UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

CONTRIBUIÇÕES DOS SISTEMAS NERVOSO CENTRAL E MUSCULAR
NO ESTABELECIMENTO DA ESTRATÉGIA DE PROVA DURANTE UMA
PROVA CONTRARRELÓGIO DE 4 km DE CICLISMO

RAFAEL DE ALMEIDA AZEVEDO

São Paulo

2017

RAFAEL DE ALMEIDA AZEVEDO

CONTRIBUIÇÕES DOS SISTEMAS NERVOSO CENTRAL E MUSCULAR
NO ESTABELECIMENTO DA ESTRATÉGIA DE PROVA DURANTE UMA
PROVA CONTRARRELÓGIO DE 4 km DE CICLISMO

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

Área de concentração: Biodinâmica do Movimento Humano

Orientador: Prof. Dr. Rômulo C. de M. Bertuzzi

São Paulo

2017

Catálogo da Publicação

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

Azevedo, Rafael de Almeida

Contribuições dos sistemas nervoso central e muscular no
estabelecimento da estratégia de prova durante uma prova
contrarrelógio de 4 km de ciclismo / Rafael de Almeida Azevedo. --
São Paulo : [s.n.], 2017.
109p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi

1. Testes em educação física e esportes 2. Antropometria
3. Ciclismo I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: AZEVEDO, Rafael de Almeida

Título: CONTRIBUIÇÕES DOS SISTEMAS NERVOSO CENTRAL E MUSCULAR NO ESTABELECIMENTO DA ESTRATÉGIA DE PROVA DURANTE UMA PROVA CONTRARRELÓGIO DE 4 km DE CICLISMO

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antônio e Edna, e meu irmão, Leonardo, por serem mais que família. Uma fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, por apoio incondicional aos meus estudos e decisões. Esse trabalho possui imensa contribuição de vocês, mesmo que de forma indireta.

A todos familiares que residem em São Paulo, pelo acolhimento e afeto. A minha casa ganhou um puxadinho com vocês. Em especial meus padrinhos, Graça e Junior, pela dedicação e preocupação. Também a segunda madrinha, Vera, pelo acolhimento nos primeiros meses longe da terra natal.

Aos meus avós, Washington & Inês e Antônio & Eulália, fonte de inspiração e exemplo para toda família. Seus ensinamentos aos meus pais e seus netos estão presentes nesse trabalho.

Aos meus irmãos de convivência, Delano e Giovanna, pelas horas de conversa com vinho e litros de café na sala.

A todos amigos e colegas de profissão do grupo GEDAE. Arthur, Beto, Rodrigo, Leonardo, Mayara, Salomão, Rafaell, Kleiner, Rogério e Renata. Vocês contribuíram demais para minha formação e visão na pesquisa, espero um dia retribuir. Em especial, gostaria de agradecer ao Ramon e Patrícia pela contribuição no projeto e aprendizagem que obtive. Também agradeço ao amigo João, o qual teve grande influência na minha vivência em São Paulo e pesquisa.

Agradeço em especial ao Marcos Cavalcante, pois influenciou meus primeiros passos na pesquisa e me sinto muito sortudo por isso.

Agradeço ao meu orientador, Rômulo Bertuzzi, pelos ensinamentos e paciência. Possuo grande admiração pela forma de conduta e talento, espero um dia chegar ao mesmo nível.

À Fernanda e família Orsolon pelo grande apoio no processo de ingresso ao mestrado e durante a jornada em São Paulo.

Ao amigo Edson e Felipe, técnicos do LADESP, pela grande ajuda e momentos de distração. A vida dentro do laboratório foi melhor com vocês.

Aos companheiros de trabalho na Adidas, Fred, Cho, Lari, Gabriel, Anselmo e Elisangela. Especialmente aos amigos Cho e Fred, os quais deram grande força nas horas do aperto.

A todos da comissão de pós-graduação, por sempre terem sido bem atenciosos e prestativos. Também a todos funcionários da EEFE-USP, a eficiência do serviço que possibilitou a realização desse trabalho.

Gostaria de agradecer também à Universidade de Calgary e todas pessoas envolvidas na realização de meu intercâmbio acadêmico, realizado no Laboratório de Fadiga Neuromuscular do Prof. Millet. Foram sete meses de muito aprendizado, pessoal e profissional.

A todos voluntários que disponibilizaram horas de suas rotinas para contribuir nesse trabalho.

RESUMO

AZEVEDO, R. A. Contribuições dos sistemas nervoso central e muscular no estabelecimento da estratégia de prova durante uma prova contrarrelógio de 4 km de ciclismo. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

A presente dissertação procurou determinar as fases do *pacing strategy* em “U” e analisar o desenvolvimento da fadiga neuromuscular e o perfil metabólico em um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo (4 km CT). No estudo 1, foi proposto dois modelos (visual e matemático) para determinar as três fases do *pacing strategy* em “U” durante um 4 km CT. Foram recrutados 15 ciclistas para realizar dois testes 4 km CT em dias separados. Para o modelo visual, quatro avaliadores experientes analisaram o *pacing strategy* duas vezes, sete dias de diferença. O modelo matemático foi composto pela média da potência durante a fase 2 (1 até 3 km) mais dois desvios padrões, identificando o ponto de mudança (PM) da fase 2 entre fase 1 (PM1) e 3 (PM2). O PM1 ocorreu em 419 ± 186 e 415 ± 178 m e PM2 ocorreu em 3646 ± 228 e 3809 ± 213 m para o modelo visual e matemático. Não houve diferença entre os modelos para ambos PM ($p > 0,05$). A reprodutibilidade intra avaliadores no modelo visual para PM1 e PM2 foi $ICC \geq 0,87$ e $\geq 0,96$ ($p < 0,05$), e entre avaliadores foi $ICC \geq 0,89$ ($p < 0,05$). Gráficos de Bland-Altman mostraram boa concordância entre modelos, maioria da diferença ficou abaixo de 5%. O estudo 1 sugere que ambos modelos são reprodutíveis e produzem valores similares para determinar as fases do *pacing strategy* em “U”. No estudo 2, 11 ciclistas visitaram o laboratório em seis ocasiões, sendo familiarizados três vezes com 4 km CT e técnica de estimulação elétrica no nervo femoral. Nas últimas três visitas, o mesmo *pacing strategy* da familiarização foi reproduzido, porém foram interrompidos ao final da fase 1 (F1_{FINAL}), fase 2 (F2_{FINAL}) e fase 3 (F3_{FINAL}), randomizado. Antes e logo após o exercício, os ciclistas realizaram a técnica de estimulação elétrica e amostras sanguíneas foram coletadas para determinar o perfil metabólico. A F1 teve duração de 68 ± 14 s (83,1% acima do ponto de compensação respiratória (PCR), em relação ao tempo total da F1), a F2 durou 287 ± 17 s (24,9% acima do PCR, tempo total da F2) e F3 durou 33 ± 7 s (74,5% acima do PCR, tempo total da F3). Houve apenas efeito principal de tempo para maioria das variáveis neuromusculares ($p < 0,05$) e não houve efeito principal de condição ($p > 0,05$). Apenas 5 metabólitos tiveram

diferença estatística. Valores menores de 2-oxoisocarboxato e dimetilamina para F1_{FINAL} comparado com F2_{FINAL} ($p < 0,05$). Valores menores de succinato para F1_{FINAL} comparado com F3_{FINAL} ($p < 0,05$). Asparagina e lactato apresentaram valores menores para F1_{FINAL} em comparação à F2_{FINAL} e F3_{FINAL} ($p < 0,05$). Esses achados sugerem que, ao longo de um teste 4 km CT, o nível de fadiga neuromuscular é estabelecido logo no início e mantido até o final da tarefa. Não obstante, o perfil metabólico parece estar associado com metabólitos da via oxidativa e outros marcadores relevantes para o SNC controlar a intensidade do exercício.

