UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Efeitos da suplementação de HMB-AL e HMB-Ca sobre as respostas de
força e hipertrofia musculares em indivíduos treinados submetidos a
treinamento de força

ALINE CRISTINA CAPPARELLI TRITTO

São Paulo

2018

ALINE CRISTINA CAPPARELLI TRITTO

Efeitos da suplementação de HMB-AL e HMB-Ca sobre as respostas de
força e hipertrofia musculares em indivíduos treinados submetidos a
treinamento de força

Dissertação apresentada a Escola de
Educação Física e Esporte da Universidade
de São Paulo como pré-requisito para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Estudos
Biodinâmicos da Educação Física e Esporte

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Giannini
Artioli

São Paulo

2018

Catálogo da Publicação
Serviço de Biblioteca
Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo

Tritto, Aline Cristina Capparelli
Efeitos da suplementação de HMB-AL e HMB-Ca sobre as
respostas de força e hipertrofia musculares em indivíduos treinados
submetidos a treinamento de força / Aline Cristina Capparelli Tritto.
-- São Paulo : [s.n.], 20178
49p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo.
Orientador: Prof. Dr. Guilherme Giannini Artioli

1. Treinamento de força 2. Desempenho esportivo 3. Atletas
4. Suplementação alimentar I. Título.

RESUMO

TRITTO, A. C. C. **Efeitos da suplementação de HMB-AL e HMB-Ca sobre as respostas de força e hipertrofia musculares em indivíduos treinados submetidos a treinamento de força**, 2017. Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Inúmeras estratégias que promovam aumento de força e hipertrofia musculares vêm sendo estudadas, com destaque para a suplementação de HMB (beta-hidroxi-beta-metilbutirato). Ainda que possua literatura controversa na área, um grupo de pesquisadores publicou nos últimos anos dois estudos com desenho experimental semelhante (randomizado, duplo-cego, controlado por placebo) em que sujeitos previamente treinados em força eram submetidos a doze semanas de treinamento de força suplementando com HMB-AL ou placebo. Após período de treinamento associado à suplementação, o grupo HMB apresentou ganhos expressivos de força e massa muscular. Parte das explicações para resposta de tamanha magnitude é o tipo de suplemento utilizado, nesse caso, HMB em forma de ácido livre (HMB-AL) e não em forma de sal de Cálcio (HMB-Ca), utilizado na maioria dos estudos. Por conta disso, o objetivo do projeto foi comparar as respostas de força e hipertrofia musculares de sujeitos treinados suplementados com HMB-AL, HMB-Ca ou placebo submetidos a um programa de treinamento de força. 45 sujeitos treinados em força fizeram parte do estudo, eles foram randomizados em 3 grupos: grupo que tomou 3g HMB-AL, 3g de HMB-Ca e 3g placebo. Todos foram submetidos a um programa de treinamento de 12 semanas, onde eram realizadas 2 sessões por semana. O período de suplementação correspondeu às 12 semanas de treino. Antes e após intervenção, os atletas foram submetidos a testes de força dinâmica máxima, contração voluntária máxima, composição corporal (DXA) e área de secção transversa (ultrassom). O grupo suplementado com HMB-AL teve uma tendência a otimização de ganhos em massa muscular, quando comparado ao grupo HMB-Ca ($p=0,09$). Quando comparado ao grupo placebo, esse valor atingiu significância ($p=0,03$), ou seja, o suplemento foi capaz de otimizar o ganho de massa magra em indivíduos treinados. Adicionalmente, o grupo HMB-AL também aumentou mais a carga total de treino, no exercício leg press, quando comparado ao grupo HMB-Ca ($p=0,02$) e placebo ($p=0,03$). Todos os grupos ganharam força no exercício de supino de forma similar e o aumento da contração voluntária máxima, também foi similar entre os grupos, não tendo efeito adicional do suplemento. Possivelmente, o HMB-AL tenha algum efeito positivo em otimizar as respostas de hipertrofia e força muscular, ainda que marginal, em indivíduos treinados em força, submetidos a 12 semanas de treino de força.

Palavras-chaves: suplemento, força muscular, atletas, desempenho esportivo

ABSTRACT

TRITTO, A. C. C.. **Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid and calcium supplementation on muscle mass and strength responses in resistance-trained men undergoing resistance training**, 2017. School of Physical Education and Sport, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2017.

Strength and muscle gain are common goals among healthy individuals and athletes who perform resistance training. A vast number of strategies have been studied in order to improve those characteristics, including HMB supplementation (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate). Although it has controversial literature in the area, recently, a group of researchers published two studies with similar experimental design (randomized, double-blind, placebo-controlled) in which subjects previously resistance-trained were submitted to twelve weeks of resistance training either supplementing with HMB-FA or placebo. After training period associated with supplementation, HMB group showed significant strength gains and muscle mass improvement. This response could be explained by the type of supplement used: free acid HMB (HMB-FA) not the common form of HMB used in most of the studies (Calcium salt HMB or HMB-Ca). Regarding, the aim of the study is to compare muscle strength and hypertrophy responses of trained subjects supplemented with HMB-FA, HMB-Ca or placebo after a resistance training program of 12 weeks. 45 resistance-trained men took part of the study, they were randomized into 3 groups: group that took 3g HMB-FA, 3g of HMB-Ca or 3g of placebo. All individuals were submitted to a 12-week training program, where 2 sessions per week were held. The supplementation period corresponded to the 12 weeks of training. Before and after intervention, the athletes were submitted to tests of maximum dynamic force, maximum voluntary contraction, body composition (DXA) and cross-sectional area (ultrasound). The HMB-FA group tended to optimize gains in muscle mass when compared to the HMB-Ca group ($p = 0.09$). When compared to the placebo group, this value reached significance ($p = 0.03$). In addition, the HMB-FA group also increased the total training load in the leg press exercise when compared to the HMB-Ca group ($p = 0.02$) and placebo ($p = 0.03$). All groups gained similar strength in bench press exercise and increased maximal voluntary contraction was also similar between groups, with no additional effect of supplementation. Possibly, HMB-FA has some positive effect on optimizing hypertrophy and muscle strength, in resistance-trained men individuals undergoing 12 weeks of resistance training.

Key words: Sports supplements, athletes, athletic performance

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	7
2) OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3) REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 Adaptações ao Treinamento de Força.	11
3.2 Absorção de HMB	13
3.3 Metabolismo de HMB	15
3.4 Mecanismos de ação da suplementação de HMB.....	16
3.5 Efeitos da suplementação de HMB.....	19
4) MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Participantes.....	20
4.2 Desenho experimental.....	21
4.3 Protocolo de suplementação	22
4.4 Protocolo de treinamento	23
4.5 Avaliação da Composição Corporal.....	24
4.6 Avaliação da força dinâmica máxima	24
4.7 Avaliação da força isométrica máxima	26
4.8 Avaliação da área de secção transversa.....	26
4.9 Avaliação da dor muscular tardia.....	28
4.10 Avaliação do consumo alimentar	28
4.11 Análise Estatística	28
5) RESULTADOS.....	29
5.1 Caracterização da amostra	29
5.2 Carga total de treino.....	30
5.3 Composição Corporal	31
5.4 Força Dinâmica Máxima	34
5.4.1 Supino.....	34
5.4.2 Leg Press	34

5.5 Contração Voluntária máxima.....	35
5.6 Área de Secção Transversa	36
5.7 Função Muscular.....	36
6) DISCUSSÃO.....	37
7) CONCLUSÃO	41
8) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1) INTRODUÇÃO

O aumento da massa muscular é objetivo comum entre indivíduos saudáveis engajados em programas de treinamento, de atletas das mais variadas modalidades esportivas (Robbins & Dochert, 2005; Wilson *et al.*, 2013) e de populações clínicas nas quais se observam atrofia ou sarcopenia (Smolarek *et al.*, 2016; Itoh *et al.*, 2016). Por tal razão, inúmeras estratégias de promoção de força e hipertrofia muscular vêm sendo estudadas, com destaque para modelos de treinamento de força e intervenções nutricionais.

