GOLL, D. E. et al. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains. **J Anim Sci**, v. 86, n. 14 Suppl, p. E19-35, 2008.

GONZALEZ-IZAL, M.; LUSA CADORE, E.; IZQUIERDO, M. Muscle conduction velocity, surface electromyography variables, and echo intensity during concentric and eccentric fatigue. **Muscle Nerve**, v. 49, n. 3, p. 389-97, 2014.

GORDON, P. M. et al. Resistance exercise training influences skeletal muscle immune activation: a microarray analysis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 112, n. 3, p. 443-53, 2012.

GREENHAFF, P. L. et al. Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin ligases, and protein turnover in human muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 3, p. E595-604, 2008.

GULBIN, J. P.; GAFFNEY, P. T. Identical twins are discordant for markers of eccentric exercise-induced muscle damage. **Int J Sports Med**, v. 23, n. 7, p. 471-6, 2002.

GUNDERSEN, K. Muscle memory and a new cellular model for muscle atrophy and hypertrophy. **J Exp Biol**, v. 219, n. Pt 2, p. 235-42, 2016.

HARBER, M. P. et al. Skeletal muscle and hormonal adaptations to circuit weight training in untrained men. **Scand J Med Sci Sports**, v. 14, n. 3, p. 176-85, 2004.

HARTMAN, J. W. et al. Consumption of fat-free fluid milk after resistance exercise promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in young, novice, male weightlifters. **Am J Clin Nutr**, v. 86, n. 2, p. 373-81, 2007.

HAWKE, T. J. Muscle stem cells and exercise training. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 33, n. 2, p. 63-8, 2005.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol (1985)**, v. 91, n. 2, p. 534-51, 2001.

HELLERSTEIN, M. K. et al. Subpopulations of long-lived and short-lived T cells in advanced HIV-1 infection. **J Clin Invest**, v. 112, n. 6, p. 956-66, 2003.

HHS. **2008 Physical Activity Guidelines for Americans:** <http://www.health.gov/paguidelines/pdf/paguide.pdf> 2008.

HIKIDA, R. S. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1104-5, 2007.

HILL, M.; WERNIG, A.; GOLDSPIK, G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. **J Anat**, v. 203, n. 1, p. 89-99, 2003.

HIROSE, L. et al. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. **Exerc Immunol Rev**, v. 10, p. 75-90, 2004.

HORNBERGER, T. A. Mechanotransduction and the regulation of mTORC1 signaling in skeletal muscle. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 43, n. 9, p. 1267-76, 2011.

HORTOBAGYI, T. et al. Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 84, n. 2, p. 492-8, 1998.

HOUGH, T. Ergographic studies in muscular fatigue and soreness. **J Boston Soc Med Sci**, v. 5, n. 3, p. 81-92, 1900.

HOWATSON, G.; VAN SOMEREN, K.; HORTOBAGYI, T. Repeated bout effect after maximal eccentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 28, n. 7, p. 557-63, 2007.

HOWELL, J. N.; CHLEBOUN, G.; CONATSER, R. Muscle stiffness, strength loss, swelling and soreness following exercise-induced injury in humans. **J Physiol**, v. 464, p. 183-96, 1993.

HUBAL, M. J. et al. Variability in muscle size and strength gain after unilateral resistance training. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 6, p. 964-72, 2005.

HUBAL, M. J.; RUBINSTEIN, S. R.; CLARKSON, P. M. Mechanisms of variability in strength loss after muscle-lengthening actions. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 3, p. 461-8, 2007.

HUBER, W. et al. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. **Nat Methods**, v. 12, n. 2, p. 115-21, 2015.

HUNTER, A. M. et al. Assessment of eccentric exercise-induced muscle damage of the elbow flexors by tensiomyography. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 22, n. 3, p. 334-41, 2012.

HYLDAHL, R. D.; HUBAL, M. J. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. **Muscle Nerve**, v. 49, n. 2, p. 155-70, 2014.

HYLDAHL, R. D. et al. Extracellular matrix remodeling and its contribution to protective adaptation following lengthening contractions in human muscle. **FASEB J**, 2015.

JACKSON, J. R. et al. Satellite cell depletion does not inhibit adult skeletal muscle regrowth following unloading-induced atrophy. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 303, n. 8, p. C854-61, 2012.

JONES, P. J.; LEATHERDALE, S. T. Stable isotopes in clinical research: safety reaffirmed. **Clin Sci (Lond)**, v. 80, n. 4, p. 277-80, 1991.

KADI, F. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1105, 2007.

KADI, F. et al. The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? **Pflugers Arch**, v. 451, n. 2, p. 319-27, 2005.

KADI, F. et al. The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. **J Physiol**, v. 558, n. Pt 3, p. 1005-12, 2004.

KAMEN, G.; KNIGHT, C. A. Training-related adaptations in motor unit discharge rate in young and older adults. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 59, n. 12, p. 1334-8, 2004.

KEFALOYIANNI, E.; GAITANAKI, C.; BEIS, I. ERK1/2 and p38-MAPK signalling pathways, through MSK1, are involved in NF-kappaB transactivation during oxidative stress in skeletal myoblasts. **Cell Signal**, v. 18, n. 12, p. 2238-51, 2006.

KIM, P. L.; STARON, R. S.; PHILLIPS, S. M. Fasted-state skeletal muscle protein synthesis after resistance exercise is altered with training. **J Physiol**, v. 568, n. Pt 1, p. 283-90, 2005.

KNOCHEL, J. P. Rhabdomyolysis and myoglobinuria. **Annu Rev Med**, v. 33, p. 435-43, 1982.

KRENTZ, J. R.; FARTHING, J. P. Neural and morphological changes in response to a 20-day intense eccentric training protocol. **Eur J Appl Physiol**, v. 110, n. 2, p. 333-40, 2010.

KUMAR, V. et al. Human muscle protein synthesis and breakdown during and after exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 106, n. 6, p. 2026-39, 2009.

LAURENTINO, G. C. et al. Strength training with blood flow restriction diminishes myostatin gene expression. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 3, p. 406-12, 2012.

LAURITZEN, F. et al. Gross ultrastructural changes and necrotic fiber segments in elbow flexor muscles after maximal voluntary eccentric action in humans. **J Appl Physiol (1985)**, 2009.

LAVENDER, A. P.; NOSAKA, K. Comparison between old and young men for changes in makers of muscle damage following voluntary eccentric exercise of the elbow flexors. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 31, n. 3, p. 218-25, 2006.

_____. Changes in markers of muscle damage of middle-aged and young men following eccentric exercise of the elbow flexors. **J Sci Med Sport**, v. 11, n. 2, p. 124-31, 2008.

LEAL, M. L. et al. Effect of different resistance-training regimens on the WNT-signaling pathway. **Eur J Appl Physiol**, 2011.

LEGER, B. et al. Akt signalling through GSK-3beta, mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. **J Physiol**, v. 576, n. Pt 3, p. 923-33, 2006.

LEPPER, C.; PARTRIDGE, T. A.; FAN, C. M. An absolute requirement for Pax7-positive satellite cells in acute injury-induced skeletal muscle regeneration. **Development**, v. 138, n. 17, p. 3639-46, 2011.

LIXANDRAO, M. E. et al. Vastus Lateralis muscle cross-sectional area ultrasonography validity for image fitting in humans. **J Strength Cond Res**, v. 28, n. 11, p. 3293-7, 2014.

LOWE, D. A. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1106, 2007.

LUO, W. et al. GAGE: generally applicable gene set enrichment for pathway analysis. **BMC Bioinformatics**, v. 10, p. 161, 2009.

MACDONALD, A. J. et al. A novel oral tracer procedure for measurement of habitual myofibrillar protein synthesis. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 27, n. 15, p. 1769-77, 2013.

MACDOUGALL, J. D. et al. The time course for elevated muscle protein synthesis following heavy resistance exercise. **Can J Appl Physiol**, v. 20, n. 4, p. 480-6, 1995.

MACDOUGALL, J. D. et al. Changes in muscle protein synthesis following heavy resistance exercise in humans: a pilot study. **Acta Physiol Scand**, v. 146, n. 3, p. 403-4, 1992.

MACINTYRE, D. L. et al. Different effects of strenuous eccentric exercise on the accumulation of neutrophils in muscle in women and men. **Eur J Appl Physiol**, v. 81, n. 1-2, p. 47-53, 2000.