Palavras-chave: *pacing strategy*; perfil metabólico; fadiga central; fadiga periférica.

ABSTRACT

AZEVEDO, R. A. **Contribution of central nervous and muscular systems in 4 km pacing time trial**. 2017. Dissertation (Master in Science) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

The present dissertation aimed to determine the distinct phases of “U” pacing strategy and the development of neuromuscular fatigue and metabolomic profile during a 4 km cycling time trial (4 km TT). The study 1 developed two models (visual and mathematical) to determine the three different phases of “U” pacing strategy during a 4 km TT. Fifteen cyclists were recruited to perform two 4 km TT at different days. For the visual model, four experienced evaluators analysed the pacing twice, seven days apart. The mathematical model was composed by the mean of power output during phase 2 (1 until 3 km) plus two standard deviation, which was the criteria to distinguish the change point (CP) of phase 2 among phase 1 (CP1) and 3 (CP2). CP1 occurred at 419 ± 186 and 415 ± 178 m and CP2 occurred at 3646 ± 228 and 3809 ± 213 m for the visual and mathematical models. There was no difference between models for both CP ($p > 0.05$). The intra-evaluator reliability of visual model for CP1 and CP2 were $ICC \geq 0.87$ and ≥ 0.96 ($p < 0.05$), and the between-evaluator was $ICC \geq 0.89$ ($p < 0.05$). The Bland-Altman plots showed great agreement between models, with most values lower than 5% of difference. In conclusion, both models were reliable and produced similar values to distinguish the phases during “U” pacing strategy. At study 2, 11 cyclists visited the lab on six occasions, where they were familiarized three times with the 4 km TT and the femoral nerve stimulation technique. On the last three visits, the same pacing strategy from the familiarization was performed, but the cyclists were interrupted at the end of phase 1 (P1_{END}), end of phase 2 (P2_{END}) and end of phase 3 (P3_{END}), randomized. Before and immediately after the exercise, the cyclists performed the stimulation technique and blood samples were collected to determine the metabolomic profile. The P1 had duration of 68 ± 14 s (83.1% above the respiratory compensation point (RCP), in relation with total time of P1), P2 lasted 287 ± 17 s (24.9% above RCP, from total time at P2) and P3 lasted 33 ± 7 s (74.5% above RCP, from total time at P3). Most of neuromuscular variables showed main effect of time ($p < 0.05$) but no main effect of condition ($p > 0.05$). Only five metabolites were statistically different among conditions. 2-oxoisocarboxylate and dimethylamine were lower for P1_{END} compared with P2_{END}. Succinate

was lower for P1_{END} compared with P3_{END}. Asparagine and lactate were lower for P1_{END} compared with P2_{END} and P3_{END}. Those findings suggest that during a 4 km TT, the level of neuromuscular fatigue is established at P1_{END} and maintained until the end of the exercise task. Moreover, the metabolomic profile might be associated with oxidative metabolites and other relevant markers for central nervous system, which may act as feedback to control the exercise intensity.

Key words: pacing strategy; metabolomic profile; central fatigue; peripheral fatigue.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Exemplificação da estratégia de prova negativa. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 2. Exemplificação da estratégia de prova positiva. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 3. Exemplificação da estratégia de prova constante. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 4. Exemplificação da estratégia de prova “all-out”. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 5. Exemplificação da estratégia de prova variável. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 6. Exemplificação da estratégia de prova em parábola. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

Figura 7. Exemplo de identificação dos diferentes pontos de mudança (PM) durante o teste de 4 km contrarrelógio. A linha tracejada representa o limite do modelo matemático para identificação dos PMs. Os círculos destacam os pontos encontrados ao longo do teste.

Figura 8. Desenho experimental.

Figura 9. Design das visitas experimentais.

Figura 10. Gráficos de Bland-Altman comparando os valores do modelo visual e matemático para PM1. Painel A: representa a diferença entre o avaliador 1 e modelo matemático; Painel B: representa a diferença entre o avaliador 2 e modelo matemático; Painel C: representa a diferença entre o avaliador 3 e modelo matemático; Painel D: representa a diferença entre o avaliador 4 e modelo matemático.

Figura 11. Gráficos de Bland-Altman comparando os valores do modelo visual e matemático para PM2. Painel A: representa a diferença entre o avaliador 1 e modelo matemático; Painel B: representa a diferença entre o avaliador 2 e modelo matemático;

Painel C: representa a diferença entre o avaliador 3 e modelo matemático; Painel D: representa a diferença entre o avaliador 4 e modelo matemático.

Figura 12. Painel A: Potência produzida durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. F1_{FINAL}: fase 1 do *pacing strategy* (600 ± 205 m); F2_{FINAL}: fase 2 do *pacing strategy* (3.600 ± 190 m); F3_{FINAL}: fase 3 do *pacing strategy* (4.000 m). Linhas tracejadas representam a potência referente aos limiares metabólicos, a saber: Limiar Ventilatório (LV); Ponto de compensação Respiratória (PCR) e máximo volume de consumo de oxigênio (VO_{2MAX}). Painel B: Tempo gasto em cada fase em relação ao PCR. b efeito principal de tempo para Fase 3 ($P < 0.05$).

Figura 13. Variáveis fisiológicas durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. Painel A: consumo de oxigênio ao longo do teste; Painel B: frequência cardíaca ao longo do teste; Painel C: percepção subjetiva de esforço ao longo do teste. b efeito principal de tempo para F3_{FINAL} ($P < 0.05$).

Figura 14. RMS_{EMG}•onda-M⁻¹ durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. Painel A: eletromiografia do Vasto Lateral ao longo do teste; Painel B: eletromiografia do Vasto Medial ao longo do teste. b efeito principal de tempo para F3_{FINAL} ($P < 0.05$).