Dentre as intervenções nutricionais capazes de promover ou potencializar a hipertrofia muscular, a suplementação de HMB (beta-hidroxi-beta-metilbutirato) tem se mostrando particularmente controversa. Embora experimentos em animais mostrem com relativa consistência que a suplementação de HMB é capaz de atenuar a perda de massa muscular em diversas condições atroficas (Kovarík *et al.*, 2010; Russell *et al.*, 2009; Aversa *et al.*, 2011), os trabalhos em humanos saudáveis que investigaram seu potencial para otimizar ganhos de massa magra durante períodos de treinamento são bastante contraditórios. Isso porque diversos estudos mostraram efeitos positivos sobre o ganho de força ou massa magra (Jowko *et al.*, 2001; Nissen *et al.*, 2006; Panton *et al.*, 2000; Vukowich *et al.*, 2001a; Wilson *et al.*, 2014; Lowery *et al.*, 2016), ao passo que outros não verificaram nenhum efeito da suplementação sobre essas variáveis (Kreider *et al.*, 1999; Kreider *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2009; O'Connor & Crowe, 2007; Ransone *et al.*, 2003; Slater *et al.*, 2001; Durkalec-Michalski *et al.*, 2016; McIntosh *et al.*, 2018).

Argumenta-se que tal inconsistência possa ser explicada, ao menos em parte, pelas características das populações estudadas. Na maioria dos trabalhos em que os participantes não eram especificamente treinados, a suplementação de HMB mostrou-se eficaz em potencializar os ganhos de força e massa muscular obtidos com o treinamento de força (Jowko *et al.*, 2001; Nissen *et al.*, 2006; Panton *et al.*, 2000; Vukovich *et al.*, 2001a). Por outro lado, na maioria dos trabalhos em que atletas ou indivíduos bem treinados foram estudados, nenhum benefício da suplementação foi observado (Kreider *et al.*, 1999; Kreider *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2009; O'Connor & Cowe, 2006; Ransone *et al.*, 2003; Slater *et al.*, 2001; McIntosh *et al.*, 2018).

Outra possível explicação por tal inconsistência seria o tipo de suplemento utilizado, na maioria das vezes, o HMB em forma de Sal de Cálcio (HMB-Ca). No entanto, um estudo recente foi realizado com indivíduos treinados (Wilson *et al.*, 2014), utilizando um tipo diferente de HMB, em forma de ácido livre (HMB-AL). Assim como ocorreu na maioria dos estudos anteriores com HMB, os participantes realizaram treinamento de força durante todo o período experimental, em paralelo à suplementação. Após 12 semanas de treinamento associado à suplementação, o grupo HMB apresentou ganhos expressivos de força e massa muscular, com incrementos de massa magra da ordem de 7 kg, em média, representando cerca de 3 vezes o aumento experimentado pelo grupo placebo ($p=0,001$) (Wilson *et al.*, 2014).

Esse estudo foi um dos únicos a demonstrar a eficácia da suplementação de HMB-AL em potencializar os ganhos de força e massa muscular induzidos pelo treinamento de força em indivíduos bem treinados. Uma das possíveis explicações para resultados é

justamente o tipo de suplemento utilizado. Estudos de cinética de absorção e biodisponibilidade demonstraram que o HMB-AL é mais biodisponível do que na forma sal de cálcio, mesmo quando administrados em conjunto com água (Fuller *et al.*, 2015), resultando em pico plasmático mais elevado, maior tempo de elevação plasmática, além da consequente maior área abaixo da curva (Fuller *et al.*, 2010). Ainda, a perda de HMB na urina foi idêntica entre as duas formas de suplemento, indicando maior retenção corporal do HMB em sua forma ácido livre (Fuller *et al.*, 2010). Especula-se que a maior magnitude do pico plasmático de HMB pode potencializar os já demonstrados efeitos do HMB em estimular de síntese proteica muscular (Wilson *et al.*, 2014; Fuller *et al.*, 2010).

Mais recentemente, o mesmo grupo (Lowery *et al.*, 2016) publicou outro estudo com sujeitos bem treinados submetidos a 12 semanas de treinamento de força periodizado, seguindo o mesmo modelo do estudo de Wilson *et al.* (2014). No entanto, além de consumir o HMB, os participantes também suplementaram com ATP (adenosina-5'-trifosfato). A exemplo do que observado no trabalho de 2014, os resultados desse estudo são igualmente surpreendentes; o grupo que tomou HMB e ATP teve um aumento médio de aproximadamente 9kg de massa muscular, enquanto o grupo placebo aumentou 2,1kg em média. Novamente, as explicações para isso permeiam o modelo de treinamento e a possível ação do HMB no dano muscular e no processo de recuperação.

Sendo assim, tendo como base a controvérsia existente na literatura a respeito da eficácia da suplementação do HMB-Ca e HMB-AL em potencializar as respostas ao treinamento de força em indivíduos treinados, o presente projeto de pesquisa teve como objetivo comparar as respostas de força e hipertrofia musculares de sujeitos treinados

suplementados com HMB-Ca, HMB-AL ou placebo submetidos a um programa de treinamento de força.

2) OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, em indivíduos adultos e previamente adaptados ao treinamento de força, a eficácia da suplementação crônica de HMB-Ca e HMB-AL em potencializar os ganhos de força e massa muscular após 12 semanas de treinamento de força.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar o efeito da suplementação crônica de HMB-AL e HMB-Ca no ganho de força muscular em indivíduos treinados submetidos a 12 semanas de treinamento de força.
- Investigar o efeito da suplementação crônica de HMB-AL e HMB-Ca na composição corporal de indivíduos treinados submetidos a 12 semanas de treinamento de força.
- Investigar o efeito da suplementação crônica HMB-AL e HMB-Ca na hipertrofia muscular de indivíduos treinados submetidos a 12 semanas de treinamento de força

3) REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Adaptações ao Treinamento de Força.

O treinamento de força (TF) e seus efeitos sobre a saúde e o desempenho físico têm recebido bastante atenção da comunidade científica nos últimos anos. Estudos têm consistentemente demonstrado que diferentes modelos de TF são capazes de promover ganhos de força e massa muscular (Abe *et al.*, 2000; Kraemer *et al.*, 2002), o que contribui positivamente para o rendimento esportivo (Storen *et al.*, 2008), desempenho físico (Kraemer *et al.*, 2002) e, além disso, para o aumento da expectativa e da qualidade de vida (Pollock *et al.*, 2000; Braith *et al.*, 2006).

Está bem descrito que o aumento de força e a hipertrofia muscular observados em resposta ao TF dependem majoritariamente de adaptações de cunho neural e estrutural. As adaptações neurais, comumente associadas com os períodos iniciais do treinamento, envolvem melhoras no padrão de ativação e recrutamento de unidades motoras (Jung *et al.*, 2003), bem como no melhor equilíbrio na ativação de grupamentos musculares com ação agonista e antagonista (Hakkinen *et al.*, 1985). Isso contribui para um melhor recrutamento e sincronização dessas unidades motoras, melhor atividade reflexa e melhora no ciclo de alongamento e encurtamento (Sale *et al.*, 1988; Aagard *et al.*, 2002). Somadas, todas essas adaptações contribuem para o aumento da força muscular independente de ganhos de massa muscular. Estudos têm observado que

protocolos de treinos relativamente curtos (6 semanas) são capazes de resultar em aumentos observáveis de força, reforçando que essas adaptações ocorrem ainda na fase inicial do treino, momento em que adaptações morfológicas e estruturais ainda são pequenas e frequentemente não observáveis pelos métodos atuais de investigação (Rutherford *et al.*, 1986; Hakkinen *et al.*, 2003; Munn *et al.*, 2005).

As adaptações estruturais, por sua vez, manifestam-se predominantemente após período inicial com alterações da morfologia e arquitetura dos músculos. Dentre as principais mudanças estão o aumento na área de secção transversa e aumento na área e comprimento das fibras musculares (Hakkinen *et al.*, 2003; Seynes *et al.*, 2007; Reeves *et al.*, 2009). É sabido que o TF é capaz de aumentar a área de secção transversa dos grupos musculares treinados. Tais adaptações parecem ocorrer de forma semelhante para diversos modelos de treinamento. Por exemplo, com o objetivo de identificar se diferentes intensidades de treinamento contribuíam para a hipertrofia muscular, Holm *et al.* (2008) conduziram um estudo com dois protocolos de treinamento de força em homens sedentários por 12 semanas, um com cargas inferiores a 20% de uma repetição máxima (1RM) e outro com cargas acima de 70% de 1RM. Ao final dos protocolos de treinamento, os autores observaram que ambos os grupos apresentaram aumento nos valores da área de secção transversa da musculatura. Dessa forma é possível entender que o treinamento realizado de forma sistematizada resultou em hipertrofia, mesmo com cargas mais baixas (Mitchell *et al.*, 2012; Schoenfeld *et al.*, 2014). De forma similar, para indivíduos treinados, o aumento da área de secção transversa também ocorre após período de TF . Por exemplo, Seynes e colaboradores (2007) ao submeterem atletas com alto nível competitivo, a um programa de TF com intensidade alta, constataram após um

curto período de treinamento realizado de forma sistemática, melhora nos valores de hipertrofia muscular. Esses atletas apresentaram aumento na área de secção transversa do músculo da coxa, mais especificamente do quadríceps, de aproximadamente 7%. Assim, mesmo para atletas com experiência em treinamento físico, o TF aplicado sistematicamente pode contribuir para hipertrofia muscular.