MACKEY, A. L. et al. Strength training increases the size of the satellite cell pool in type I and II fibres of chronically painful trapezius muscle in females. **J Physiol**, v. 589, n. Pt 22, p. 5503-15, 2011a.

MACKEY, A. L. et al. Sequenced response of extracellular matrix deadhesion and fibrotic regulators after muscle damage is involved in protection against future injury in human skeletal muscle. **FASEB J**, v. 25, n. 6, p. 1943-59, 2011b.

MAHONEY, D. J. et al. Gene expression profiling in human skeletal muscle during recovery from eccentric exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 294, n. 6, p. R1901-10, 2008.

MALM, C. et al. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. **J Physiol**, v. 529 Pt 1, p. 243-62, 2000.

MALM, C. et al. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. **J Physiol**, v. 556, n. Pt 3, p. 983-1000, 2004.

MANTILLA, C. B.; SIECK, G. C. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1104, 2007.

MATSAKAS, A. et al. Molecular, cellular and physiological investigation of myostatin propeptide-mediated muscle growth in adult mice. **Neuromuscul Disord**, v. 19, n. 7, p. 489-99, 2009.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **J Biophys Biochem Cytol**, v. 9, p. 493-5, 1961.

MAYHEW, D. L. et al. Translational signaling responses preceding resistance training-mediated myofiber hypertrophy in young and old humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 107, n. 5, p. 1655-62, 2009.

MCCALL, G. E. et al. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 81, n. 5, p. 2004-12, 1996.

MCCARTHY, J. J.; ESSER, K. A. Counterpoint: Satellite cell addition is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1100-2; discussion 1102-3, 2007.

MCCARTHY, J. J. et al. Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. **Development**, v. 138, n. 17, p. 3657-66, 2011.

MCCROSKERY, S. et al. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. **J Cell Biol**, v. 162, n. 6, p. 1135-47, 2003.

MCHUGH, M. P. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. **Scand J Med Sci Sports**, v. 13, n. 2, p. 88-97, 2003.

MCHUGH, M. P. et al. Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. **Sports Med**, v. 27, n. 3, p. 157-70, 1999a.

MCHUGH, M. P. et al. The role of passive muscle stiffness in symptoms of exercise-induced muscle damage. **Am J Sports Med**, v. 27, n. 5, p. 594-9, 1999b.

MCHUGH, M. P.; TETRO, D. T. Changes in the relationship between joint angle and torque production associated with the repeated bout effect. **J Sports Sci**, v. 21, n. 11, p. 927-32, 2003.

MCKAY, B. R. et al. Association of interleukin-6 signalling with the muscle stem cell response following muscle-lengthening contractions in humans. **PLoS One**, v. 4, n. 6, p. e6027, 2009.

MCKAY, B. R. et al. Co-expression of IGF-1 family members with myogenic regulatory factors following acute damaging muscle-lengthening contractions in humans. **J Physiol**, v. 586, n. Pt 22, p. 5549-60, 2008a.

_____. Co-expression of IGF-1 family members with myogenic regulatory factors following acute damaging muscle lengthening contractions in humans. **J Physiol**, 2008b.

MCKAY, B. R. et al. Myostatin is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. **FASEB J**, v. 26, n. 6, p. 2509-21, 2012.

MCKAY, B. R. et al. Satellite cell number and cell cycle kinetics in response to acute myotrauma in humans: immunohistochemistry versus flow cytometry. **J Physiol**, v. 588, n. Pt 17, p. 3307-20, 2010.

MESSMER, B. T. et al. In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. **J Clin Invest**, v. 115, n. 3, p. 755-64, 2005.

MILLER, B. F. et al. Coordinated collagen and muscle protein synthesis in human patella tendon and quadriceps muscle after exercise. **J Physiol**, v. 567, n. Pt 3, p. 1021-33, 2005.

MITCHELL, C. J. et al. Muscular and systemic correlates of resistance training-induced muscle hypertrophy. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e78636, 2013.

MITCHELL, C. J. et al. What is the relationship between the acute muscle protein synthesis response and changes in muscle mass? **J Appl Physiol (1985)**, v. 118, n. 4, p. 495-7, 2015.

MITCHELL, C. J. et al. Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e89431, 2014.

MITCHELL, C. J. et al. Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men. **J Appl Physiol (1985)**, v. 113, n. 1, p. 71-7, 2012.

MOORE, D. R. et al. Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 288, n. 6, p. E1153-9, 2005.

MOORE, D. R. et al. Differential stimulation of myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis with protein ingestion at rest and after resistance exercise. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 4, p. 897-904, 2009.

MOORE, D. R.; YOUNG, M.; PHILLIPS, S. M. Similar increases in muscle size and strength in young men after training with maximal shortening or lengthening contractions when matched for total work. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 4, p. 1587-92, 2012.

MORITANI, T.; DEVRIES, H. A. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. **Am J Phys Med**, v. 58, n. 3, p. 115-30, 1979.

MURPHY-ULLRICH, J. E. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? **J Clin Invest**, v. 107, n. 7, p. 785-90, 2001.

MURPHY, M. M. et al. Satellite cells, connective tissue fibroblasts and their interactions are crucial for muscle regeneration. **Development**, v. 138, n. 17, p. 3625-37, 2011.

MURPHY, R. M. et al. Ca²⁺-dependent proteolysis of junctophilin-1 and junctophilin-2 in skeletal and cardiac muscle. **J Physiol**, v. 591, n. Pt 3, p. 719-29, 2013.

MURTON, A. J. et al. Transient transcriptional events in human skeletal muscle at the outset of concentric resistance exercise training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 116, n. 1, p. 113-25, 2014.

MUTHALIB, M. et al. The repeated bout effect: influence on biceps brachii oxygenation and myoelectrical activity. **J Appl Physiol (1985)**, 2011.

NEWHAM, D. J. The consequences of eccentric contractions and their relationship to delayed onset muscle pain. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 57, n. 3, p. 353-9, 1988.

NEWTON, M. J. et al. Comparison of responses to strenuous eccentric exercise of the elbow flexors between resistance-trained and untrained men. **J Strength Cond Res**, v. 22, n. 2, p. 597-607, 2008.

NEWTON, M. J. et al. Do dominant and non-dominant arms respond similarly to maximal eccentric exercise of the elbow flexors? **J Sci Med Sport**, v. 16, p. 166-71, 2012.

NIELSEN, A. R.; PEDERSEN, B. K. The biological roles of exercise-induced cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 32, n. 5, p. 833-9, 2007.

NOGUEIRA, F. R. et al. Muscle soreness and creatine kinase activity after eccentric actions: a cluster analysis. **Rev Bras Med Esporte**, v. 20, n. 4, p. 257-261, 2014a.

NOGUEIRA, F. R. et al. Comparison in responses to maximal eccentric exercise between elbow flexors and knee extensors of older adults. **J Sci Med Sport**, v. 17, n. 1, p. 91-5, 2014b.

NOSAKA, K. et al. Is isometric strength loss immediately after eccentric exercise related to changes in indirect markers of muscle damage? **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 31, n. 3, p. 313-9, 2006.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P. M. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, n. 9, p. 1263-9, 1995.

_____. Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, n. 8, p. 953-61, 1996a.

_____. Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. **Int J Sports Med**, v. 17, n. 2, p. 120-7, 1996b.

_____. Influence of previous concentric exercise on eccentric exercise-induced muscle damage. **J Sports Sci**, v. 15, n. 5, p. 477-83, 1997.

NOSAKA, K. et al. Time course of muscle adaptation after high force eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 63, n. 1, p. 70-6, 1991.

NOSAKA, K. et al. Attenuation of muscle damage by preconditioning with muscle hyperthermia 1-day prior to eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 99, n. 2, p. 183-92, 2007.

NOSAKA, K.; NEWTON, M. Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 1, p. 63-9, 2002a.

_____. Repeated eccentric exercise bouts do not exacerbate muscle damage and repair. **J Strength Cond Res**, v. 16, n. 1, p. 117-22, 2002b.

NOSAKA, K.; NEWTON, M.; SACCO, P. Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. **Scand J Med Sci Sports**, v. 12, n. 6, p. 337-46, 2002.

NOSAKA, K. et al. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 5, p. 746-53, 2005.

NOSAKA, K.; SAKAMOTO, K. Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 1, p. 22-9, 2001.

NOSAKA, K. et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 9, p. 1490-5, 2001.

O'CONNOR, R. S.; PAVLATH, G. K. Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1099-100, 2007.

O'CONNOR, R. S. et al. Last Word on Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1107, 2007.