Figura 15. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Painel A: delta de mudança para Contração Voluntária Isométrica Máxima (CVIM) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel B: delta de mudança para o percentual de Ativação Voluntária (%AV) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel C: delta de mudança para o pico de força no estímulo único potencializado de 1Hz (P_{un}) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Figura 16. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Painel A: delta de mudança para o pico de força no estímulo duplo potencializado de 100 Hz (P_{Dp100}) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel B: delta de mudança para pico de força no estímulo duplo potencializado de 10 Hz (P_{Dp10}) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel C: delta de mudança para razão entre pico de força potencializado de 10 e 100 Hz (Dp10•Dp100⁻¹) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Figura 17. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Painel A: delta de mudança para Máxima Taxa de Desenvolvimento de Força (MTDF) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel B: delta de mudança para Tempo de Contração (TC) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel C: delta de mudança para meio Tempo de Relaxamento ($TR_{0.5}$) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Painel D: delta de mudança para amplitude da Onda-M (Onda-M) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Figura 18. Principal Component Analysis (PCA) para os dados dos diferentes perfis metabolômicos em cada sessão experimental.

Figura 19. Partial Least Square – Discriminant Analysis (PLS-DA) para discriminação dos perfis metabolômicos em cada sessão experimental.

Figura 20. Variable Importance in the Projections (VIP) para discriminação dos metabólitos relevantes na discriminação de cada perfil metabolômico em cada sessão experimental.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores (metros) de cada PM identificado pelos quatros avaliadores nos dois momentos de coleta (7 dias de diferença).

Tabela 2. Valores absolutos e deltas de mudança para cada variável neuromuscular.

Tabela 3. Valores absolutos para variáveis de fadiga neuromuscular de baixa e alta frequência.

Tabela 4. Valores absolutos para variáveis obtidas através do estímulo único potencializado de 1 Hz (P_{un})

Tabela 5. Perfil metabólico ao final das três diferentes fases do teste contrarrelógio de 4 km.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

%AV: Percentual de ativação voluntária.

ANOVA: Análise de variância.

ATP: Adenosina Trifosfato

CAT: Ciclo dos ácidos tricarboxílicos.

CVIM: Contração isométrica voluntária máxima.

Dp 10:100: Razão do pico de força em 10 Hz sobre 100 Hz.

EP: Estratégia de Prova.

EM: Estimulação magnético no nervo femoral.

EMG: Eletromiografia.

EMT: Estimulação magnética transcraniana.

F1_{FINAL}, F2_{FINAL} e F3_{FINAL}: Final da fase 1, 2 e 3 ao longo do *pacing strategy* em “U”.

FC: Frequência cardíaca.

iEMG: Integral do sinal de eletromiografia.

LCIFP: Limiar crítico individual de fadiga periférica.

LV: Limiar ventilatório.

MTDF: Máxima taxa de desenvolvimento de força.

TR_{0.5}: Meio tempo de relaxamento.

PCA: *Principal Component Analysis*.

PCR: Ponto de compensação respiratória.

P_{Dp10}: Estímulo duplo potencializado de baixa frequência.

P_{Dp100}: Estímulo duplo potencializado de alta frequência.

PetO₂: Pressão expirada de O₂.

PetCO₂: Pressão expirada de CO₂.

Pi: Fosfato inorgânico.

PLS-DA: *Partial Least Square – Discriminant Analysis*.

PM: Ponto de mudança.

PPO: Pico de Produção de potência.

PSE: Percepção Subjetiva de Esforço.

PT: Pico de tensão.

P_{un}: Estímulo único de 1 Hz.

RMS: Root mean square

RPM: Rotações por minuto.

SNC: Sistema nervoso central.

SV: Coleta de sangue venoso.

TC: Tempo de contração.

UM: Unidade motora.

VCO₂: Produção de CO₂.

VE: Volume ventilatório.

VE / VO₂: Equivalente respiratório de O₂.

VE / VCO₂: Equivalente respiratório de CO₂.

VIP: *Variable Importance in the Projections*.

VL: Vasto lateral.

VM: Vasto medial.

VO_2 : Consumo de oxigênio.

$\text{VO}_{2\text{MAX}}$: Consumo máximo de oxigênio.

W_{max} : Potência aeróbia máxima.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	22
1.1 OBJETIVO GERAL	24
1.1.1 Objetivos Específicos	25
1.1.2 Estudo 1	25
1.1.3 Estudo 2	25
2. REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1 <i>Pacing Strategy</i> e Desempenho	26
2.2 Tipos de <i>Pacing Strategy</i>	28
2.2.1 <i>Pacing Strategy</i> Negativo	28
2.2.2 <i>Pacing Strategy</i> Positivo	29
2.2.3 <i>Pacing Strategy</i> Constante	30
2.2.4 <i>Pacing Strategy</i> “All-Out”	31
2.2.5 <i>Pacing Strategy</i> Variável	32
2.2.6 <i>Pacing Strategy</i> em “U”	33
2.3 Fatores Determinantes do <i>Pacing Strategy</i>	35
2.3.1 Fisiológicos	35
2.3.2 Ambientais	36
2.3.3 Psicológicos	36
2.3.4 Neuromusculares	37
2.4 Modelos Teóricos de Fadiga em Exercício Físico com Predominância Aeróbia	40
2.4.1 Modelo de Sistema Controlador Extracelular e Teleoantecipação	40
2.4.2 Governador Central	42
2.4.3 Limiar Crítico Individual de Fadiga Periférica	44
2.4.4 Modelo Psicobiológico	47
3. MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 Estudo 1	49
3.1.1 Amostra	49
3.1.2 Desenho Experimental	49
3.1.3 Análise do <i>Pacing Strategy</i>	50
3.1.4 Análise Estatística	51

3.2	Estudo 2	52
3.2.1	Amostra	52
3.2.2	Desenho Experimental	52
3.2.3	Antropometria	54
3.2.4	Teste Progressivo.....	54
3.2.5	Teste de Familiarização	56
3.2.6	Teste Experimental (4 km contrarrelógio).....	56
3.2.7	Mensuração da Contração Voluntária Isométrica Máxima.....	56
3.2.8	Protocolo de Estimulação Elétrica no Nervo Femoral.....	57
3.2.9	Análise de Dados – Estimulação Elétrica	58
3.2.10	Aquisição e Análise do Sinal Eletromiográfico.....	59
3.2.11	Coletas Sanguíneas e Preparação das Amostras	60
3.2.12	Análise dos Metabólitos Sanguíneos.....	60
3.2.13	Aquisição do Espectro e Identificação dos Metabólitos.....	61
3.2.14	Análise Estatística	61
4.	RESULTADOS.....	62
4.1	Resultados Estudo 1	62
4.1.1	Desempenho no 4 km contrarrelógio.....	62
4.1.2	Identificação das fases do <i>pacing strategy</i>	62
4.1.3	Reprodutibilidade do modelo visual.....	63
4.1.4	Concordância entre modelos	63
4.2	Resultados Estudo 2	66
4.2.1	Reprodutibilidade da Familiarização	66
4.2.2	Potência das sessões experimentais	67
4.2.3	Variáveis Fisiológicas	68
4.2.4	Variáveis neuromusculares.....	71
4.2.5	Perfil Metabolômico	77
5.	DISCUSSÃO	81
5.1	Discussão Estudo 1	81
5.1.1	Limitações.....	83
5.2	Discussão Estudo 2	84
5.2.1	Limitações.....	90