Coletivamente os estudos apresentados demonstram que o TF realizado de forma sistematizada pode contribuir para ganhos em força e hipertrofia muscular, tanto para atletas como para indivíduos sem experiência prévia (Peterson *et al.*, 2004; Krieger, 2010). Em adição, a literatura apresenta diferentes estratégias nutricionais, incluindo suplementação nutricional, com objetivo de auxiliar nas respostas ao TF (Cermak *et al.*, 2012; Hulmi *et al.*, 2015; Pasiakos *et al.*, 2015). Dentre tantas estratégias, destaca-se a suplementação com HMB.

3.2 Absorção de HMB

A literatura apresenta poucas investigações e algumas inconsistências sobre a biodisponibilidade do HMB. O estudo de Fuller *et al.* (2010) demonstrou que a administração oral ou sublingual de HMB-AL resultou em maiores e mais rápidos picos plasmáticos de HMB comparados com a administração do CaHMB, sem mudanças significantes nas perdas urinárias do metabólito, indicando maior retenção do suplemento no organismo. Os dados desse estudo suportam a ideia de que há uma velocidade maior de absorção da forma de ácido livre comparado com a forma em sal de cálcio, ocorrendo a absorção da primeira forma, mais provavelmente nos sítios proximais do trato

gastrointestinal, favorecendo a absorção de compostos hidrofílicos na mucosa sublingual e compostos ácidos no estômago (Gupta *et al.*, 2009; Madhav *et al.*, 2009). Por outro lado, há a ideia de que a absorção de HMB-Ca ocorre numa região mais distal no duodeno e proximal no jejuno, onde a absorção de cálcio ocorre (Boullion *et al.*, 2003).

Em contrapartida, no exame de permeabilidade do estudo de Shreeram *et al.* (2014), realizado numa membrana artificial, ambas formas do suplemento (HMB-AL e CaHMB) demonstraram alta permeabilidade passiva através da bicamada lipídica, sendo similar a moléculas altamente permeáveis, como a testosterona. Isso sugere que ambas as formas podem atravessar as membranas intestinais para alcançar a circulação sanguínea e elevar as concentrações plasmáticas de HMB após a administração oral. Isso também sugere que o HMB pode ser captado pelos tecidos para ser metabolizado. Neste mesmo estudo, no exame de capacidade de ligação às proteínas plasmáticas, ambas as formas demonstraram ser desvinculadas de proteínas plasmáticas, indicando que o HMB é transportado de forma livre, podendo ser mais disponível para a rápida distribuição aos tecidos. No estudo de Sheeram *et al.* (2014), o tempo para atingir o pico plasmático foi similar entre as duas formas de HMB, sugerindo que estes dois tipos são absorvidos de forma igual no trato gastrointestinal, e que os mecanismos pós-absortivos contribuem para a maior concentração plasmática de CaHMB em relação ao HMB-AL, que foi o resultado principal do estudo.

Estudos demonstram que a cinética de suplementos pode ser alterada pelo perfil de macronutrientes da dieta (Green *et al.*, 1996). O mesmo é válido para a suplementação de HMB. O estudo de Vukovich *et al.* (2001b) demonstrou que a ingestão de glicose

junto com HMB altera a cinética do metabólito diminuindo o pico da concentração plasmática, o tempo para alcançar este pico, o acúmulo de HMB na urina e aumentando a meia-vida, talvez pelo fato de aumentar o tempo para ocorrer o esvaziamento gástrico. Isso reforça o conceito de que os macronutrientes e as fibras alimentares da dieta podem interferir na absorção e excreção de HMB. Todavia, ainda não se sabe se o menor acúmulo de HMB na urina está relacionado com uma maior retenção de HMB nos tecidos ou com uma redução da absorção do metabólito no trato gastrointestinal.

3.3 Metabolismo de HMB

O HMB é um ácido carboxílico produzido endogenamente via metabolização do aminoácido leucina. Nas células musculares, tanto no citosol quanto na mitocôndria, a leucina sofre transaminação pela enzima BCAA-transferase, gerando glutamato e alfa-cetoisocaproato (KIC) (Nissen *et al.*, 1997). Majoritariamente, a oxidação do KIC acontece no fígado (Nissen *et al.*, 1997). Na mitocôndria dos hepatócitos, o KIC é oxidado irreversivelmente a isovaleril-CoA pela enzima cetoácido de cadeia ramificada desidrogenase (BCKAD). Este catabolismo acaba gerando outros metabólitos (figura 1), levando à formação de beta-hidroxi-beta-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), gerando, por fim, acetoacetato e acetil-CoA ainda dentro da mitocôndria. Existe uma alternativa no metabolismo da leucina/KIC, na qual o KIC é oxidado em HMB no citosol dos hepatócitos, e possivelmente em outros tecidos também, pela enzima KIC dioxigenase, que é responsável pela oxidação de 5% a 10% do KIC do fígado (Nissen *et al.*, 1997).

O principal destino metabólico do HMB parece ser a sua conversão para HMG-CoA a partir da desidratação para beta-metil-crotonil-CoA (MC-CoA) ou direta carboxilação para HMG-CoA em alguns tecidos, onde servem como fonte de carbonos para a síntese de colesterol. Cerca de 10% a 40% do HMB são excretados na urina (Nissen *et al.*, 1997; Shreeram *et al.*, 2014). Postula-se que o HMG-CoA citosólico produzido por HMB poderia ser fornecido como substrato para a enzima HMG-CoA redutase, que está relacionada a uma etapa importante na síntese de colesterol, que é necessário para a manutenção da integridade da célula, porém ainda não se sabe ao certo qual a porcentagem do carbono do colesterol deriva do HMB, e também como esta via afeta a síntese e degradação proteica (Nissen *et al.*, 1997; Vukovich *et al.*, 2001b).

Figua 1 – Metabolismo simplificado de leucina, alfa-cetoisocaproato (KIC) e beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB) em mamíferos. Adaptado de Zanchi *et al.*, 2011

3.4 Mecanismos de ação da suplementação de HMB

Evidências sugerem que o aumento de força e massa magra proporcionados pela suplementação de HMB é decorrente tanto da diminuição da proteólise muscular quanto da otimização da reparação das microlesões musculares induzidas pelo treinamento de força (Silva *et al.*, 2017). Cabe ressaltar que o conteúdo de proteína tecidual é o saldo das taxas de síntese e degradação proteicas e, desse modo, a hipertrofia muscular reflete um aumento da síntese proteica, uma diminuição da degradação, ou a combinação de ambos (Wilkinson *et al.*, 2013).

Um dos possíveis mecanismos de ação do HMB estaria relacionado à melhora da integridade celular por meio da maior disponibilidade de colesterol, obtido a partir dos precursores fornecidos pelo HMB (Zanchi *et al.*, 2011). De acordo com essa teoria, uma célula muscular danificada pode não ter a capacidade de produzir quantidades adequadas de colesterol para as funções celulares, como a regeneração das membranas lesadas (Zanchi *et al.*, 2011). O colesterol é formado a partir de acetil-CoA; o ponto limitante de sua síntese, reação catalisada pela enzima HMG-CoA redutase, é a formação do precursor do colesterol ácido mevalônico, a partir do HMG-CoA. A maior parte do HMB é metabolizada pela enzima HMG-CoA redutase. Portanto, o aumento da concentração muscular de HMB pode proporcionar substratos prontamente disponíveis necessários para a síntese do colesterol para formar e estabilizar o sarcolema (figura 2) (Wilson, GJ *et al.*, 2008).

Outra hipótese que poderia explicar os efeitos ergogênicos do HMB seria através da ativação da via da mTOR (do inglês, *mammalian target of rapamycin*). Ainda que os mecanismos não estejam totalmente elucidados, acredita-se que o HMB aumenta a

fosforilação de substratos proteicos da via, resultando no aumento de proteínas miofibrilares, seriam eles, 4EBP - 1 e p70S6K. (Zanchi *et al.*, 2011). Em culturas de células musculares, Eley e colaboradores (2007) observaram aumento de síntese proteica após incubação de HMB. Esse desfecho foi correlacionado positivamente com aumento da fosforilação da mTOR e dos dois substratos citados anteriormente.