O'REILLY, C. et al. Hepatocyte growth factor (HGF) and the satellite cell response following muscle lengthening contractions in humans. **Muscle Nerve**, v. 38, n. 5, p. 1434-42, 2008.

OGATA, H. et al. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Res**, v. 27, n. 1, p. 29-34, 1999.

PALECEK, S. P. et al. Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness. **Nature**, v. 385, n. 6616, p. 537-40, 1997.

PAULSEN, G. et al. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p. 75-85, 2010.

PAULSEN, G. et al. Subcellular movement and expression of HSP27, alphaB-crystallin, and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 107, n. 2, p. 570-82, 2009.

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**, v. 18, p. 42-97, 2012.

PEAKE, J.; NOSAKA, K.; SUZUKI, K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. **Exerc Immunol Rev**, v. 11, p. 64-85, 2005.

PEAKE, J. et al. Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 5, p. 737-45, 2005.

PEDERSEN, B. K. Muscles and their myokines. **J Exp Biol**, v. 214, n. Pt 2, p. 337-46, 2011.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 98, n. 4, p. 1154-62, 2005.

PETRELLA, J. K. et al. Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 291, n. 5, p. E937-46, 2006.

PETRELLA, J. K. et al. Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 104, n. 6, p. 1736-42, 2008.

PHILIPPOU, A. et al. Changes in the angle-force curve of human elbow flexors following eccentric and isometric exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 93, n. 1-2, p. 237-44, 2004.

PHILLIPS, B. E.; HILL, D. S.; ATHERTON, P. J. Regulation of muscle protein synthesis in humans. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 15, n. 1, p. 58-63, 2012.

PHILLIPS, S. M. Strength and hypertrophy with resistance training: chasing a hormonal ghost. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 5, p. 1981-3, 2012.

PHILLIPS, S. M. et al. Resistance-training-induced adaptations in skeletal muscle protein turnover in the fed state. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 80, n. 11, p. 1045-53, 2002.

PHILLIPS, S. M. et al. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. **Am J Physiol**, v. 273, n. 1 Pt 1, p. E99-107, 1997.

PHILLIPS, S. M. et al. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. **Am J Physiol**, v. 276, n. 1 Pt 1, p. E118-24, 1999.

PIKOSKY, M. A. et al. Aerobic exercise training increases skeletal muscle protein turnover in healthy adults at rest. **J Nutr**, v. 136, n. 2, p. 379-83, 2006.

PINTO, R. S. et al. Effect of range of motion on muscle strength and thickness. **J Strength Cond Res**, v. 26, n. 8, p. 2140-5, 2012.

PROSKE, U.; MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **J Physiol**, v. 537, n. Pt 2, p. 333-45, 2001.

PYNE, D. B. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. **Aust J Sci Med Sport**, v. 26, n. 3-4, p. 49-58, 1994.

RAASTAD, T. et al. Changes in calpain activity, muscle structure, and function after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p. 86-95, 2010.

RAUE, U. et al. Transcriptome signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults. **J Appl Physiol (1985)**, v. 112, n. 10, p. 1625-36, 2012.

REHFELDT, C. In response to Point:Counterpoint: "Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy". **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 1104, 2007.

RITCHIE, M. E. et al. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. **Nucleic Acids Res**, v. 43, n. 7, p. e47, 2015.

RODENBURG, J. B.; BAR, P. R.; DE BOER, R. W. Relations between muscle soreness and biochemical and functional outcomes of eccentric exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 74, n. 6, p. 2976-83, 1993.

ROSCHER, H. et al. Effect of eccentric exercise velocity on akt/mtor/p70(s6k) signaling in human skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 36, n. 2, p. 283-90, 2011.

ROSENBERG, J. G. et al. Reliability of panoramic ultrasound imaging to simultaneously examine muscle size and quality of the medial gastrocnemius. **Muscle Nerve**, v. 49, n. 5, p. 736-40, 2014.

ROY, B. D. et al. Effect of glucose supplement timing on protein metabolism after resistance training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 82, n. 6, p. 1882-8, 1997.

SABOURIN, L. A.; RUDNICKI, M. A. The molecular regulation of myogenesis. **Clin Genet**, v. 57, n. 1, p. 16-25, 2000.

SALE, D. G. Neural adaptation to resistance training. **Med Sci Sports Exerc**, v. 20, n. 5 Suppl, p. S135-45, 1988.

SALE, D. G. Neural adaptation to resistance training. **Med Sci Sports Exerc**, v. 20, p. Suppl-45, 1992.

SALE, D. G.; MARTIN, J. E.; MOROZ, D. E. Hypertrophy without increased isometric strength after weight training. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 64, n. 1, p. 51-5, 1992.

SAMBASIVAN, R. et al. Pax7-expressing satellite cells are indispensable for adult skeletal muscle regeneration. **Development**, v. 138, n. 17, p. 3647-56, 2011.

SAYERS, S. P.; KNIGHT, C. A.; CLARKSON, P. M. Neuromuscular variables affecting the magnitude of force loss after eccentric exercise. **J Sports Sci**, v. 21, n. 5, p. 403-10, 2003.

SCHIAFFINO, S. et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. **FEBS J**, v. 280, n. 17, p. 4294-314, 2013.

SCHOENFELD, B. J. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. **J Strength Cond Res**, v. 24, n. 10, p. 2857-72, 2010.

_____. Does exercise-induced muscle damage play a role in skeletal muscle hypertrophy? **J Strength Cond Res**, v. 26, n. 5, p. 1441-53, 2012.

SEDLIAK, M. et al. Effect of time-of-day-specific strength training on muscular hypertrophy in men. **J Strength Cond Res**, v. 23, n. 9, p. 2451-7, 2009.

SERRANO, A. L. et al. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. **Cell Metab**, v. 7, n. 1, p. 33-44, 2008.

SEYNNES, O. R.; DE BOER, M.; NARICI, M. V. Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 102, n. 1, p. 368-73, 2007.

SHEPSTONE, T. N. et al. Short-term high- vs. low-velocity isokinetic lengthening training results in greater hypertrophy of the elbow flexors in young men. **J Appl Physiol (1985)**, v. 98, n. 5, p. 1768-76, 2005.

SHI, W. et al. Estimating the proportion of microarray probes expressed in an RNA sample. **Nucleic Acids Res**, v. 38, n. 7, p. 2168-76, 2010.

SHI, W.; OSHLACK, A.; SMYTH, G. K. Optimizing the noise versus bias trade-off for Illumina whole genome expression BeadChips. **Nucleic Acids Res**, v. 38, n. 22, p. e204, 2010.

SHORT, K. R. et al. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 286, n. 1, p. E92-101, 2004.

SMITH, K.; RENNIE, M. J. Protein turnover and amino acid metabolism in human skeletal muscle. **Baillieres Clin Endocrinol Metab**, v. 4, n. 3, p. 461-98, 1990.

SMITH, M. L. et al. illuminaio: An open source IDAT parsing tool for Illumina microarrays. **F1000Res**, v. 2, p. 264, 2013.

SNIJDERS, T. et al. Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. **Front Physiol**, v. 6, p. 283, 2015.

SNIJDERS, T. et al. Changes in myonuclear domain size do not precede muscle hypertrophy during prolonged resistance-type exercise training. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 216, n. 2, p. 231-9, 2016.

SNIJDERS, T. et al. Muscle disuse atrophy is not accompanied by changes in skeletal muscle satellite cell content. **Clin Sci (Lond)**, v. 126, n. 8, p. 557-66, 2014.

STARBUCK, C.; ESTON, R. G. Exercise-induced muscle damage and the repeated bout effect: evidence for cross transfer. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 3, p. 1005-13, 2012.

STEC, M. J.; MAYHEW, D. L.; BAMMAN, M. M. The effects of age and resistance loading on skeletal muscle ribosome biogenesis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 119, n. 8, p. 851-7, 2015.

STEELMAN, C. A. et al. Transcriptional profiling of myostatin-knockout mice implicates Wnt signaling in postnatal skeletal muscle growth and hypertrophy. **Faseb J**, v. 20, n. 3, p. 580-2, 2006.

STRAWFORD, A. et al. Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in humans measured with $2H_2O$. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 286, n. 4, p. E577-88, 2004.

STUPKA, N. et al. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 89, n. 6, p. 2325-32, 2000.

STUPKA, N. et al. Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. **J Appl Physiol (1985)**, v. 91, n. 4, p. 1669-78, 2001.

TANG, J. E. et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. **J Appl Physiol (1985)**, v. 107, n. 3, p. 987-92, 2009.