6.	CONCLUSÃO	90
6.1	Estudo 1.....	90
6.2	Estudo 2.....	91
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	APÊNDICE	100

1. INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, o desempenho nas modalidades com predominância aeróbia tem sido associado a diversas variáveis fisiológicas e neuromusculares (Faude *et al.* 2009; Lepers *et al.* 2002; Noakes *et al.* 1990; Saunders *et al.* 2004). Estudos recentes têm sugerido que o *pacing strategy* (estratégia de prova) adotado nessas modalidades também é capaz de influenciar o rendimento atlético (Bertuzzi *et al.* 2014; Koning *et al.* 2011; Tucker *et al.* 2006). O *pacing strategy* pode ser definido como a forma pela qual os atletas realizam a distribuição da potência mecânica, velocidade ou custo energético ao longo da tarefa (Abbiss e Laursen 2008; Foster *et al.* 1994). Entre os diferentes tipos de *pacing strategy*, deve-se destacar o formato de “U” (Abbiss e Laursen 2008). Achados prévios indicaram que essa distribuição da potência e/ou velocidade ao longo do percurso é adotada pela maioria dos recordistas mundiais em provas de média e longa distâncias (por exemplo, 4 km no ciclismo ou 5 km na corrida) (Tucker *et al.* 2006). O formato em “U” é composto por três fases distintas que são caracterizadas pela diminuição progressiva da potência logo após o início da prova (Fase 1, $F1_{FINAL}$), passando à fase com pouca variação da potência na parte intermediária (Fase 2, $F2_{FINAL}$) e acelerando próximo ao final da prova (Fase 3, $F3_{FINAL}$) (Abbiss e Laursen 2008).

Embora essas evidências relativamente mais recentes tenham sugerido a importância do *pacing strategy* no desempenho de exercícios predominantemente aeróbios, deve-se observar que, do ponto de vista metodológico, ainda não existe uma forma universalmente aceita para a determinação das três fases distintas do *pacing strategy* em “U”. Por exemplo, Bishop *et al.* (2002) consideraram que a fase 1 teria duração de 18% do total da tarefa, já Hettinga *et al.* (2006) consideraram 50% do total. Amann *et al.* (2006) dividiu as fases do teste contrarrelógio de 5-km no ciclismo em fase 1 (0 até 1,5-km), fase 2 (1,5 até 4,5-km) e fase 3 (4,5 até 5-km), independente da variação real da potência. Isso é especialmente importante porque estudos prévios utilizaram a análise do *pacing strategy* para investigar o controle da fadiga neuromuscular ao longo da tarefa (Abbiss e Laursen 2008; Noakes 2012; Taylor *et al.* 2016). Por exemplo, estudos prévios utilizaram presença de outros competidores (Tomazini *et al.* 2015) e fadiga previa ao contrarrelógio para influenciar o *pacing strategy* (Amann e Dempsey 2008). Nesse contexto, as conclusões

sobre a intervenção e mudança na potência podem ser imprecisas e de difícil comparação entre estudos.

Não obstante, a fadiga neuromuscular tem sido definida como a redução na capacidade do músculo esquelético em produzir força máxima (Lepers *et al.* 2002), a qual pode ser determinada pelo declínio da contração voluntária isométrica máxima (CVIM) (Froyd *et al.* 2016). Tem sido demonstrado que a fadiga neuromuscular durante o exercício dinâmico pode originar-se tanto de processos centrais (córtex e espinha dorsal) como periféricos (mecanismos intramusculares abaixo da junção neuromuscular) (Froyd *et al.* 2016; Johnson *et al.* 2015; Thomas *et al.* 2015). Na maioria das atividades cotidianas e modalidades esportivas, a intensidade é auto selecionada, onde o sistema nervoso central (SNC) seria responsável por controlar as alterações periféricas e centrais resultantes da fadiga neuromuscular a fim de evitar danos ao organismo (MILLET, 2011; NOAKES, 2012; TAYLOR *et al.*, 2016). Nesse sentido, Faulkner *et al.* (2008) relataram que, embora a distribuição da potência e/ou velocidade ao longo de provas de média e longa distância tenha sido caracterizada pelo formato de “U”, a percepção subjetiva de esforço (PSE) aumentou de forma linear ao longo do percurso. Tem sido hipotetizado que o perfil linear da PSE reflete um sistema de controle interno do organismo que monitora respostas metabólicas na tentativa de minimizar o estresse fisiológico e prevenir o acúmulo exacerbado da fadiga neuromuscular antes do final da prova (ULMER, 1996). Contudo, ainda é desconhecida a contribuição central e periférica para o desenvolvimento da fadiga neuromuscular ao final da $F1_{FINAL}$, $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$. Também deve-se destacar que ainda não são conhecidos os metabólicos que estão envolvidos no desenvolvimento da fadiga nas diferentes fases desse tipo de *pacing*. A análise do equilíbrio metabólico dinâmico e a sua possível relação com o desempenho tem sido limitada apenas aos exercícios de cargas constantes e com a determinação de um número relativamente reduzido (~10) de metabólitos (BARON *et al.*, 2008; PIRES *et al.*, 2011).

Interessantemente, alguns estudos têm utilizado a técnica denominada metabolômica para descrever o perfil metabólico global durante o exercício físico predominantemente aeróbio (NIEMAN *et al.*, 2013, 2014). A metabolômica tem sido definida como um método analítico que visa medir a resposta global do metabolismo a diferentes estímulos (NICHOLSON; LINDON, 2008). Atualmente, é possível identificar mais de 50 metabólitos por meio da técnica de ressonância magnética em amostras sanguíneas

devidamente processadas (NIEMAN et al., 2014). A metabolômica tem sido utilizada em estudos exploratórios acerca da interação entre exercício e metabolismo, pois permite quantificar simultaneamente uma grande quantidade de metabólitos contida em material biológico. Por exemplo, um grupo de pesquisadores liderados por David Nieman demonstrou que, após exercícios extenuantes para ciclistas (contrarrelógio de 75 km) e corredores (treinamento intensificado de três dias), os metabólitos associados ao estresse oxidativo e à via lipídica foram aumentados imediatamente e 1,5 h após para os ciclistas; imediatamente e 14 horas pós para os corredores (Nieman et al. 2013, 2014). Portanto, a metabolômica poderia ser considerada uma técnica com elevado potencial para se determinar o perfil metabólico nas diferentes fases do *pacing*. A partir dessa análise seria possível preencher a atual lacuna existente na literatura acerca da relação entre o perfil metabólico e o desenvolvimento da fadiga central e periférica ao longo de uma prova de ciclismo em formato de “U”.