A terceira hipótese que explicaria os efeitos do HMB reside em sua capacidade de interferir no sistema de proteólise denominado ubiquitina-proteassoma, podendo levar à redução do catabolismo proteico muscular (Wilson, GJ *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2005). O sistema ubiquitina-proteassoma tem sua atividade aumentada em condições de atrofia muscular, e algumas condições associadas ao exercício físico (Wilson, GJ *et al.*, 2008). A eficácia do HMB tem sido demonstrada em estados de catabolismo induzido por doenças e exercício, indicando que opera interferindo a transdução do sinal intracelular por fator de indução de proteólise, que conduz a um aumento da atividade do proteassoma (Smith *et al.*, 2005). Alguns estudos que utilizaram a rapamicina para verificar o mecanismo de síntese proteica do HMB indicam ação direta ou indireta por meio do mTOR (Wilson, GJ *et al.*, 2008).

Figura 2 – Modelo proposto para exemplificar três hipóteses sobre o mecanismo de ação do HMB. A saber, aumento da disponibilidade de colesterol, estímulo da via de síntese proteica relacionada a mTOR e inibição da via ubiquitina-proteassoma.

3.5 Efeitos da suplementação de HMB

A suplementação de HMB associada ao treinamento de força resulta nos seguintes efeitos, os quais contribuem para o estado anabólico das células musculares: inibição do catabolismo proteico nas células musculares, provavelmente por interferir na sinalização da via proteolítica ubiquitina-proteassoma (Nissen *et al.*, 1997; Wilkinson *et al.*, 2013; Holecek *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005; Nissen *et al.*, 1996); diminuição dos danos musculares induzidos pelo exercício, talvez pela produção de HMG-CoA, e posteriormente aumentando a disponibilidade de colesterol para manter a integridade das células musculares (Nissen *et al.*, 1997; Tirapegui *et al.*, 2013; Holecek *et al.*, 2008; Panton *et al.*, 2000; Nissen *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 2014; Jowko *et al.*, 2001); estímulo da sinalização anabólica via mTOR e síntese proteica nos músculos e alguns tecidos (Wilkinson *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2005; Wilson *et al.*, 2014). Há também estudos que mostram que a síntese e o catabolismo proteicos são diminuídos, enquanto a síntese proteica aumenta (Holecek *et al.*, 2008). Outros estudos ainda demonstram que a suplementação de HMB aumenta a força muscular, o que indiretamente poderia levar à potencialização da hipertrofia muscular em pessoas submetidas a treinamento de força (Nissen *et al.*, 1997; Panton *et al.*, 2000; Nissen *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 2014; Stout *et al.*, 2013; Jowko *et al.*, 2001).

Alguns estudos também apontam outros efeitos, além dos relacionados ao metabolismo proteico das células musculares, como a diminuição do LDL-colesterol plasmático (Nissen *et al.*, 1997; Nissen *et al.*, 2000), perda de gordura corporal (Panton *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2014; Stout *et al.*, 2013; Vukovich *et al.*, 2001a) e a melhora da função imunológica (Nissen *et al.*, 1997).

4) MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Participantes

63 indivíduos se voluntariaram para fazer parte do estudo. Após as avaliações iniciais, 18 indivíduos foram excluídos por não preencherem os critérios de inclusão. Sendo assim, 45 indivíduos do sexo masculino, com idade entre 18 e 40 anos foram selecionados para o projeto. Eles foram divididos randomicamente em três grupos: HMB-AL (n=15), HMB-Ca (n=15) e Placebo (n=15), conforme mostra figura 3. Foram considerados treinados aqueles que estiveram ativamente envolvidos em treinamento de força por, pelo menos, 6 meses, com volume mínimo de 3 sessões ou 90 minutos por semana e que fossem capazes de realizar uma repetição máxima com carga igual 4 vezes ou mais seu peso corporal para Leg press, e 1,1 vezes ou mais seu peso corporal para supino. Os critérios de exclusão foram: tabagismo; uso prévio ou corrente de esteroides androgênicos anabólicos; uso de creatina nos 3 últimos meses que antecederam o início da participação; presença de doença infecciosa nos últimos dois meses; uso crônico ou agudo, nas 4 semanas que antecederam o início do estudo, de

fármacos com ação anti-inflamatória; presença de doenças que impossibilitem a realização do treinamento ou dos testes físicos. Todos os participantes foram orientados a evitar consumo não usual de cafeína durante o período do estudo. O fluxograma de participantes está apresentado na figura 3. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Educação Física e Esporte da USP e todos os participantes assinaram o termo de consentimento (056070/2015).

Figura 3. Fluxograma dos participantes

4.2 Desenho experimental

O presente estudo adotou o delineamento randomizado, duplo-cego, de grupos paralelos, controlado por placebo. O desenho experimental está apresentado na Figura 4. A intervenção consistiu em um programa supervisionado de treinamento de força combinado com a suplementação de HMB-AL, HMB-Ca ou placebo. A duração do treinamento e da suplementação foi de 12 semanas. Os indivíduos foram submetidos a

uma bateria de avaliações nos períodos PRÉ e PÓS intervenção, quando foram avaliadas força máxima dinâmica (1RM), contração voluntária máxima, composição corporal, área de secção transversa e dor muscular. Vinte e quatro e 48 horas após a primeira e a última sessão de treino, foi realizado novamente teste de contração voluntária máxima e avaliada a sensação de dor muscular tardia.

Figura 4 – Desenho experimental do estudo

4.3 Protocolo de suplementação

O período de suplementação foi de 12 semanas, durante as quais os participantes ingeriram HMB-AL (3g.dia⁻¹, Metabolic Technologies, Inc[®], Iowa, USA), HMB-Ca (3 g.dia⁻¹, MuscleTech[®], Oakville, Canada) ou placebo (amido de milho). A dose diária total do suplemento foi dividida em três doses de 1g, que correspondeu a um total de 6

cápsulas por dia, devendo duas delas serem ingeridas 30 minutos antes do treino e as outras durante as refeições principais do dia (almoço e jantar), conforme adotado em estudos anteriores (Krieder *et al.*, 1996; Gallagher *et al.*, 2000; Wilson *et al.* 2014). Nos dias em que não houve treino, os participantes foram orientados a ingerir as 3 doses junto a três grandes refeições (ex.: café-da-manhã, almoço e jantar). Os suplementos foram administrados em cápsulas gelatinosas, todas idênticas em sua aparência. Os participantes fizeram um registro diário do consumo das doses, para que pudessemos ter melhor controle sobre a aderência à suplementação.

4.4 Protocolo de treinamento

O período de treinamento teve duração total de 12 semanas, sendo realizado em paralelo à suplementação. Para os três grupos, as sessões de treino foram realizadas 2 vezes por semana. Cada sessão de treino foi composta por 6 exercícios que contemplassem os principais grupos musculares de membros superiores e inferiores, a saber: agachamento, *leg-press* 45° C, supino reto na barra guiada, *pulley* anterior pronado aberto, desenvolvimento anterior e tríceps *pulley*. Os sujeitos tiveram seus horários de treino padronizados, ou seja, se o primeiro treino era realizado no período da tarde, todos os demais treinos eram realizados no mesmo horário, assim como os testes de força.

O treinamento foi progressivo, respeitando os princípios da sobrecarga e da individualidade biológica e seguiu as recomendações propostas pelo American College of Sports Medicine (ACSM, 2009). O modelo de periodização utilizado durante o protocolo de treinamento foi não linear, no qual os voluntários realizaram uma sessão de

treinamento com um volume alto (aproximadamente 32 repetições por exercício) e uma sessão de treinamento com volume um pouco menor (aproximadamente 30 repetições por exercício). Todas as séries de todos os exercícios foram realizadas em alta intensidade, a qual foi controlada mediante a utilização da escala de percepção de esforço (com valores entre 9-10), sendo que a carga foi constantemente ajustada para isso ocorresse dentro das repetições pré-determinadas para a sessão. Para tanto, as cargas de cada exercício foram registradas para cada série e a cada sessão o ajuste era realizado conforme necessidade.

4.5 Avaliação da Composição Corporal

Os voluntários foram pesados em uma balança eletrônica com precisão de 100 g (Filizola, São Paulo, Brasil). A estatura foi determinada na posição em pé, com auxílio de estadiômetro de prancha. A composição corporal, incluindo os percentuais de massa de gordura e massa muscular, foi avaliada por densitometria de dupla emissão com fonte de raios X (DXA), utilizando o Lunar iDXA (Ge Hologic Inc., Bedford, MA, USA). Para a realização deste procedimento, os participantes ficaram em decúbito dorsal, permanecendo em repouso durante a realização do exame. Todas as avaliações foram realizadas por apenas um técnico habilitado com experiência prévia do protocolo no Laboratório de Metabolismo Ósseo, da Faculdade de Medicina da USP.