TANG, J. E. et al. Resistance training alters the response of fed state mixed muscle protein synthesis in young men. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 294, n. 1, p. R172-8, 2008.

TERZIS, G. et al. Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. **Eur J Appl Physiol**, v. 102, n. 2, p. 145-52, 2008.

THALACKER-MERCER, A. et al. Cluster analysis reveals differential transcript profiles associated with resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. **Physiol Genomics**, v. 45, n. 12, p. 499-507, 2013.

THALACKER-MERCER, A. E. et al. Differential genomic responses in old vs. young humans despite similar levels of modest muscle damage after resistance loading. **Physiol Genomics**, v. 40, n. 3, p. 141-9, 2010.

THOMAS, M. et al. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. **J Biol Chem**, v. 275, n. 51, p. 40235-43, 2000.

THOMPSON, H. S. et al. A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v. 171, n. 2, p. 187-93, 2001.

TIDBALL, J. G. Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, n. 7, p. 1022-32, 1995.

_____. Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. **J Appl Physiol (1985)**, v. 98, n. 5, p. 1900-8, 2005.

VIERCK, J. et al. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. **Cell Biol Int**, v. 24, n. 5, p. 263-72, 2000.

VISSING, K. et al. Effects of concentric and repeated eccentric exercise on muscle damage and calpain-calpastatin gene expression in human skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 103, n. 3, p. 323-32, 2008.

WAKAHARA, T. et al. Increase in vastus lateralis aponeurosis width induced by resistance training: implications for a hypertrophic model of pennate muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 115, n. 2, p. 309-16, 2015.

WANG, Y. X.; RUDNICKI, M. A. Satellite cells, the engines of muscle repair. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 13, n. 2, p. 127-33, 2012.

WARREN, G. L. et al. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 29, n. 2, p. 82-7, 2001.

_____. What mechanisms contribute to the strength loss that occurs during and in the recovery from skeletal muscle injury? **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 32, n. 2, p. 58-64, 2002.

WARREN, G. L.; LOWE, D. A.; ARMSTRONG, R. B. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. **Sports Med**, v. 27, n. 1, p. 43-59, 1999.

WARREN, G. L. et al. Excitation failure in eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle. **J Physiol**, v. 468, p. 487-99, 1993.

WEST, D. W. et al. Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow flexors. **J Appl Physiol (1985)**, v. 108, n. 1, p. 60-7, 2010.

WEST, D. W. et al. Resistance exercise-induced increases in putative anabolic hormones do not enhance muscle protein synthesis or intracellular signalling in young men. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 21, p. 5239-47, 2009.

WHITEHEAD, N. P. et al. Streptomycin reduces stretch-induced membrane permeability in muscles from mdx mice. **Neuromuscul Disord**, v. 16, n. 12, p. 845-54, 2006.

WILKINSON, D. J. et al. A validation of the application of D(2)O stable isotope tracer techniques for monitoring day-to-day changes in muscle protein subfraction synthesis in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 306, n. 5, p. E571-9, 2014.

WILKINSON, S. B. et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. **J Physiol**, v. 586, n. Pt 15, p. 3701-17, 2008.

WILKINSON, S. B. et al. Consumption of fluid skim milk promotes greater muscle protein accretion after resistance exercise than does consumption of an isonitrogenous and isoenergetic soy-protein beverage. **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 4, p. 1031-40, 2007.

WILSON, G. J.; MURPHY, A. J. The use of isometric tests of muscular function in athletic assessment. **Sports Med**, v. 22, n. 1, p. 19-37, 1996.

WITARD, O. C. et al. Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. **Am J Clin Nutr**, v. 99, n. 1, p. 86-95, 2014.

WOLFE, R. R. The underappreciated role of muscle in health and disease. **Am J Clin Nutr**, v. 84, n. 3, p. 475-82, 2006.

WU, D.; SMYTH, G. K. Camera: a competitive gene set test accounting for inter-gene correlation. **Nucleic Acids Res**, v. 40, n. 17, p. e133, 2012.

YARASHESKI, K. E. et al. Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth in young men. **Am J Physiol**, v. 262, n. 3 Pt 1, p. E261-7, 1992.

YARASHESKI, K. E.; ZACHWIEJA, J. J.; BIER, D. M. Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women. **Am J Physiol**, v. 265, n. 2 Pt 1, p. E210-4, 1993.

YU, J. G.; CARLSSON, L.; THORNELL, L. E. Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. **Histochem Cell Biol**, v. 121, n. 3, p. 219-27, 2004.

YU, J. G.; FURST, D. O.; THORNELL, L. E. The mode of myofibril remodelling in human skeletal muscle affected by DOMS induced by eccentric contractions. **Histochem Cell Biol**, v. 119, n. 5, p. 383-93, 2003.

YU, J. G. et al. Re-evaluation of sarcolemma injury and muscle swelling in human skeletal muscles after eccentric exercise. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e62056, 2013.

YU, J. G.; MALM, C.; THORNELL, L. E. Eccentric contractions leading to DOMS do not cause loss of desmin nor fibre necrosis in human muscle. **Histochem Cell Biol**, v. 118, n. 1, p. 29-34, 2002.

YU, J. G.; THORNELL, L. E. Desmin and actin alterations in human muscles affected by delayed onset muscle soreness: a high resolution immunocytochemical study. **Histochem Cell Biol**, v. 118, n. 2, p. 171-9, 2002.

ZAMMIT, P. S. et al. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? **J Cell Biol**, v. 166, n. 3, p. 347-57, 2004.

ZIERATH, J. R.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. Looking Ahead Perspective: Where Will the Future of Exercise Biology Take Us? **Cell Metab**, v. 22, n. 1, p. 25-30, 2015.

10. APÊNDICES

10.1 Apêndice A. Termo de consentimento livre e esclarecido

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. DADOS DO INDIVÍDUO

Nome completo _____

Sexo ☐ Masculino
☐ Feminino

RG _____

Data _____ de _____

nascimento

Endereço _____

completo

CEP _____

Fone _____

e-mail _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL

Nome completo _____

Natureza (grau de parentesco, tutor,
curador, etc.) _____

Sexo ☐ Masculino
☐ Feminino

RG _____

Data _____ de _____

nascimento

Endereço _____

completo

CEP _____

Fone _____

e-mail _____

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. Título do Projeto de Pesquisa

O papel da magnitude de dano muscular nas respostas hipertróficas

2. Pesquisador Responsável

Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch

3. Cargo/Função

Livre Docente

4. Avaliação do risco da pesquisa:

☐

RISCO
MÍNIMO

☒

RISCO BAIXO

☐

RISCO MÉDIO

☐

RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

5. Duração da Pesquisa

12 (doze) semanas

III - EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO INDIVÍDUO OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, DE FORMA CLARA E SIMPLES, CONSIGNANDO:

Justificativa e os objetivos da pesquisa:

A presente pesquisa busca investigar se há relação entre diferentes magnitudes de dano muscular induzido por sessão de TF (musculação) e o ganho de massa muscular. É de domínio popular que fazer musculação produz dor muscular após o exercício. Algumas pesquisas indicam que essa dor muscular está associada à microlesões no tecido muscular e que essas estariam relacionadas com o ganho de massa muscular decorrentes da prática de musculação. Contudo, as pesquisas realizadas até o momento são inconclusivas, requerendo estudos adicionais.

Para tal, todos os voluntários participarão de um período de treinamento de musculação e testes que durará 12 semanas para avaliarmos a extensão de dano muscular induzida pelo exercício e as respectivas respostas de ganho de massa muscular. Os resultados obtidos no estudo serão úteis para o entendimento do mecanismo envolvido com a

adaptação da musculatura ao estresse imposto pelo exercício e, posteriormente, também para a definição do tipo de treinamento mais adequado para o aumento da massa muscular.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais:

Um dos responsáveis pela pesquisa explicará detalhadamente todos os procedimentos no primeiro contato. O treinamento de força será realizado nas dependências do laboratório de Adaptações ao Treinamento de Força no qual você executará o exercício leg press duas vezes por semana. Os testes físicos serão: teste de força máxima – realizado em dinamômetro isocinético (aparelho para avaliação da força) no qual você executará o máximo de força possível para estender o joelho (movimento de chute) em três tentativas; e análise de dor muscular percebida – no qual você avaliará sua dor após sentar-se e levantar-se de uma cadeira, sem ajuda nenhuma dos braços, e depois colocará uma marca numa escala que vai de 0mm (correspondente a nenhuma dor) à 100mm (correspondente a maior dor possível).