Dessa forma, visto que o desempenho físico em modalidades esportivas com predominância aeróbia tem relação com a variação da potência ao longo do percurso e a maioria das provas de média duração apresenta o *pacing strategy* em “U”, faz-se necessário melhor entendimento das variáveis neuromusculares e metabólicas durante a tarefa. Além disso, há necessidade de desenvolver um método válido e eficiente para analisar o *pacing strategy*, pois apenas assim será possível a comparação de estudos.

1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as três fases do *pacing strategy* em formato de “U” e analisar o desenvolvimento da fadiga neuromuscular e o perfil metabolômico em um teste contrarrelógio de 4 km de ciclismo.

1.1.1 Objetivos Específicos

Os objetivos e hipóteses específicos da presente dissertação foram divididos em dois estudos, a saber:

1.1.2 Estudo 1

Propor métodos válidos para a determinação das três diferentes fases (Fase 1, 2 e 3) do *pacing strategy* em formato de “U” durante um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo. De acordo com estudos similares que compararam modelo visual e matemático para outras variáveis fisiológicas, nossa hipótese é que ambos modelos serão sensíveis em detectar as diferentes fases do *pacing strategy* ao longo de uma prova de 4 km no ciclismo.

1.1.3 Estudo 2

O grau de fadiga neuromuscular e perfil metabólico na $F1_{FINAL}$, $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$ durante um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo. Baseado na literatura acerca de desenvolvimento da fadiga neuromuscular e alterações metabólicas ao longo de uma prova de contrarrelógio, nossa hipótese é que há diferentes contribuições do sistema nervoso central e muscular, bem como no perfil metabólico nas três fases analisadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Tradicionalmente, a forma de avaliar o desempenho e a fadiga em exercícios com predominância aeróbia foi feita em tarefas com carga fixa e pouco semelhantes à realidade (Atkinson *et al.* 2007). É sabido que esses tipos de tarefas apresentam grande coeficiente de variação (Laursen *et al.* 2007; Laursen *et al.* 2007) e pouca validade externa (Atkinson *et al.* 2007). quando comparados com tarefas de intensidades auto selecionadas, por exemplo os testes contrarrelógio (Foster *et al.* 1994). Além disso, estudos prévios demonstraram que a auto seleção da intensidade ao longo de uma tarefa é fator determinante do desempenho (Hettinga *et al.* 2006; Thiel *et al.* 2012), sendo que a maioria das competições é disputada sem carga fixa. Dessa forma, há na literatura recente interesse em entender o chamado *pacing strategy* (estratégia de prova), o qual pode ser definido como a forma de distribuição da potência ou velocidade ao longo do percurso (Abbiss e Laursen 2008).

2.1 *Pacing Strategy* e Desempenho

Os estudos acerca da relevância do *pacing strategy* no desempenho teve início com tarefas não relacionadas com provas oficiais (ROBINSON *et al.*, 1958). Robinson *et al.* (1958) tiveram como objetivo contestar estudos prévios que sugeriram que a forma mais rápida de percorrer uma distância pré-estabelecida seria em velocidade constante, contudo tais estudos não levaram em conta a estabelecimento da fadiga ao longo do percurso (KENNELLY, 1906; ROBINSON *et al.*, 1958). Foram utilizados quatro voluntários para correr uma determinada distância em três situações, a saber: 1) maior velocidade no começo, 2) maior velocidade no final e 3) velocidade constante. Através da mensuração de consumo e cinética de oxigênio ao longo dos testes, foi visto que a melhor forma de correr cerca de 1000 metros seria acelerando ao final, pois se utilizou menor quantidade de oxigênio. Dessa forma, viu-se que a distribuição da intensidade poderia ter grande interferência em parâmetros fisiológicos e possivelmente no desempenho.

É possível encontrar diversos estudos focados em entender como os ganhadores e recordistas mundiais realizam o *pacing strategy* (Thiel *et al.* 2012; Tucker *et al.* 2006). Por

exemplo, Tucker *et al.* (2006) analisaram o *pacing strategy* dos recordes mundiais de corrida entre 1912 e 1997. Foram coletados dados das provas de 800, 5.000 e 10.000 metros nas competições oficiais, somando ao todo 80 recordes mundiais, foi observado que havia um padrão na distribuição da velocidade nessas provas. Os autores relataram que na prova de 800 metros a primeira volta foi a mais rápida, ao passo que nas provas de 5000 e 10.000 metros, o primeiro e último quilômetros se destacam com maior velocidade. Em um trabalho mais recente de Thiel *et al.* (2012), foram analisadas as provas de corrida entre 800 a 10.000 metros a nível olímpico e recordes mundiais. Na maioria das provas há um padrão de distribuição da velocidade ao longo do percurso, medalhistas e não medalhistas, adotam até os metros finais, o mesmo *pacing strategy*. De fato, a diferença entre campeões e demais colocados é menor que 1%, quando comparados os tempos totais (Foster *et al.* 1994), sendo que variações no *pacing strategy* podem apresentar melhora de 2.5% no tempo total (Foster *et al.* 1994).

Nesse contexto, diversos trabalhos foram conduzidos para averiguar diferenças no *pacing strategy* e desempenho (Abbiss e Laursen 2008; Thiel *et al.* 2012; Tucker *et al.* 2006). Em um estudo conduzido por Foster *et al.* (1993), fez-se a manipulação da potência inicial em um teste contrarrelógio de 2 km na bicicleta. O estudo foi composto por diferentes intensidades no início, variando para mais ou para menos a potência até o final do primeiro quilometro. Os autores concluíram que gastar cerca de 51% do tempo total de teste na primeira metade resultou em melhor performance, sendo que variações resultaram em piora significativa no desempenho. Corroborando a esse resultado, mais estudos procuraram investigar alterações no *pacing strategy* e desempenho (Hettinga *et al.* 2006; Hettinga *et al.* 2009; Tucker *et al.* 2006). Mattern *et al.* (2001) também fizeram manipulações na intensidade nos primeiros metros de saída, em ciclistas de elite, utilizando uma prova contrarrelógio de 20 km. Os ciclistas foram avaliados em três situações diferentes de *pacing strategy* para 20 km, a saber: 1) auto selecionado, 2) 15% a mais de potência nos primeiros 4 minutos e 3) 15% a menos nos primeiros 4 minutos. Foi observado que o desempenho melhorou quando a potência foi 15% menor nos primeiros 4 minutos iniciais. É relevante ressaltar que mesmo com as diferenças na potência inicial, o formato do *pacing strategy* no restante da prova não foi alterado.

Por outro lado, Gosztyla *et al.* (2006) utilizaram corredores para fazer uma prova contrarrelógio de 5 km manipulando o *pacing strategy* no início do percurso. Os autores observaram que os melhores tempos foram obtidos quando houve aumento da velocidade entre 6% e 3% nos primeiros 1600 metros do percurso. Contudo, é visto na literatura sobre o *pacing strategy* e desempenho que a forma de distribuição da intensidade apresenta padrões dependendo da distância e duração da tarefa (Abbiss e Laursen 2008; Thiel *et al.* 2012; Tucker *et al.* 2006). Nesse sentido, com o intuito de destacar os aspectos específicos do *pacing strategy*, os detalhes de cada formato serão apresentados a seguir nessa revisão de literatura.