4.6 Avaliação da força dinâmica máxima

A avaliação da força dinâmica máxima (1-RM) foi realizada nos exercícios *leg-press* e supino. Os exercícios foram realizados em equipamento do tipo Smith-Machine (Cybex, Massachussets, EUA). Para o *leg-press*, o movimento iniciava-se com os joelhos estendidos; os indivíduos então flexionavam os joelhos até que atingissem o ângulo de 90°. O grau de flexão de joelho foi controlado visualmente com o auxílio de uma fita métrica posicionada no trilho do equipamento, fornecendo retorno verbal aos sujeitos sobre sua execução. Para membros superiores, a força dinâmica máxima foi avaliada no exercício supino reto. O exercício foi realizado em uma máquina do tipo “Smith” (Cybex, Massachussets, EUA), com o movimento sendo iniciado com os cotovelos estendidos. Os indivíduos deveriam flexionar os cotovelos até que a barra tocasse o peito na altura do processo xifoide, quando a barra deveria, então, retornar à posição inicial.

Os testes de 1-RM seguiram os procedimentos propostos pela Sociedade Americana de Fisiologia do Exercício (Brown; Weir, 2001). Os participantes realizaram um aquecimento geral em esteira rolante (Movement Technology[®], São Paulo, Brasil) por 5 minutos a 9 km.h⁻¹, seguido por 5 minutos de alongamento de membros inferiores. Foram realizadas duas séries de aquecimento em cada exercício. A primeira foi de oito repetições com 50% de 1-RM (estimado na sessão de familiarização) e a segunda foi de três repetições com 70% de 1-RM (estimado na sessão de familiarização). Um intervalo de três minutos foi concedido entre as séries. Três minutos após o aquecimento os sujeitos realizaram até cinco tentativas (com três minutos de intervalo entre cada tentativa) a fim de se determinar a carga máxima para a execução de uma repetição do exercício *leg-press* e do supino (isto é, 1-RM). Ambos os testes foram conduzidos no mesmo dia, sempre no mesmo período do dia e na mesma ordem, sendo respeitado

intervalo de 20 minutos entre os testes de membros inferiores e superiores. Foi dado forte encorajamento verbal durante os testes.

4.7 Avaliação da força isométrica máxima

O teste de contração voluntária isométrica máxima (CVIM) dos músculos extensores de joelho (quadríceps) foi realizado para obtenção do torque máximo. Para tanto, os voluntários permaneceram sentados em uma cadeira extensora, que faz parte do dinamômetro isocinético (Biodex System 3, Biomedical Systems®, Newark, CA, USA), com 2 cintos fixando o tronco, um cinto fixando o quadril e um cinto fixando o tornozelo. O centro de rotação do joelho da perna dominante foi alinhado com o centro de rotação do braço do aparelho, com posição final do quadril e joelho em, respectivamente, 90° e 60°. O pico de torque produzido na articulação do joelho do voluntário foi obtido através de *biofeedback* do programa acoplado ao sistema do dinamômetro. Os voluntários foram induzidos a realizarem duas tentativas, com três minutos de intervalo entre cada uma das tentativas, durante as tentativas os voluntários foram verbalmente encorajados a realizarem e manterem o máximo de força por alguns segundos.

4.8 Avaliação da área de secção transversa

Um ultrassom modo-B, com transdutor vetorial linear e frequência de 7,5 MHz (Philips, VMI, industry and commerce Ltda., Lagoa Santa, Brazil) foi utilizado para captar imagens no plano axial do músculo reto femoral de ambas as coxas. Ao chegarem,

os voluntários eram posicionados em decúbito dorsal, com os joelhos estendidos, por aproximadamente 20 minutos, proporcionando a drenagem dos excessos de fluídos da musculatura avaliada. Durante as medidas, os sujeitos foram instruídos a relaxar sua musculatura o máximo possível. Após devidamente posicionados, foi identificado epicôndilo lateral do fêmur por meio de palpação e a partir desse ponto foi demarcado com tinta semipermanente, o músculo reto femoral. A pele foi demarcada transversalmente (ângulo de 90° com o epicôndilo lateral da tíbia), a cada 2 cm para a realização das medidas. Orientado no plano axial, o transdutor foi alinhado perpendicularmente ao músculo e movido de uma posição central para uma posição lateral ao longo dos pontos previamente marcados na pele, sem que se exercesse pressão sobre o tecido nos pontos de medição. As imagens foram gravadas. Posteriormente, as imagens obtidas pelo ultrassom foram redirecionadas e sobrepostas a fim de reconstruir a área de secção transversa dos músculos reto femoral e vasto lateral. Por fim, a área de secção transversa foi calculada pelo software de digitalização de imagens de uso livre Madena 3.2.5 (EyePhysics, Los Paladinos, California, USA) (Lixandrao *et al.*, 2014).

Figura 5 – Representação da imagem do Vasto Lateral pela técnica de ultrassonografia.

4.9 Avaliação da dor muscular tardia

A dor muscular tardia foi avaliada por meio de uma escala de Likert específica para este fim, conforme previamente descrito (Magal *et al.*, 2010).

4.10 Avaliação do consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado em todos os participantes deste estudo por meio de recordatórios alimentares de 24 horas realizados em três dias não consecutivos (dois dias durante a semana e um dia durante o fim de semana). O recordatório alimentar de 24 horas consistiu em listar todas as bebidas e comidas consumidas durante as 24 horas anteriores ao dia de treino. O consumo energético e de macronutrientes foi calculado pelo programa de avaliação nutricional Dietpro (São Paulo, Brasil).

4.11 Análise Estatística

Os dados estão apresentados em média e desvio padrão. Foi realizada ANOVA one-way para comparação entre os grupos no momento pré intervenção. Para avaliar os efeitos da suplementação nas variáveis avaliadas, foram conduzidas análises de modelos mistos. Tempo (pré e pós) e tratamento (HMB-AL, HMB-Ca e placebo) foram fatores fixos, e os sujeitos foram fatores aleatórios. Análises de contraste com grau de liberdade único foram conduzidas para comparações específicas guiadas por hipótese. Valores de delta pós-pré foram calculados e comparados entre grupos por meio de ANOVA one-way. Todas as análises foram feitas com o auxílio do software SAS 9.3 e o nível de

significância adotado foi de 5%. Diferenças marginalmente significantes foram consideradas quando $p < 0,1$.

5) RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para idade, massa corporal, estatura, porcentagem de gordura, força máxima e tempo de treino no período pré intervenção (Tabela 1).

Tabela 1. Características de idade, altura, peso corporal, IMC e gasto energético das participantes

	HMB-AL (média $\pm$ DP)	HMB-Ca (média $\pm$ DP)	Placebo (média $\pm$ DP)	ANOVA One-way p-valor
Idade (anos)	26 $\pm$ 2	27 $\pm$ 5	24 $\pm$ 3	p=0,89
Massa (kg)	84,5 $\pm$ 11,8	84,7 $\pm$ 7,4	85,7 $\pm$ 10,2	p=0,33
Estatura (cm)	178,0 $\pm$ 7,4	174,9 $\pm$ 6,0	175,4 $\pm$ 7,1	p=0,68
Gordura (%)	18,6 $\pm$ 2,2	18,9 $\pm$ 6,4	21,9 $\pm$ 4,6	p=0,63
1 RM <i>leg press</i> (kg)	394,8 $\pm$ 55,5	374,0 $\pm$ 51,5	387,0 $\pm$ 36,0	p=0,84
1 RM supino (kg)	100,7 $\pm$ 14,0	95,7 $\pm$ 13,5	101,0 $\pm$ 15,5	p=0,42
Experiência em treino de força (anos)	6,4 $\pm$ 3,5	6,2 $\pm$ 7,3	5,3 $\pm$ 2,3	p=0,93

De maneira semelhante, não foi encontrado efeito de tempo ($p=0,42$) no consumo energético e nem houve diferença entre os grupos apresentados, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Consumo Alimentar Pré e Pós intervenção

	HMB- AL		HMB-Ca		Placebo		Interação Grupo*Tempo p-valor
	(média ± DP)		(média ± DP)		(média ± DP)		
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	
Consumo Energético (kcal/Kg)	30,0 ± 4,7	30,5 ± 3,7	31,0 ± 2,1	31,0 ± 2.1	31,7 ± 2,8	32,0 ± 3,3	p=0,95
Consumo de CHO (g/Kg)	4,3 ± 0,7	4,4 ± 0,7	4,1 ± 1,0	3,8 ± 0,7	3,9 ± 0,8	4,1 ± 0,7	p=0,98
Consumo Proteico (g/Kg)	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,3	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2	p=0,71
Consumo de Lipideos (g/Kg)	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,6	p=0,78

5.2 Carga total de treino

Conforme esperado, o volume de treino aumentou após período de treinamento em todos os grupos ($p < 0,0001$), contudo essa variável não foi afetada por nenhum dos tratamentos (HMB-AL: 0,92; HMB-Ca: $p=0,91$). A carga total de treino foi calculada a partir da equação: Carga total semanal = Carga da sessão 1 + Carga da sessão 2; Carga da sessão = série x repetições x peso levantado

Tabela 3. Carga Total de Treino monitorado (tonelagem) para Leg Press e Supino.