Será realizado um exame de imagem da musculatura da sua coxa com a utilização de um ultrassom. Neste exame você deitará em uma maca e o avaliador primeiro realizará a retirada dos pelos do local (meio da coxa), com o uso de lâminas descartáveis e individuais, e depois aplicará um gel condutor para captar as imagens do ultrassom. O procedimento é completamente indolor.

Serão realizadas coletas de tecido muscular (biópsia muscular) durante o treinamento (num total de nove coletas), por profissional qualificado (médico) utilizando procedimentos seguros e que são regularmente realizados em nosso laboratório. Nessas biópsias serão extraídas pequenas porções (aproximadamente 100mg - tamanho aproximado de dois grãos de arroz cozidos) da parte mais volumosa do músculo vasto lateral, localizado na parte anterior da coxa. A identificação da porção mais volumosa do músculo será feita por meio da visualização da área durante uma contração voluntária da perna, e o procedimento de biópsia será realizado da seguinte forma: você deverá se manter deitado em uma maca, mantendo os joelhos estendidos e a musculatura relaxada. Depois da identificação da área muscular de interesse, esta terá seus pelos removidos com o uso de lâminas descartáveis individuais e limpa com gazes molhadas em

antisséptico cirúrgico, por indivíduo trajando luvas esterilizadas. Após, um campo cirúrgico será colocado sob a sua perna. O médico responsável (trajando luvas esterilizadas) fará anestesia do local com a utilização de xilocaína a 1%, administrando-a com seringa e agulha hipodérmicas descartáveis e estéreis de forma subcutânea (sob a pele). Durante este procedimento, você poderá, de acordo com o seu grau de sensibilidade, sentir um breve desconforto, parecido com uma sensação de calor local, devido à ação do anestésico. Uma vez anestesiado o local, será feita então a incisão para se obter a amostra de tecido muscular. Para tal, o médico responsável utilizará uma fina e pequena lâmina de bisturi (nº11), esterilizada, individual e descartável e fará uma incisão de aproximadamente 0,5 cm de extensão. A incisão cortará a pele e a fáscia (tecido que recobre o músculo) do músculo a ser biopsiado. Você não deverá sentir qualquer dor durante a realização deste procedimento, uma vez que não há terminações nervosas sensitivas à dor na fáscia muscular ou no próprio músculo. Feita a incisão, você será instruído a relaxar a musculatura. A agulha de biópsia (agulha especialmente desenvolvida para extrair pequenas amostras de músculo), esterilizada e de uso individual, será então inserida pelo médico responsável através do orifício da incisão. Seguida de uma pequena sucção, gerada na extremidade superior externa da agulha por uma seringa de 120cc, um pequeno pedaço de músculo é puxado para o interior da agulha e cortado para ser então removido juntamente com a agulha. Durante este procedimento, o qual deve durar ao redor de 15 segundos, você deverá sentir apenas uma pequena pressão pela agulha, e não dor. Frequentemente os participantes reportam ausência de qualquer sensação de desconforto. Você será sempre informado da sequência dos procedimentos, e após a retirada da agulha, será aplicada pressão, com ataduras de gaze esterilizadas, sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento (usualmente não se observa qualquer sangramento). É possível que o médico tenha que repetir o procedimento (inserir a agulha novamente na incisão e retirar mais um pedaço de tecido muscular), mas isso ocorrerá somente se for constatada insuficiência de quantidade de amostra na primeira tentativa. A incisão será então fechada com fita adesiva esterilizada e coberta com uma pequena atadura para prevenir o seu desprendimento. Uma faixa de crepe será enrolada em sua coxa, sobre a região da incisão, aplicando pressão contínua, a fim de evitar formação de edema local. Você será

instruído a manter a bandagem por 24 horas e a manter a incisão limpa e seca pelo mesmo período. Estes procedimentos diminuem a possibilidade de sangramento e dor posteriores. Nas biópsias subsequentes (24 e 48 horas depois em cada semana de avaliação) novas incisões serão realizadas para a coleta do tecido muscular. No local da incisão poderá ficar uma pequena cicatriz na sua pele, que dependendo de características individuais, poderá desaparecer com o tempo. Alguns indivíduos podem sentir dor localizada no período de aproximadamente 24 horas após o procedimento. Tal sensação não deve ser maior do que aquela devido à realização de um exercício de musculação intenso. As complicações devido à este procedimento são raras, e se estendem a sangramento posterior e edema local, os quais devem ser tratados com aplicação breve de frio (gelo envolvido em saco e pano), compressão e elevação da perna. Tais complicações podem estender o período pelo qual o indivíduo sentirá dor, mas uma vez que a região não apresenta grandes vasos sanguíneos ou nervos, é extremamente rara a ocorrência de complicações desta natureza. Um folheto com informações e instruções pós-biópsia será entregue a todos os voluntários ao término do procedimento.

Em três momentos específicos do estudo, você irá ingerir (via oral) por dia 180 mL de água deuterada (água pesada – enriquecida com isótopo estável QUE NÃO É RADIOATIVO) em doses de 60mL, sendo uma pela manhã, uma à tarde e uma à noite (total de 15 dias de ingestão de água pesada ao longo do estudo). Nestes mesmos dias, você coletará uma vez ao dia saliva e uma pequena quantidade de sangue (1mL), esta última por meio de inserção de uma agulha descartável na veia de seu braço realizada por um profissional qualificado. A ingestão desta água, e as amostras de sangue, saliva e tecido muscular tornarão possível a análise da taxa de síntese proteica, que é um forte indicador do ganho de massa muscular associado à musculação. Além disso, é necessário frisar que a segurança da ingestão da água deuterada é bem estabelecida tanto que a *American Food and Drug Administration* (FDA) não requer quaisquer precauções especiais no seu manuseio e na sua utilização em humanos. Esse fato é confirmado pela utilização desse produto em humanos por mais de 70 anos para o estudo de vários processos fisiológicos. Ao longo dos últimos anos, mais de 300 indivíduos que

participaram de pesquisas científicas ingeriram a dose proposta de água pesada, sem relatos de eventos adversos importantes.

A ingestão de água pesada ocorrerá - antes e após - a primeira (T1), quinta (T2) e última (T3) sessões de treino. Já as biópsias ocorrerão antes, um e dois dias após as referidas sessões de treinamento (T1, T2 e T3), realizadas por meio de incisões separadas. Biópsias seriadas já foram realizadas previamente em outros estudos sem o aumento significativo do risco para os voluntários (Ex: Krstrup et al.²). A todo o momento os voluntários serão amparados no que necessitarem.

Desconfortos e riscos esperados:

Em relação à amostra de tecido muscular (biópsia) que será obtida da parte anterior da sua coxa, como descrito anteriormente, o risco envolvido na participação deste estudo é baixo, pois você sentirá apenas um pequeno desconforto que não o impedirá de prosseguir com as suas atividades diárias. Na preparação para a obtenção da amostra de tecido muscular você poderá sentir uma pequena sensação de ardor devido à aplicação do anestésico local, e durante a extração da amostra poderá sentir pressão no local e/ou contração muscular involuntária. O risco de infecção decorrente da obtenção da amostra de tecido muscular é mínimo tendo em vista todos os cuidados e procedimentos experimentais que serão tomados pelo médico experiente. Além disso, não existe na literatura relatos de qualquer tipo de problema decorrente da biópsia (Neves et al.³). Como colocado anteriormente, biópsias seriadas já foram realizadas previamente em outros estudos sem o aumento significativo do risco para os voluntários (Ex: Krstrup et al.¹).

No caso da ingestão oral da água pesada, quando administrada em doses baixas (como será no presente estudo), os indivíduos raramente (menos de 1 em cada 30) podem experimentar tontura temporária ou vertigem quando eles ingerem a primeira dose de

¹Krstrup, P., et al. *Maximal voluntary contraction force, SR function and glycogen resynthesis during the first 72 h after a high-level competitive soccer game.* Eur J Appl Physiol, 2011 **111**(12): p. 2987-9.

²Neves, M., Jr., et al. *Incidence of adverse events associated with percutaneous muscular biopsy among healthy and diseased subjects.* Scand J Med Sci Sports, 2012. **22**(2): p. 175-8.