2.2 Tipos de *Pacing Strategy*

2.2.1 *Pacing Strategy* Negativo

O *pacing strategy* negativo é caracterizada pelo aumento da velocidade/potência ao longo do percurso (figura 1). Essa forma de distribuição é mais evidente em eventos de média e longa duração, como 1,5 km de corrida e 20 km de ciclismo (Mattern *et al.* 2001; Thiel *et al.* 2012). É sugerido que a sua utilização ocorre para prevenir o organismo em acumular metabólitos e economizar as reservas energéticas no trecho inicial e médio, pois tais alterações dificultariam a contração muscular e produção de potência (Abbiss e Laursen 2008). Mattern *et al.* (2001) utilizou ciclistas em uma prova contrarrelógio de 20 km e manipulou o *pacing strategy* para observar as respostas fisiológicas. Foi visto que quando houve queda na potência de 15% nos primeiros 4 minutos de prova, os valores das variáveis fisiológicas (lactato e VO_2) foram menores no começo e possibilitou aumento significativo da potência no restante do percurso. Nesse sentido, Thiel *et al.* (2012) observaram que nas provas de 1,5 km os atletas medalhistas olímpicos apresentavam padrão semelhante aos demais até o trecho final, onde há maior incremento da velocidade dos que os outros atletas.

Figura 1. Exemplo do *pacing strategy* negativo. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.2.2 *Pacing Strategy* Positivo

Ao contrário do *pacing strategy* exemplificado anteriormente, o formato positivo é caracterizado pela diminuição da velocidade/potência ao longo do percurso (figura 2) (Tucker *et al.* 2006). Tal estratégia é muito utilizada em percurso de curta distância/duração, por exemplo a prova de 800 metros no atletismo e os 1000 no ciclismo (Abbiss e Laursen 2008; Ingen Schenau *et al.* 1992). Tucker *et al.* (2006) analisou 26 recordes mundiais de várias provas no atletismo, entre elas observou que nos 800 metros a segunda volta apresenta maior tempo que a primeira. Dessa forma, os corredores adotam a estratégia de acelerar na primeira volta e diminuem na segunda. Ingen Schenau *et al.* (1992) demonstraram, através de modelos matemáticos e recordes mundiais, que na prova de 1000 metros de ciclismo, o *pacing strategy* positivo apresenta melhores resultados, mesmo que o tempo do trecho final seja pior quando comparado à outras estratégias. A piora no desempenho nos trechos finais do *pacing strategy* positivo tem ligação ao grande acúmulo de metabólitos e gasto das reservas anaeróbias no início do percurso, pois tais alterações resultam em menor capacidade de aceleração e manutenção da potência (Abbiss e Laursen 2008). Em modalidades que são suscetíveis à força de arrasto e fricção do ar, maior velocidade/potência no início ajuda a superar tais resistências logo no início do percurso,

diminuindo o tempo gasto para acelerar e resultando em melhor desempenho (Hettinga *et al.* 2007; Ingen Schenau *et al.* 1992).

Figura 2. Exemplo do *pacing strategy* positivo. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.2.3 *Pacing Strategy* Constante

O *pacing strategy* constante tem como característica a pouca variação da velocidade/potência ao longo do percurso (figura 3) (Abbiss e Laursen 2008). Tal estratégia é muito vista em percursos com distâncias elevadas, tais como 100 km (MILLET, 2011; PADILLA *et al.*, 2000). No estudo de Padilla *et al.* (2000) foi detectado que o recorde de distância percorrido no ciclismo em uma hora foi realizado com poucas variações na potência. Isso é devido ao grande dispêndio de energia que variações na potência são geradas em relação à resistência do meio (água ou ar). A cada variação da velocidade/potência, deve-se direcionar uma parte da energia gasta apenas para superar tais resistências e não realmente para locomoção, e isso colocado em grandes distâncias acarreta em maior gasto (de Koning *et al.* 1999).

Figura 3. Exemplo do *pacing strategy* constante. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.2.4 *Pacing Strategy* “All-Out”

O *pacing strategy* “all-out” é caracterizada pela elevada velocidade/potência em curto período de tempo e a tentativa de manutenção desses valores (figura 4) (Abbiss e Laursen 2008). Em eventos de curta duração, como 100 metros no atletismo, a fase de aceleração é determinante para o desempenho final. Em provas de curta duração, cerca de 50-60% do tempo total é gasto apenas na aceleração, sendo que 20-25% do gasto de energia total é utilizado nessa fase (Bishop *et al.* 2002; Ingen Schenau *et al.* 1992). Dessa forma, otimizando a transição do corpo parado para a maior velocidade, em provas de curta duração, isso acarretaria em melhor desempenho total. De fato, através de modelos matemáticos, Keller (2017) demonstrou que em eventos menores de 291 metros, o desempenho é superior quando faz-se uma estratégia em “all-out”.

Figura 4. Exemplo do *pacing strategy* “all-out”. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.2.5 *Pacing Strategy* Variável

A estratégia de prova variável caracteriza-se por não apresentar um padrão, diferentemente das outras formas de estratégia (figura 5). Tal *pacing strategy* é identificado em provas de longa duração e que apresentam desafios naturais como montanhas, florestas e trechos de maior dificuldade (Atkinson et al. 2007; Atkinson e Brunskill 2000). Dessa forma, utilizando a variação da velocidade/potência para cada trecho ao invés de procurar manter um formato de *pacing strategy*, alguns parâmetros fisiológicos são controlados para não atingirem o máximo e o atleta não atingir a fadiga prematura (Abbiss e Laursen 2008).

Figura 5. Exemplo do *pacing strategy* variável. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.2.6 *Pacing Strategy* em “U”

Dentre as diferentes estratégias, provavelmente, o formato de parábola é a mais estudada na literatura atual. Esse *pacing strategy* é caracterizado por três momentos diferentes, há diminuição gradual da velocidade/potência no início, tentativa de manutenção de velocidade/potência no trecho intermediário e aumento progressivo ao final (Abbiss e Laursen 2008; Bertuzzi *et al.* 2014; Lima-Silva *et al.* 2010). A fim de simplificar tais momentos de variação no *pacing strategy* em parábola, utilizam-se as nomenclaturas de “fast-start” para a parte inicial, “even-pace” para o meio e “end-spurt” para o final. O formato em parábola é muito comum em provas de média duração, por exemplo: entre os 5 e 10 km no atletismo (Bertuzzi *et al.* 2014; Gosztyla *et al.* 2006) e 4 e 20 km no ciclismo (Hettinga *et al.* 2006; Mattern *et al.* 2001).