	<i>Leg Press (kg)</i>			<i>Supino (kg)</i>		
	1ª semana	4ª semana	8ª semana	1ª semana	4ª semana	8ª semana
HMB-Al						
Média	13033,3	18560,0	20038,7	2991,0	3273,3	3542,7
(DP)	(4080,5)	(9623,1)	(3720,6)	(470,1)	(604,0)	(604,0)
HMB-Ca						
Média	14321,5	17655,4	20401,8	2889,6	3025,8	3306,9
(DP)	(1789,4)	(2864,5)	(2690,5)	(394,7)	(692,3)	(764,0)
Placebo						
Média	12121,3	14524,0	18142,7	2814,7	3244,0	3579,0
(DP)	(3580,9)	(4576,9)	(5526,7)	(429,8)	(422,2)	(525,9)

5.3 Composição Corporal

Nenhum dos grupos apresentou alteração de massa corporal estatisticamente significativa ao longo do estudo. Todos os grupos aumentaram massa magra após período de treino de força (efeito principal de tempo: $p < 0,0001$). Entretanto, uma tendência pôde ser observada quando comparado efeito de grupo e tempo (interação grupo*tempo: $p = 0,09$). O grupo que tomou HMB-AL teve um aumento que tendeu a ser maior em relação ao grupo que tomou HMB-Ca ($p = 0,07$, análise de contraste) e significativamente maior que o grupo placebo ($p = 0,03$, análise de contraste). Não houve diferença entre o grupo HMB-Ca e placebo, conforme mostra Figura 6. Um dos sujeitos do grupo HMB-AL apresentou aumento muito grande de massa corporal (+ 8kg da massa muscular). Por esse, motivo as análises foram refeitas excluindo-se esse *outlier*.

Na figura 7, estão apresentados os resultados de composição corporal excluindo os valores desse outlier. Nesse cenário, nenhuma diferença estatisticamente significativa aparece em comparação dos grupos ($p=0,55$, interação grupo*tempo). Massa corporal e massa de gordura, também não apresentam interação Grupo*Tempo ($p=0,85$ e $p=0,84$, respectivamente).

Figura 6. A) Massa corporal B) Massa de gordura e C) Massa muscular antes e depois do período de treinamento com os respectivos valores de Delta
a – Efeito de interação grupo*tempo
b - Diferença entre HMB-AL vs, HMB-Ca ($p=0,06$)
c - Diferença entre HMB-AL vs. Placebo ($p=0,03$)

Figura 7. A) Massa corporal B) Massa de gordura e C) Massa muscular antes e depois do período de treinamento com os respectivos valores de Delta excluído o valor de outlier.

5.4 Força Dinâmica Máxima

5.4.1 Supino

Foi encontrado efeito principal de tempo para força dinâmica máxima ($p < 0,0001$), contudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,14$, interação grupo*tempo), conforme mostra figura 7.

Figura 7. Resultados de 1RM de supino ante e depois do período de treinamento

5.4.2 Leg Press

Todos os grupos aumentaram força dinâmica máxima no exercício de Leg press após período de treino de força (efeito principal de tempo; $p < 0,0001$). O grupo que tomou HMB-AL teve um efeito positivo no ganho de força em relação ao grupo que tomou HMB-Ca ($p = 0,02$, HMB-AL vs HMB-Ca) e placebo ($p = 0,03$, HMB-AL vs placebo). Não houve diferença entre o grupo HMB-Ca e placebo, conforme mostra figura 8.

Figura 8. Resultados de 1RM de Leg press ante e depois do período de treinamento
a – Efeito de interação grupo*tempo
b- Diferença entre HMB-AL vs, HMB-Ca ($p=0,03$)
c- Diferença entre HMB-AL vs. Placebo ($p=0,02$)

5.5 Contração Voluntária máxima

Todos os grupos apresentaram efeito de tempo em relação a força dinâmica máxima ($p<0,0001$), contudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,42$), conforme ilustrado na Figura 9.

Figura 9. Resultados de CVM antes da primeira e última sessão de treino

5.6 Área de Secção Transversa

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes na área de secção transversa, entre os grupos ($p=0,32$), bem como não foi encontrado efeito de tempo na área de secção transversa dos indivíduos submetidos à intervenção ($p=0,27$), conforme mostra a tabela 4.

Tabela 4. Área de Secção Transversa do Músculo Vasto Lateral

	HMB- Al		HMB-Ca		Placebo		Interação Grupo*Tempo p-valor
	(média ± DP)		(média ± DP)		(média ± DP)		
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	
Area do Vasto Lateral (cm²)	29,7 ± 8,1	33,6 ± 6,8	31,2 ± 5,5	32,4 ± 5,3	31,5 ± 3,9	31,8 ± 4,1	p=0,33

5.7 Função Muscular

Os resultados de CVM e dor muscular tardia e 24hs e 48hs após a primeira e última sessão de treino estão apresentados nas tabelas 5 e 6, a seguir. Não foram encontradas diferenças entre os grupos nos períodos de 24hs ($p=0,79$; $p=0,86$) e 48h ($p=0,66$; $p=0,40$) após a primeira e última sessão respectivamente para dor, assim como para CVM ($p=0,94$; $p=0,92$; $p=0,94$; $p=0,92$).

Tabela 5. Valores da Escala de Dor Muscular Tardia

	HMB- AL		HMB-Ca		Placebo		Efeito principal de tempo p-valor
	(média ± DP)		(média ± DP)		(média ± DP)		
	24 h	48h	24h	48h	24h	48h	
Pós 1a sessão	4,6 ± 1,5	6,2 ± 1,1	3,5 ± 1,7	6,1 ± 2,2	3,6 ± 1,2	6,3 ± 1,4	p=0,03
Pós última sessão de treino	3,8 ± 1,3	4,8 ± 0,9	3,3 ± 1,6	5,4 ± 1,4	3,2 ± 1,9	5,5 ± 1,2	p=0,02

Tabela 6. Valores da Contração Voluntária Máxima (Nm)

	HMB- AL		HMB-Ca		Placebo	
	(média ± DP)		(média ± DP)		(média ± DP)	
	24 h	48h	24h	48h	24h	48h
Pós 1ª sessão	159,4 ± 51,5	71,2 ± 43,9	167,2 ± 33,4	107,2 ± 56,2	173,8 ± 67,2	104,5 ± 40,5
Pós última sessão de treino	221 ^a ± 44,3	104,2 ± 40,9 ^b	216 ^a ± 43	102,3 ± 72,2 ^b	215,2 ^a ± 29,4	108,5 ± 81,2 ^b

^a Diferença vs 24hs após 1ª sessão (p<0,0001)^b Diferença vs 48hs após 1ª sessão

6) DISCUSSÃO

Este trabalho teve intuito de investigar o efeito da suplementação crônica de HMB-AL e HMB-Ca no ganho de força muscular, composição corporal e hipertrofia em indivíduos treinados submetidos a 12 semanas de treinamento de força. De acordo com resultados de estudos anteriores, esperávamos observar otimização dos ganhos de força e hipertrofia com a suplementação de HMB-AL em relação a HMB-Ca e placebo.

Os principais resultados do presente estudo são: a) possível efeito positivo do HMB-AL na massa muscular de indivíduos treinados quando comparado ao HMB-Ca e efeito mais pronunciado quando comparado com as respostas do grupo placebo, b) efeito positivo no aumento de força dinâmica máxima no exercício Leg Press do suplemento HMB-AL em indivíduos treinados submetidos a treinamento de força quando comparado com HMB-Ca e placebo, c) Ausência de aumento de área de secção transversa entre os grupos após intervenção.