água pesada. Isto pode acontecer em alguns indivíduos cujo ouvido interno é sensível à diferença de massa da água no interior e no exterior do ouvido, antes do equilíbrio de água se reestabelecer. Se este raro evento ocorrer, ainda assim é geralmente passageiro, com duração de 2 a 4 horas. Este efeito colateral é evitado quando a ingestão de água pesada é dividida em pequenas doses ao longo do dia, como ocorrerá no presente estudo (~60 mL três vezes ao dia). Vale ressaltar novamente que ao longo dos últimos anos, mais de 300 indivíduos ingeriram a dose proposta de deutério, sem eventos adversos importantes.

Os outros testes deste estudo também são seguros, bem tolerados e o risco envolvido na realização dos mesmos é mínimo. Porém, alguns desconfortos podem ocorrer, como sentir algum certo cansaço e dor muscular passageira após as primeiras seções de musculação. Para a coleta de sangue a punção da veia pode trazer um pequeno desconforto no braço devido ao aperto pelo garrote e pela picada da agulha.

Benefícios que poderão ser obtidos:

Não haverá compensação financeira pela sua participação neste estudo. Contudo, além dos benefícios que você obterá com a intervenção do treinamento como aumento de força e massa muscular e melhora da sua qualidade de vida, você contribuirá para a nossa melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na adaptação da musculatura ao treinamento de força. Com isso, poderemos planejar um programa eficaz de exercícios físicos para aumento de massa muscular. Você também receberá um relatório completo sobre seu desempenho e participação, assim como o resultado final do estudo.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

Os pesquisadores responsáveis pelo estudo se colocam a disposição para esclarecer a qualquer momento, as possíveis dúvidas sobre os procedimentos, riscos e benefícios proporcionados pelo estudo. Além disso, a sua participação é voluntária e todos têm o direito de se retirar por qualquer razão a qualquer momento do estudo sem que isso lhe proporcione qualquer prejuízo ou transtorno. As informações obtidas durante o estudo ficarão guardadas sob sigilo e privacidade absolutos. Em caso de qualquer emergência médica, ou lesão decorrente das sessões experimentais, os responsáveis pelo estudo lhe acompanharão ao HU ou HCFMUSP.

V - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Este estudo será conduzido pelo aluno de doutorado Felipe Romano Damas Nogueira da Escola da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo e integrante do GEPAN (Grupo de Estudo e Pesquisa das Adaptações Neuromusculares ao Treinamento de Força) da mesma instituição, coordenado pelo pesquisador responsável desse projeto, Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch. Em caso de necessidade os voluntários poderão entrar em contato com o aluno Felipe Romano Damas Nogueira ou com o Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch pelos telefones abaixo.

Felipe Romano Damas Nogueira (12) 8155-0743

Carlos Ugrinowitsch (11) 3091-8733

Escola de Educação Física e Esporte - EEFE

Universidade de São Paulo – USP

Av. Prof. Mello de Moraes, 65 - Cidade Universitária

VI. - OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

Nenhuma

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

São Paulo, ____/____/____

assinatura do sujeito da pesquisa
ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

11. ANEXOS

11.1 Anexo 1. Aprovação Ética

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div> <p>ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE DA UNIVERSIDADE DE SÃO</p> </div> <div> </div> </div>										
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP										
<p>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</p> <p>Título da Pesquisa: O papel da magnitude de dano muscular nas respostas hipertróficas</p> <p>Pesquisador: Carlos Ugrinowitsch</p> <p>Área Temática:</p> <p>Versão: 2</p> <p>CAAE: 18476513.1.0000.5391</p> <p>Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO</p> <p>Patrocinador Principal: Financiamento Próprio</p> <p>DADOS DO PARECER</p> <p>Número do Parecer: 608.754</p> <p>Data da Relatoria: 27/03/2014</p> <p>Apresentação do Projeto:</p> <p>Ainda não está bem estabelecido se o dano muscular possui papel importante no processo hipertrófico crônico em resposta ao treinamento de força em humanos, uma vez que a magnitude de dano muscular é significativamente atenuada no decorrer das sessões desse treinamento. Portanto, o objetivo do presente estudo será verificar se a atenuação do dano muscular ao longo das sessões de treinamento reduz a taxa de síntese proteica miofibrilar e a ativação do mecanismo intracelular de síntese proteica e, conseqüentemente, a magnitude da resposta hipertrófica durante 12 semanas de treinamento de força em homens jovens. Para isso serão realizadas avaliações funcionais e biópsias musculares (imediatamente pré e após a primeira, quinta e última sessões de treino) que possibilitarão analisar as diferentes magnitudes de dano muscular e suas respectivas respostas hipertróficas associadas. A magnitude de dano será analisada pela quantificação de torque máximo, desarranjo de linha-Z sarcomeral e quantidade de desmina intracelular, intensidade eco de ultrassom e presença de infiltrados inflamatórios. A taxa de síntese proteica miofibrilar será quantificada através da ingestão via oral de água deuterada e a ativação dos mecanismos hipertróficos será avaliada através da ativação, proliferação e diferenciação de células satélites e incorporação de mionúcleos, e respostas da interleucina 15, do fator de crescimento do fibroblasto e do fator de crescimento induzido por estresse mecânico. O</p>										
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65</td> <td style="border: none;">CEP: 06.757-060</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Bairro:</td> <td style="border: none;"></td> </tr> <tr> <td style="border: none;">UF: SP</td> <td style="border: none;">Município:</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Telefone: (113)091--3097</td> <td style="border: none;">Fax: (113)812--4141</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="border: none;">E-mail: cep39@usp.br</td> </tr> </table>	Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65	CEP: 06.757-060	Bairro:		UF: SP	Município:	Telefone: (113)091--3097	Fax: (113)812--4141	E-mail: cep39@usp.br	
Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65	CEP: 06.757-060									
Bairro:										
UF: SP	Município:									
Telefone: (113)091--3097	Fax: (113)812--4141									
E-mail: cep39@usp.br										

ESCOLA DE EDUCAÇÃO
FÍSICA E ESPORTE DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 608.754

aumento da área de secção transversa muscular será avaliado tanto no músculo todo pela técnica de reconstrução de imagens do ultrassom quanto na fibra isolada por análise histoquímica. Nossa hipótese é que maiores magnitudes de dano muscular (que ocorrerão no início do período de treinamento) produzirão maior taxa de síntese proteica miofibrilar e ativação do mecanismo hipertrófico e que, no decorrer do treinamento, com a magnitude de dano será atenuada, as respostas hipertróficas também diminuirão gradualmente.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar se a atenuação do dano muscular ao longo das sessões de treinamento reduz a taxa de síntese proteica miofibrilar e a ativação do mecanismo intracelular de síntese proteica e, conseqüentemente, da magnitude da resposta hipertrófica durante 12 semanas de treinamento de força em homens jovens.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação à amostra de tecido muscular (biópsia) que será obtida da parte anterior da coxa, o risco envolvido na participação deste estudo é baixo, pois o voluntário sentirá apenas um pequeno desconforto que não o impedirá de prosseguir com as suas atividades diárias.

A ingestão oral da água pesada, quando administrada em doses baixas (como será no presente estudo), os indivíduos raramente (menos de 1 em cada 30) podem experimentar tontura temporária ou vertigem quando eles ingerem a primeira dose de água pesada. Isto pode acontecer em alguns indivíduos cujo ouvido interno é sensível à diferença de massa da água no interior e no exterior do ouvido, antes do equilíbrio de água se reestabelecer. Se este raro evento ocorrer, ainda assim é geralmente passageiro, com duração de 2 a 4 horas

os benefícios que o voluntário obterá com a intervenção do treinamento como aumento de força e massa muscular, melhorando sua qualidade de vida, o voluntário contribuirá para a nossa melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na adaptação da musculatura ao treinamento de força.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desenho adequado, com proposta pertinente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Corrigido e adequado as considerações anteriores.

Recomendações:

Sem outras considerações

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65

Bairro:

CEP: 06.757-060

UF: SP

Município:

Telefone: (113)091--3097

Fax: (113)812--4141

E-mail: cep39@usp.br

ESCOLA DE EDUCAÇÃO
FÍSICA E ESPORTE DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 608.754

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Adequado e sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer aprovado na reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo realizada em 08/04/2014.