Atualmente, é visto na literatura que manipulações em diferentes fatores antes da prova acarretam em mudanças nesses trechos e podem afetar diretamente o desempenho (Aisbett *et al.* 2009; Lima-Silva *et al.* 2012). No estudo de Lima-Silva *et al.* (2013) foi visto que queda no estoque de glicogênio muscular antes de uma prova contrarrelógio em cicloergometro resultou em menor velocidade/potência no fast-start e end-spurt, piorando o desempenho. Tais achados corroboram outros estudos demonstrando a relevância dos estoques de glicogênio e potência anaeróbia para *pacing strategy* em parábola (Hettinga *et al.* 2006; Ingen Schenau *et al.* 1992; Rauch *et al.* 2005). Não obstante, trabalhos recentes demonstraram que mais outros fatores também interferem no *pacing strategy* em parábola nas provas de média e longa duração, tais como: meio ambiente (Tucker *et al.* 2006), fatores psicológicos (Mauger *et al.* 2009; Tomazini *et al.* 2015) e neuromusculares (Bertuzzi *et al.* 2014). Nesse contexto, visto que a presente dissertação tratará de provas contrarrelógio de 4 km no ciclismo, esses fatores serão discutidos separadamente.

Figura 6. Exemplo do *pacing strategy* em parábola. Linha tracejada representa o comportamento da velocidade/potência ao longo da tarefa.

2.3 Fatores Determinantes do *Pacing Strategy*

2.3.1 Fisiológicos

Para provas de média e longa distância/duração, a regulação do dispêndio de energia ao longo do percurso é primordial para otimizar o desempenho e evitar a fadiga prematura (St Clair Gibson *et al.* 2006; Tucker *et al.* 2006). Nesse contexto, parâmetros fisiológicos têm se destacado como fatores relevantes em diversos trechos do percurso e no *pacing strategy* escolhido (Hettinga *et al.* 2006; Lima-Silva *et al.* 2010). No estudo de Lima-Silva *et al.* (2010) foi observado que corredores com diferentes níveis de treinamento adotaram distintas estratégias para uma prova de 10 km. Os corredores com bom desempenho (< 35 min nos 10 km) apresentaram *pacing strategy* diferente dos corredores com desempenho inferior (> 39 min nos 10 km), principalmente no trecho inicial da prova (0 – 400 metros), onde apresentaram valores de velocidade maiores que a velocidade média do teste. Tais diferenças foram justificadas por parâmetros fisiológicos como a economia de corria, limiar de lactato e velocidade pico na esteira. É sabido que tais variáveis estão intimamente ligadas ao desempenho aeróbio, pois possibilitam o organismo a sustentar maior intensidade ao longo do percurso e em trechos específicos (Bassett e Howley 2000; Saunders *et al.* 2004), como por exemplo no início e o final da prova.

Hettinga *et al.* (2006) investigaram a importância das vias energéticas ao longo de uma prova contrarrelógio de 4 km de ciclismo. Foi detectado que a manipulação da intensidade nos primeiros 2 km resultou em cinéticas diferentes na utilização das vias metabólicas. Foi visto que maior potência produzida no trecho inicial demandou mais da via anaeróbia, resultando assim em menor produção de potência no trecho final. É relevante ressaltar que a via anaeróbia tem sido proposta como fator relevante em provas de ciclismo de média distância, pois seria responsável por arrancadas ao longo do percurso e mudanças no *pacing strategy* (Ingen Schenau *et al.* 1992). No estudo de Rauch *et al.* (2005), ciclistas bem treinados foram suplementados com dieta rica em carboidratos durante três dias e foi observada mudança no desempenho em uma prova de 1 hora de ciclismo. Comparando o *pacing strategy* de atletas suplementados ou com dieta normal, não houve diferença na estratégia adotada por cada grupo, contudo os atletas suplementados foram capazes de

pedalar em potências mais elevadas, melhorando o desempenho final. De forma intrigante, ambos os grupos terminaram a tarefa com o mesmo estoque de glicogênio muscular, sendo que o grupo suplementado teoricamente foi capaz de utilizar e administrar seu estoque elevado no começo. Os autores sugerem que, possivelmente, há interferências do sistema nervoso central na regulação do *pacing strategy*.

2.3.2 Ambientais

Alterações na temperatura e oferta de oxigênio durante a tarefa têm sido utilizados para investigar os mecanismos de fadiga no exercício com predominância aeróbia (Noakes *et al.* 2001). Nesse sentido, a literatura sobre *pacing strategy* também tem utilizado tais manipulações do ambiente para investigar possíveis alterações no desempenho em tarefas de intensidade auto selecionada (Abbiss e Laursen 2008; Noakes *et al.* 2001; Tucker *et al.* 2006). Em um estudo de Abbiss *et al.* (2010), manipulou-se a temperatura (frio (10º) e calor (33.7º)) ao longo de uma prova contrarrelógio de 100 km em ciclistas. Os resultados demonstraram que o desempenho foi melhor no frio do que no calor, com maior potência no frio desde o trigésimo quilômetro. Contudo, o resultado mais interessante é a respeito da mudança na eletromiografia (EMG) e temperatura corporal, pois se recrutou menos unidades motoras antes que a temperatura atingisse níveis considerados críticos. Dessa forma, os autores concluíram que houve uma tentativa de antecipar possíveis danos no organismo com alta temperatura corporal, reduzindo assim a potência e sinal EMG.

2.3.3 Psicológicos

Em conjunto com os fatores fisiológico e ambiental, estudos relacionados com *pacing strategy* identificaram que há ampla interferência de aspectos psicológicos (Baden *et al.* 2005; Tomazini *et al.* 2015). É sugerido que o atleta seguirá um *pacing strategy* baseado na experiência prévia do percurso proposto, chamado de “template”, onde possíveis intervenções externas podem modifica-lo, tais como música (Lima-Silva *et al.* 2012),

feedback sobre distância (Mauger *et al.* 2009) e presença de competidores (Tomazini *et al.* 2015).

No estudo de Lima-Silva *et al.* (2012) foi observado que a utilização de música alterou o *pacing strategy* em uma prova contrarrelógio de 5 km em corredores. Os resultados mostraram que, com a inclusão da música, os corredores fizeram um *fast-start* mais veloz, resultando em melhor desempenho ao final. Os autores sugerem que tal intervenção interfere em fatores psicológicos associados ao *pacing strategy*, mudando o foco de atenção e conseguindo alterar o template. Por sua vez, Tomazini *et al.* (2015) investigaram a interferência de competidores em uma prova contrarrelógio de corrida de 3 km. Foi visto que, ao introduzir adversários do mesmo nível, os corredores mudaram o *pacing strategy*, especificamente, o *fast-start* ficou mais intenso. Dessa forma, a introdução de elementos externos faz alterações no *pacing strategy*, possivelmente mudando o template previamente estabelecido. Ainda sobre o estabelecimento do template, Mauger *et al.* (2009) demonstraram que o *pacing strategy* é construído através de repetidas experiências no mesmo percurso, melhorando assim os ajustes de velocidade/potência. Nesse estudo, foi utilizada uma prova contrarrelógio de 4 km no ciclismo um grupo recebia informações sobre a distância e o outro não. Foi constatado que após quatro provas, os grupos tinham tempo total, variáveis fisiológicas e percepção subjetiva de esforço semelhantes ao final do teste. Esses achados indicam que a experiência prévia no estabelecimento do *pacing strategy* é fundamental para atingir o melhor desempenho possível.