Diversas estratégias são utilizadas para otimizar os ganhos de massa muscular em indivíduos engajados em programas de treino de força, principalmente em indivíduos com experiência nesse tipo de treino. Dentre essas estratégias, a suplementação de HMB mostra-se controversa, com resultados pouco expressivos (Kreider *et al.*, 1999; Kreider *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2009; O'Connor & Cowe, 2006; Ransone *et al.*, 2003; Slater *et al.*, 2001; McIntosh *et al.*, 2018) e resultados positivos que se aproximam dos 8kg de massa muscular após 12 semanas de treino (Wilson *et al.*, 2014; Lowery *et al.*, 2016). Os resultados encontrados no presente estudo mostram um discreto aumento nos ganhos de massa magra com o uso de HMB-AL (aumento médio de 2,3kg em comparação a 1,4kg do grupo HMB-Ca e 1,3kg do grupo placebo; $p=0,07$; $ES=0,51$). É possível que tal resultado tenha sido, de fato, causado pelo tipo de suplemento utilizado, já que o HMB-AL parece ser mais biodisponível em humanos quando comparado na forma de sal de cálcio (Fuller *et al.*, 2015). Ainda assim, os efeitos do HMB-AL foram marginais do ponto de vista estatístico, e de magnitude consideravelmente pequena – resposta essa de certa forma esperada em indivíduos com experiência prévia em treinamento de força (Kilduff *et al.*, 2013; Law,

Y. L., 2009; Nunes et al., 2017; Ormsbee et al., 2015; Schmitz et al., 2010). Ainda, é muito provável que os efeitos estatisticamente marginais aqui encontrados tenham sido decorrentes de um único indivíduo que apresentou respostas absolutamente anormais de ganho de massa corporal (+X kg), o que indica que esse indivíduo esteve em superávit calórico durante o período do estudo. Ao removê-lo das análises, as diferenças tornam-se ainda menores, além não serem mais próximas da significância estatística. Logo, as evidências produzidas por este estudo para efeito positivo do HMB-AL na massa muscular são substancialmente fracas.

O aumento de força muscular é um resultado esperado após período de treinamento de força. Isso ocorre devido a uma combinação de ativação neural e adaptações estruturais que ocorrem no músculo esquelético (Schuenke *et al.*, 2012). Entretanto, o aumento de força em indivíduos já treinados parece ser limitado, em termos de magnitude, sendo necessário um estímulo mais intenso (Moritani and deVries, 1979; Moritani *et al.*, 1993). Outros estudos com populações treinadas encontraram aumento de força em membros que variaram de 10-12% para membros superiores e 10-20% para membros inferiores (Narclerio et al.; 2013 REF). Esses dados assemelham-se aos do presente estudo, já que a melhora média aqui observada foi de 13,5% em membros inferiores e 12,1% de membros superiores. O grupo que tomou HMB-AL teve melhora mais positiva de força em relação aos outros dois grupos para membros inferiores (14,8% vs 11% HMB-Ca e 8,9% placebo). O efeito positivo do HMB-AL foi demonstrado em estudos anteriores (Wilson *et al.*, 2014; Lowery *et.al*, 2016) para membros inferiores e superiores. O presente estudo, no entanto, encontrou resposta otimizada de força apenas em membros inferiores. Isso, pode ser explicado,

ainda que em parte, pelo volume de treino de membros inferiores que foi maior, e possivelmente pelo aumento de massa muscular no grupo HMB-AL.

Por sua vez, quando analisado os valores da força isométrica por meio da CVM, os resultados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Isso nos sugere que a suplementação de HMB, seja na forma ácido livre, ou sal de cálcio, não contribui com a melhora nos valores de uma variável associada a força muscular não específica à tarefa realizada.

Quando comparamos os resultados evidenciados da CVM após 24 e 48 horas comparando com os valores da escala de dor, conseguimos constatar que houve uma queda na função muscular em paralelo ao aumento da dor muscular tardia, sugerindo um processo de dano muscular causado pelo estresse do treino. Parte da justificativa do HMB-AL promover resultados positivos seria otimizando os processos de reparo tecidual causados por esse estresse (Wilson *et al.*, 2013). No entanto, o papel do dano muscular nas adaptações ao treinamento de força tem sido cada vez mais questionado (Schoenfeld *et al.*, 2012; Damas *et al.*, 2016), o que pode sugerir que o mecanismo do HMB-AL em otimizar o ganho de força e massa muscular possa estar relacionado apenas com as taxas de síntese proteica, ou de degradação proteica.

Faz-se importante apresentar as possíveis limitações do presente estudo. Inicialmente uma limitação que podemos destacar, seria o pequeno número amostral. Outra possível limitação é a ausência de análise de marcadores de síntese e degradação proteica, que poderiam enriquecer nossa hipótese sobre os mecanismos de ação do HMB-AL.

7) CONCLUSÃO

Após período de treino de força, os achados mostram um possível efeito do HMB-AL no aumento de massa muscular em indivíduos treinados e um aumento de força significativo para membros inferiores. Ainda que a biodisponibilidade desse suplemento pareça melhor, quando comparado com a forma sal de cálcio, os mecanismos propostos para explicar sua ação, são ainda muito incertos. É possível supor, também, que os efeitos sejam muito marginais e que um outlier esteja influenciando esses achados.

8) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aagard, P et al. *Increased rate of force development and neural drive of human skeletal muscle following resistance training*. J Appl Physiol; 93(4):1318-26 (2002).

Abe, T et al. *Time course for strength and muscle thickness changes following upper and lower body resistance training in men and women*. Eur J Appl Physiol ;81(3):174-180 (2000).

American College of Sports Medicine position stand. *Progression models in resistance training for healthy adults*. Med Sci Sports Exerc.; 41(3):687–708 (2009).

Aversa Z, et al. *β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) attenuates muscle and body weight loss in experimental cancer cachexia*. Int J Oncol. 38: 713–20 (2011).

Bartolomei S. et al. *Effect of Lower-Body Resistance Training on Upper-Body Strength Adaptation in Trained Men*. J Strength Cond Res 32(1);13-18 (2018).

Boullion R, et al. *Intestinal calcium absorption: molecular vitamin D mediated mechanisms*. J Cell Biochem.; 88, 332-339 (2003).

Braith R W, Stewart K J. *Resistance exercise training: its role in the prevention of cardiovascular disease*. Circulation; 13(22):2642-2650 (2006).

Brown, L E; Weir, J.P. *ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power*. Professionalization of Exercise Physiology (2001).

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; 96:1454–64 (2012).

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 (2016).

Durkalec-Michalski, K. et al. *The efficacy of a β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: a randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study*. J Int Soc Sports Nutr; 12-31 (2015).

Eley, H L et al. *Signaling pathways initiated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis in skeletal muscle in response to cachectic stimuli*. Am J Physiol Endocrinol Metab; 293:923–931 (2007).

Fuller, J C et al. *Free acid gel form of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt.* British Journal of Nutrition; 105, 367-372 (2010).

Fuller, J C et al. *Comparison of availability and plasma clearance rates of β -hydroxy- β -methylbutyrate delivery in the free acid and calcium salt forms.* Br J Nutr; 114(9):1403-9 (2005).

Gao, H. et al. *Simultaneous quantification of malonyl-CoA and several other short-chain acyl-CoAs in animal tissues by ion-pairing reversed-phase HPLC/MS.* J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.; 853(1-2):303-13 (2007).

Green, A L et al. *Carbohydrate ingestion augments creatine retention during creatine feeding in humans,* Acta Physiol. Scand., 195-202 (1996).

Gupta H., Bhandari D. & Sharma A. *Recent trends in oral drug delivery: a review.* Recent Pat Drug Deliv. Formul.; 3, 162-173 (2009).

Häkkinen K, Kallinen M, Izquierdo M, et al. *Changes in agonist-antagonist EMG, muscle CSA, and force during strength training in middle-aged and older people.* J Appl Physiol; 84(4):1341–1349 (1998).

Holm L, et al. *Changes in muscle size and MHC composition in response to resistance exercise with heavy and light loading intensity.* J Appl Physiol; 105(5):1454-61 (2008).

Hulmi, J J et al. *The effects of whey protein with or without carbohydrates on resistance training adaptations.* J Int Soc Sports Nutr; 12-48 (2015).

Itoh Y. et al. *Training at non-damaging intensities facilitates recovery from muscle atrophy*. Muscle Nerve (2016).

Jowko et al. *Creatine and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program*. Nutrition; 17:558-66 (2001).

Jung, A P. *The impact of resistance training on distance running performance*. Sports Med; 93(4):1318-26 (2003).

Kilduff, L. P. et al. *Effects of creatine on isometric bench-press performance in resistance-trained humans* Med Sci Sports Exerc.34(7):1176-83 (2003).

Kovarik M, Muthny T, Sispera L, Holecek. *Effects of b-hydroxy-bmethylbutyrate treatment in different types of skeletal muscle of intact and septic rats*. J Physiol Biochem. 66: 311–9 (2010).

Kraemer W J et al. *American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults*. Med Sci Sports Exerc;34(2):364-380 (2002).