08 de Abril de 2014

Assinador por:
Maria Augusta Peduti Dal'Molin Kiss
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65
Bairro: CEP: 06.757-060
UF: SP **Município:**
Telefone: (113)091--3097 **Fax:** (113)812--4141 **E-mail:** cep39@usp.br

11.2 Anexo 2. Artigo publicado na Sports Medicine

Sports Med (2015) 45:801–807
DOI 10.1007/s40279-015-0320-0

REVIEW ARTICLE

A Review of Resistance Training-Induced Changes in Skeletal Muscle Protein Synthesis and Their Contribution to Hypertrophy

Felipe Damas · Stuart Phillips · Felipe Cassaro Vechin · Carlos Ugrinowitsch

Published online: 6 March 2015
© Springer International Publishing Switzerland 2015

Abstract Muscle protein synthesis (MPS) is stimulated by resistance exercise (RE) and is further stimulated by protein ingestion. The summation of periods of RE-induced increases in MPS can induce hypertrophy chronically. As such, studying the response of MPS with resistance training (RT) is informative, as adaptations in this process can modulate muscle mass gain. Previous studies have shown that the amplitude and duration of increases in MPS after an acute bout of RE are modulated by an individual's training status. Nevertheless, it has been shown that the initial responses of MPS to RE and nutrition are not correlated with subsequent hypertrophy. Thus, early acute responses of MPS in the hours after RE, in an untrained state, do not capture how MPS can affect RE-induced muscle hypertrophy. The purpose of this review is provide an in-depth understanding of the dynamic process of muscle hypertrophy throughout RT by examining all of the available data on MPS after RE and in different phases of an RT programme. Analysis of the time course and the overall response of MPS is critical to determine the potential protein accretion after an RE bout. Exercise-induced increases in MPS are shorter lived and peak earlier in the trained state than in the untrained state, resulting in a smaller overall muscle protein synthetic response in the

trained state. Thus, RT induces a dampening of the MPS response, potentially limiting protein accretion, but when this occurs remains unknown.

Key Points

Information on muscle protein synthesis increases in the hours and days after resistance exercise, and at different points in the training programme, would allow a better understanding of muscle plasticity throughout a resistance training programme.

The exercise-induced increase in mixed muscle protein synthesis is longer lived and peaks later in the untrained state than in the trained state, resulting in greater overall muscle protein synthesis in the untrained state, but moves towards a lower 'per workout' synthetic response and lower protein accretion.

For myofibrillar protein synthesis, there is a paucity of data, but we can consider that the increases after resistance exercise point to a qualitatively similar response to that reported for mixed muscle protein synthesis, indicating a greater potential for myofibrillar protein accretion over time in an untrained condition.

F. Damas (✉) · F. C. Vechin · C. Ugrinowitsch
School of Physical Education and Sports, University of São Paulo, Av. Prof. Mello Moraes, 65, São Paulo, Brazil
e-mail: felipedamas@usp.br

F. Damas · F. C. Vechin · C. Ugrinowitsch
Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-030, Brazil

S. Phillips
Department of Kinesiology, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1, Canada

1 Introduction

Increases in skeletal muscle mass can be achieved through resistance exercise (RE), which is a potent stimulator of muscle protein synthesis (MPS) [1–8]. Repeated bouts of

11.3 Anexo 3. Artigo publicado na International Journal of Sports Medicine

Training & Testing

Susceptibility to Exercise-Induced Muscle Damage: a Cluster Analysis with a Large Sample

Authors

F. Damas¹, K. Nosaka², C. A. Libardi³, T. C. Chen⁴, C. Ugrinowitsch¹

Affiliations

Affiliation addresses are listed at the end of the article

Key words

- isometric contraction
- muscle soreness
- creatine kinase
- range of motion
- lengthening contractions
- elbow flexors

Abstract

▼ We investigated the responses of indirect markers of exercise-induced muscle damage (EIMD) among a large number of young men ($N=286$) stratified in clusters based on the largest decrease in maximal voluntary contraction torque (MVC) after an unaccustomed maximal eccentric exercise bout of the elbow flexors. Changes in MVC, muscle soreness (SOR), creatine kinase (CK) activity, range of motion (ROM) and upper-arm circumference (CIR) before and for several days after exercise were compared between 3 clusters established based on MVC decrease (low, moderate, and high responders; LR, MR and HR). Participants were allocated to LR ($n=61$), MR

($n=152$) and HR ($n=73$) clusters, which depicted significantly different cluster centers of 82%, 61% and 42% of baseline MVC, respectively. Once stratified by MVC decrease, all muscle damage markers were significantly different between clusters following the same pattern: small changes for LR, larger changes for MR, and the largest changes for HR. Stratification of individuals based on the magnitude of MVC decrease post-exercise greatly increases the precision in estimating changes in EIMD by proxy markers such as SOR, CK activity, ROM and CIR. This indicates that the most commonly used markers are valid and MVC orchestrates their responses, consolidating the role of MVC as the best EIMD indirect marker.

Introduction

▼ Exercise-induced muscle damage (EIMD) is a process that has been studied since the end of 19th and early 20th century with Hough's seminal paper on muscle soreness indicating that the phenomenon occurring in skeletal muscles after strenuous exercise cannot be solely attributed to fatigue [15]. Thenceforth, many studies have been performed to understand EIMD etiology by several investigators through more controlled experiments [6, 8, 25, 27, 34]. Most of the studies used more than one marker to represent the EIMD magnitude [6, 10, 25, 28, 33, 37]. The rationale for measuring a set of markers is that EIMD is a phenomenon encompassing various physiological processes and, therefore, each marker would assess at least one of the following processes: a) loss of myofibrillar integrity (shown as Z-band streaming/disruption) [1]; b) extracellular-matrix remodeling or failure in excitation-contraction coupling (reflected in reduced muscle strength) [17, 36]; c) connective tissue damage (related to increases in delayed-onset muscle

soreness (SOR) and to decreases in range of motion (ROM)) [18, 30]; d) membrane damage (leading to muscle protein leakage into bloodstream such as creatine kinase (CK)) [22]; e) muscle swelling (increasing limb circumference (CIR)) [31]; f) inflammatory events (promoting accumulation of leucocytes in the muscle) [34].

The problem with using a set of markers to describe the same phenomenon is that their responses do not always converge [3, 19, 20]. For example, Chapman et al. [3] demonstrated significant differences between 210 fast vs. 210 slow eccentric contractions for maximal voluntary contraction torque (MVC), CK and ROM after eccentric exercise (ECC), but no difference between conditions for SOR and CIR; Lavender and Nosaka [19] demonstrated that MVC, SOR, CK and ROM responses to ECC are significantly different comparing young and old men, but CIR was similar between ages; Lavender and Nosaka [20] showed similar responses in MVC, CK, ROM and CIR, after ECC in middle-aged vs. young men, but SOR was different between groups. This

accepted after revision
December 21, 2015

Bibliography

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-100281>
Published online: 2016
Int J Sports Med
© Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0172-4622

Correspondence

Felipe Damas
School of Physical Education
and Sport
University of São Paulo
Av. Prof. Mello de Moraes
65, São Paulo
05508-030 Brazil
Tel.: +55/11/3091 8796
Fax: +55/11/3813 5091
felipedamas@usp.br

11.4 Anexo 4. Artigo publicado no European Journal of Applied Physiology

Eur J Appl Physiol (2016) 116:49–56
DOI 10.1007/s00421-015-3243-4

ORIGINAL ARTICLE

Early resistance training-induced increases in muscle cross-sectional area are concomitant with edema-induced muscle swelling

Felipe Damas¹ · Stuart M. Phillips² · Manoel E. Lixandão¹ · Felipe C. Vechin¹ · Cleiton A. Libardi³ · Hamilton Roschel¹ · Valmor Tricoli¹ · Carlos Ugrinowitsch¹

Received: 6 June 2015 / Accepted: 11 August 2015 / Published online: 18 August 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract

Purpose It has been proposed that skeletal muscle shows signs of resistance training (RT)-induced muscle hypertrophy much earlier (i.e., ~3–4 weeks of RT) than previously thought. We determined if early increases in whole muscle cross-sectional area (CSA) during a period of RT were concomitant with edematous muscle swelling and thus not completely attributable to hypertrophy.

Methods We analyzed vastus lateralis muscle ultrasound CSA images and their respective echo intensities (CSA-US_{echo}) at the beginning (T1), in the 3rd week of RT (T2) and at the end (T3) of a 10-week RT period in ten untrained young men. Functional parameters [training volume (TV = load × reps × sets) and maximal voluntary contraction (MVC)] and muscle damage markers (myoglobin and interleukin-6) were also assessed.

Result Muscle CSA increased significantly at T2 (~2.7 %) and T3 (~10.4 %) versus T1. Similarly, CSA-US_{echo} increased at T2 (~17.2 %) and T3 (~13.7 %). However, when CSA-US_{echo} was normalized to the increase in

muscle CSA, only T2 showed a significantly higher US_{echo} versus T1. Additionally, TV increased at T2 and T3 versus T1, but MVC increased only at T3. Myoglobin and Interleukin-6 were elevated at T2 versus T1, and myoglobin was also higher at T2 versus T3.

Conclusion We propose that early RT-induced increases in muscle CSA in untrained young individuals are not purely hypertrophy, since there is concomitant edema-induced muscle swelling, probably due to muscle damage, which may account for a large proportion of the increase. Therefore, muscle CSA increases (particularly early in an RT program) should not be labeled as hypertrophy without some concomitant measure of muscle edema/damage.

Keywords Skeletal muscle · Resistance exercise · Muscle hypertrophy · Ultrasound · Echo intensity · Muscle damage

Abbreviations

ANOVA	Analysis of variance
AU	Arbitrary units
CSA	Cross-sectional area
CSA-US _{echo}	Cross-sectional area echo-intensity
ES	Effect size
IL-6	Interleukin-6
Mb	Myoglobin
MVC	Maximum voluntary isometric contraction torque
MPS	Muscle protein synthesis
MRI	Magnetic resonance imaging
RT	Resistance training
SD	Standard deviations
TV	Total training volume
US _{echo}	Ultrasound echo-intensity
VL	Vastus lateralis

Communicated by Anni Vanhatalo.

✉ Felipe Damas
felipedamas@usp.br

¹ School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, Av. Prof. Mello de Moraes, 65, São Paulo, SP 05508-030, Brazil

² Department of Kinesiology, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1, Canada

³ Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Federal University of São Carlos, Rod. Washington Luiz, Km 235-SP310, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

11.5 Anexo 5. Carta publicada na European Journal of Applied Physiology

Eur J Appl Physiol (2016) 116:445–446
DOI 10.1007/s00421-015-3287-5

REPLY

An inability to distinguish edematous swelling from true hypertrophy *still* prevents a completely accurate interpretation of the time course of muscle hypertrophy

Felipe Damas¹ · Stuart M. Phillips² · Manoel E. Lixandrão¹ · Felipe C. Vechin¹ · Cleiton A. Libardi³ · Hamilton Roschel¹ · Valmor Tricoli¹ · Carlos Ugrinowitsch¹

Received: 19 October 2015 / Accepted: 20 October 2015 / Published online: 29 October 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Dear Editor,

DeFreitas et al. state that “The findings of Damas et al. have not influenced the previously proposed time course of skeletal muscle hypertrophy” with regard to our recent publication (Damas et al. 2015). We appreciate the article from DeFreitas et al. (2011), which depicts a theoretical time course of muscle hypertrophy throughout a resistance training (RT) program. In our view, we did not misinterpret the findings of DeFreitas et al., but instead we highlighted the differences between our study protocol and theirs. As can be read in our manuscript, both studies indicated significant increases in muscle cross-sectional area (CSA) around the third week of RT. However, our participants performed only four previous RT bouts before the CSA assessment (RT was performed twice a week), while DeFreitas et al. (2011) used a three times per week RT; therefore their participants performed around 9–12 RT bouts during 3–4 weeks before measurements. These differences in

the experimental design are important and described in the “Discussion” section of our article (Damas et al. 2015).

The explanation the authors provide in the letter is already acknowledged in our manuscript: “Additionally, DeFreitas et al. (2011) speculated that the significant increase in muscle CSA that they found in the first week of RT in untrained individuals was *possibly* [italics added for emphasis] due to edema and could be falsely attributed to hypertrophy; thus, they considered that the increased CSA was indicative of hypertrophy only at week 3–4 (when it was different from week 1)”. Since DeFreitas et al. did not provide any measurement of edema it is not possible to estimate the degree of edema that was present at the third week of RT, and that was the main reason that we *suggested* they might have overestimated the degree of increase in muscle CSA. Importantly, the authors report an increase in muscle CSA of 5.95 % at week 3, leading the reader to believe that this was the actual magnitude of muscle hypertrophy. In their letter, on the other hand, they report (perhaps more appropriately and realistically, in our opinion) an increase in muscle CSA of around 2.41 % (under the assumption that an unchanged amount of edema of 3.45 % was present at this time), which was not clearly stated in their manuscript. In addition, the authors include in their original manuscript the minimal detectable statistical difference approach stating “...if an individual has a pre- to post-training increase in CSA that is less than 3.37 % [and estimate with an incredible degree of precision], then the change was not real. The change in that scenario could be attributed to the measurement error of the instrument. However, an increase in CSA greater than 3.37 % (in total change) should be attributed to the intervention, which is typically resistance training”. It seems then that a large assumption has been made by DeFreitas et al. that edema is a constant fraction of the CSA measurement and their

Communicated by Klaas R. Westerterp/Håkan Westerblad.

This reply refers to the letter available at
doi:10.1007/s00421-015-3286-6.

✉ Felipe Damas
felipedamas@usp.br

¹ School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, Av. Prof. Mello de Moraes, 65, São Paulo, SP 05508-030, Brazil

² Department of Kinesiology, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8S 4K1, Canada

³ Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Federal University of São Carlos, Rod. Washington Luiz, km 235, SP310, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

11.6 Anexo 6. Artigo publicado no The Journal of Physiology

J Physiol 594.18 (2016) pp 5209–5222

5209

Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage

Felipe Damas¹, Stuart M. Phillips², Cleiton A. Libardi³, Felipe C. Vechin¹, Manoel E. Lixandrão¹, Paulo R. Jannig¹, Luiz A. R. Costa¹, Aline V. Bacurau¹, Tim Snijders², Gianni Parise², Valmor Tricoli¹, Hamilton Roschel¹ and Carlos Ugrinowitsch¹

¹School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, Av. Prof. Mello de Moraes, 65, 05508-030 São Paulo, SP, Brazil

²Department of Kinesiology, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, ON, Canada, L8S 4K1

³Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, Rod Washington Luiz, km 235 – SP310, 13565–905 São Carlos, SP, Brazil

Key points

- Skeletal muscle hypertrophy is one of the main outcomes from resistance training (RT), but how it is modulated throughout training is still unknown.
- We show that changes in myofibrillar protein synthesis (MyoPS) after an initial resistance exercise (RE) bout in the first week of RT (T1) were greater than those seen post-RE at the third (T2) and tenth week (T3) of RT, with values being similar at T2 and T3.
- Muscle damage (Z-band streaming) was the highest during post-RE recovery at T1, lower at T2 and minimal at T3.
- When muscle damage was the highest, so was the integrated MyoPS (at T1), but neither were related to hypertrophy; however, integrated MyoPS at T2 and T3 were correlated with hypertrophy.
- We conclude that muscle hypertrophy is the result of accumulated intermittent increases in MyoPS mainly after a progressive attenuation of muscle damage.

Abstract Skeletal muscle hypertrophy is one of the main outcomes of resistance training (RT), but how hypertrophy is modulated and the mechanisms regulating it are still unknown. To investigate how muscle hypertrophy is modulated through RT, we measured day-to-day integrated myofibrillar protein synthesis (MyoPS) using deuterium oxide and assessed muscle damage at the beginning (T1), at 3 weeks (T2) and at 10 weeks of RT (T3). Ten young men (27 (1) years, mean (SEM)) had muscle biopsies (vastus lateralis) taken to measure integrated MyoPS and muscle damage (Z-band streaming and indirect parameters) before, and 24 h and 48 h post resistance exercise (post-RE) at T1, T2 and T3. Fibre cross-sectional area (fCSA) was evaluated using biopsies at T1, T2 and T3. Increases in fCSA were observed only at T3 ($P = 0.017$). Changes in MyoPS post-RE at T1, T2 and T3 were greater at T1 ($P < 0.03$) than at T2 and T3 (similar values between T2 and T3). Muscle damage was the highest during post-RE recovery at T1, attenuated at T2 and further attenuated at T3. The change in MyoPS post-RE at both T2 and T3, but not at T1, was strongly correlated ($r \approx 0.9$, $P < 0.04$) with muscle hypertrophy. Initial MyoPS response post-RE in an RT programme is not directed to support muscle hypertrophy, coinciding with the greatest muscle damage. However, integrated MyoPS is quickly 'refined' by 3 weeks of RT, and is related to muscle hypertrophy. We conclude that muscle hypertrophy is the result of accumulated intermittent changes in MyoPS post-RE in RT, which coincides with progressive attenuation of muscle damage.