Kreider R.B. et al. *Effects of calcium beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation during resistance-training on markers of catabolism, body composition and strength*. Int. J. Sports Med.; 20:503-509 (1999).

Kreider R.B., Ferreira M., Greenwood M., Wilson M., Grindstaff P., Plisk S., Reinardy J., Cantler C., Almada A.L. *Effects of calcium B-HMB supplementation*

during training on markers of catabolism, body composition, strength and sprint performance. *J Exerc Physiol*; 3(4):48-59 (2000).

Krieger, J W. *Single vs. multiple sets of resistance exercise for muscle hypertrophy: a meta-analysis.* *J Strength Cond Res*;24(4):1150-9 (2010).

Law, Y. L. et al. Effects of two and five days of creatine loading on muscular strength and anaerobic power in trained athletes. *J Strength Cond Res*; 23(3):906-14 (2009).

Lixandrão M. E. et al. *Vastus lateralis muscle cross-sectional area ultrasonography validity for image fitting in humans.* *J Strength Cond Res.* 28(11):3293-7 (2014)

Lynn B Panton et al. *Nutritional supplementation of the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) during resistance training.* Elsevier Science Inc., *Nutrition*; 16:734-739.(2000).

M Holecek,T Muthny, M Kovarik, L Sispera. *Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on protein metabolism in whole body and in selected tissues.* Elsevier Science Inc., *Food and Chemical Toxicology*; 255-259 (2008).

Madhav N.V., Shakya A.K., Shakya P., et al. *Orotransmucosal drug delivery systems: a review.* *J Control Release*; 140, 2-11 (2009).

Magal et al. *Relationship between serum creatine kinase activity following exercise-induced muscle damage and muscle fibre composition.* *Journal of Sports Sciences*; 28(3): 257–266 (2010).

Matthew D. Vukovich *et al.* *Body composition in 70-year-old adults responds to dietary of β -hydroxy- β -methylbutyrate similarly to that of young adults.* Nutrition and Aging- Research Communication (2001a).

Matthew D. Vukovich *et al.* *β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans.* The Journal of Nutritional Biochemistry; 12, 631-639 (2001b).

Mitchell CJ, Churchward-Venne TA, West DWD, *et al.* *Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men.* J Appl Physiol; 113(1):71–77 (2012).

Munn J, *et al.* *Training with unilateral resistance exercise increases contralateral strength.* J Appl Physiol.; 99(5):1880-4 (2005).

Naclerio, F. *et al.* *Effects of different resistance training volumes on strength and power in team sport athletes.* J Strength Cond Res; 27:1832-1840 (2013).

Nissen S. *et al.* *Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training.* J Appl. Physiol; 81:2095–2104 (1996).

Nissen S. *et al.* *β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors.* Human Nutrition and Metabolism (2000).

Nissen, S.L. and Abumrad, N.N. *Nutritional role of the leucine metabolite B-hydroxy-B-methylbutyrate (HMB).* Nutritional Biochemistry; 8, 300-311 (1997).

O'Connor, Donna M., and Crowe, Melissa J. *Effects of six weeks of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes.* Journal of Strength and Conditioning Research, 21 (2). pp. 419-423 (2007).

Moritani T. deVries H. A. *Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain.* Am J Phys Med. 58(3):115-30 (1979).

Moritani T. *Neuromuscular adaptations during the acquisition of muscle strength, power and motor tasks.* J Biomech. 26 Suppl 1:95-107 (1993).

Nunes, J. P. et al. *Creatine supplementation elicits greater muscle hypertrophy in upper than lower limbs and trunk in resistance-trained men.* Nutr Health; 23(4):223-229 (2017)

Ormsbee M. J. et al. *The effects of six weeks of supplementation with multi-ingredient performance supplements and resistance training on anabolic hormones, body composition, strength, and power in resistance-trained men.* J Int Soc Sports Nutr; 9(1):49-54 (2015).

Pasiakos SM, McLellan TM, Lieberman HR. *The effects of protein supplements on muscle mass, strength, and aerobic and anaerobic power in healthy adults: a systematic review.* Sports Med.; 45:111–31 (2015).

Peterson M D, et al. *Maximizing strength development in athletes: a meta-analysis to determine the dose-response relationship.* J Strength Cond Res;18(2):377-82 (2004).

Pollock M L., et al. AHA Science Advisory. *Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine.* Circulation;101(7):828-833 (2000).

Ransone J. et al. *The effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscular strength and body composition in collegiate football players.* J. Strength Cond. Res.; 17:34-9 (2003).

Reeves N D, et al. *Differential adaptations to eccentric versus conventional resistance training in older humans.* Exp Physiol; 94(7):825-33 (2009).

Robbins,DW and Docherty, D. *Effect of loading on enhancement of power performance over three consecutive trials.* J Strength Cond Res; 19: 898–902 (2005).

Russell ST, Tisdale MJ (2009) *Mechanism of attenuation by beta-hydroxy-betamethylbutyrate of muscle protein degradation induced by lipopolysaccharide.* Mol Cell Biochem. 330: 171–9 (2009).

Rutherford O M; Jones D A. *The role of learning and coordination in strength training.* Eur J Appl Physiol Occup Physiol.;55(1):100-5 (1986).

Sale D G. *Neural adaptation to resistance training.* Med Sci Sports Exerc. 20(5 Suppl):S135-45 (1988).

Schmitz, S. M. et al. *Nine weeks of supplementation with a multi-nutrient product augments gains in lean mass, strength, and muscular performance in resistance trained men.* J Int Soc Sports Nutr; 16(7) 40-48. (2010).

Schoenfeld B.J. et al. *Does exercise-induced muscle damage play a role in skeletal muscle hypertrophy?* J. Strength Cond. Res. May;26(5):1441-53. (2012).

Schoenfeld B J et al. *Muscular adaptations in low- versus high-load resistance training: a meta-analysis.* Eur J Sport Sci;1–10 (2014).

Schuenke, M D. et al. *Early-phase muscular adaptations in response to slow-speed versus traditional resistance-training regimens.* Eur J Appl Physiol; 112:3585-3595 (2012).

Seynnes O R, et al. *Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training.* J Appl Physiol; 102(1):368-73 (2007).

Shreeram S. et al. *The relative bioavailability of the calcium Salt of β -hydroxy- β -methylbutyrate is greater than that of free acid form in rats.* The Journal Of Nutrition (2014).

Silva V. R. et al. *β -hydroxy- β -methylbutyrate free acid supplementation may improve recovery and muscle adaptations after resistance training: a systematic review.* Nutrition Research. 45;1-9 (2017).

Slater G. *et al.* *Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation does not affect changes in strength or body composition during resistance training in trained men.* Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.; 11:384-396 (2001).

Smith H. J. *et al.* *Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in cancer-induced muscle loss.* Cancer Research (2005).

Smith H. J. *et al.* *Mechanism of the attenuation of Proteolysis-inducing Factor stimulated protein degradation in muscle by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate.* American Association for Cancer Research; 64, 8731-8735 (2004).

Smolarek A C, *et al.* *The effects of strength training on cognitive performance in elderly women.* Clin Interv Aging.;11:749-754 (2016).

Sorensen *et al.* *Simultaneous determination of β -hydroxybutyrate and β -hydroxy- β -methylbutyrate in human whole blood using hydrophilic interaction chromatography electrospray tandem mass spectrometry.* Clinical Biochemistry; 46; 18:1877-1883 (2013).

Støren O, Helgerud J, Støa EM, Hoff J. *Maximal strength training improves running economy in distance runners.* Med Sci Sports Exerc; 40; 6:1087-92 (2008).

Stout J. R. *et al.* *Effect of calcium of β -hydroxy- β -methylbutyrate (CaHMB) with and without resistance training in men and women 65+ yrs: a randomized, double-blind pilot trial.* Experimental Gerontology; 48, 1303-1310 (2013).

Thomson J. S. *et al.* *Effects of nine weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in resistance trained men.* J. Strength Con. Res.; 23:827-835 (2009).

Wilkinson D. J. *et al.* *Effects of leucine and its metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism.* The Journal of Physiology; 591, 2911-2923 (2013).

Wilson J. M. *et al.* *Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men.* Br. J. Nutr. 110:538-544 (2013).

Wilson J. M. *et al.* *The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo controlled study.* Eur. J. Appl. Physiol.; 114:1217-1227 (2014).

Wilson, G.J. *et al.* *Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review.* Nutrition & Metabolism (2008).

Wilson, J. M. *et al.* *Meta-analysis of post activation potentiation and power: Effects of conditioning activity, volume, gender, rest periods, and training status.* J Strength Cond Res; 27: 854–859 (2013).