2.3.4 Neuromusculares

Sobre a relação dos parâmetros neuromusculares e *pacing strategy*, é visto que a integração entre SNC e musculatura interfere diretamente na distribuição da velocidade/potência (Hettinga *et al.* 2006; Thomas *et al.* 2015). A fim de investigar a relação entre esses sistemas, os estudos apontam para importância do recrutamento de unidades motoras (UM) pela análise da EMG ao longo do percurso (Ansley *et al.* 2004; Mauger *et al.* 2009). Tem sido observado que o comportamento entre potência e EMG é alterado dependendo da quantidade de informações disponíveis ao longo do percurso (Mauger *et*

al. 2009). É sugerido que o recrutamento de UM é alterado para proteger o organismo em situações onde não se sabe o final da tarefa (Ansley *et al.* 2004). Além disso, mesmo que a potência inicial seja alterada, quando o ponto final é conhecido, os atletas procuram aumentar o recrutamento de UM a fim de manter a potência e fazer o melhor desempenho (Hettinga *et al.* 2006).

A relevância desses parâmetros foi demonstrada no estudo de Damasceno *et al.* (2014), onde a realização de alongamento estático antes de uma prova contrarrelógio de 3 km mudou o *pacing strategy*, piorando o trecho inicial da prova. Os autores sugeriram que aspectos neuromusculares foram alterados, tais como a integral da EMG do bíceps femoral, duração da passada e amplitude de movimento. Além disso, Bertuzzi *et al.* (2014) sugeriram que os fatores determinantes para *pacing strategy* em 10 km varia de acordo com o trecho, sendo que variáveis como força máxima e velocidade pico na esteira são relevantes para os trechos médio e final. É sabido que tais variáveis possuem íntima relação com recrutamento de UM por diferentes fatores, dentre eles melhor coordenação e co-ativação (Bertuzzi *et al.* 2014).

Quanto ao recrutamento de UM e relação com *pacing strategy*, atualmente há grande discussão sobre os mecanismos que interferem e interligam os dois eventos. Diversos modelos teóricos têm buscado explicar o controle da potência ao longo do percurso (Amann 2011; Bertuzzi *et al.* 2014; Marcora *et al.* 2009; Millet 2011; Noakes *et al.* 2001; Ulmer 1996), sugerindo que há interferência do SNC e periférico (Amann 2011; Thomas *et al.* 2015). Alguns trabalhos já demonstraram que há desenvolvimento de fadiga neuromuscular em ambos componentes, em tarefas de curta (10-40 min) (Lepers *et al.* 2002) e longa duração (90 min) (Lepers *et al.* 2002; Millet *et al.* 2003). Contudo, é sugerido que a cinética de fadiga do SNC e periférico é diferente ao longo da tarefa, pois a influência do componente central torna-se mais relevante em tarefas com maior tempo de duração (> 1 h) (Decorte *et al.* 2012; Lepers *et al.* 2002; Place *et al.* 2004).

O estabelecimento das contribuições do SNC e periférico no surgimento da fadiga neuromuscular tem sido realizado, principalmente, através da técnica de ativação voluntária (MERTON, 1954) e estímulos elétricos com a musculatura relaxada (Bentley *et al.* 2000) antes e depois do exercício físico. Por exemplo, Decorte *et al.* (2012) utilizaram uma tarefa de carga constante no ciclo ergômetro com avaliação neuromuscular a cada 6 min para

investigar a cinética da fadiga no SNC e periférico. Foi visto que há redução na capacidade do músculo esquelético em gerar tensão logo aos 20% do total da tarefa, ao passo que há redução do SNC após os 80% do total da tarefa. Tal achado corrobora achados prévios em outras tarefas, tal como a corrida (Millet *et al.* 2003; Place *et al.* 2004), pois indicam que o estabelecimento da fadiga é multifatorial e diferentes mecanismos são utilizados para manter a produção de potência em exercícios com carga constante. Contudo, pouco se sabe sobre exercícios com carga auto selecionável, o *pacing strategy* tem grande influência no controle da fadiga neuromuscular.

Outros trabalhos investigaram a resposta cinética da fadiga e sua relação com tarefas de carga auto selecionável (Froyd *et al.* 2014, 2016; Froyd *et al.* 2013; Thomas *et al.* 2015). De forma semelhante às tarefas de carga constante, a avaliação da fadiga no SNC e periférico apresentam cinética parecida em exercícios com carga auto selecionável, onde a redução na capacidade de gerar tensão da musculatura acontece antes da queda do drive neural oriundo do SNC para a musculatura exercitada (Decorte *et al.* 2012; Place *et al.* 2004). Por outro lado, alguns estudos demonstraram que a duração do exercício parece modular e influenciar a fadiga do SNC e periférico (Froyd *et al.* 2016; Thomas *et al.* 2015). No estudo de Thomas *et al.* (2015), foi demonstrado que em provas contrarrelógio de ciclismo com diferentes distâncias (4, 20 e 40 km) a fadiga após o exercício influencia o SNC e periférico de forma distinta. Em provas de curta duração, no caso 4 km, a fadiga no componente periférico é mais evidente quando comparado com provas de longa duração, 20 e 40 km, onde o SNC apresenta maior fadiga após o exercício.

Nesse contexto, vale a pena ressaltar que os trabalhos que avaliaram a fadiga em exercícios de carga auto selecionável possuem algumas limitações. A avaliação antes e após a tarefa não possibilita maior compreensão do comportamento dos SNC e periférico no desenvolvimento da fadiga neuromuscular, pois é visto que a maioria dos estudos apresenta o “Sprint-final”. Esse aumento da intensidade ao final da tarefa poderia resultar em maior contribuição periférica da fadiga (Froyd *et al.* 2016). Além disso, no estudo de Froyd *et al.* (2016), foi utilizado exercício unilateral de extensão de joelho com carga auto selecionável, sendo que as alterações neuromusculares foram feitas a cada 15 contrações. Os resultados demonstraram que a fadiga no SNC e muscular são semelhantes aos achados prévios, contudo foi observado que o *pacing strategy*, mais especificamente o

últimos 25%, apresentaram alterações importantes nas avaliações ao longo e após a tarefa. Os autores concluíram que a estratégia teve grande interferência no controle da fadiga, sendo que a presença do “Sprint-final” demonstra que os voluntários possuem algum controle sobre as alterações no organismo para obter o melhor desempenho e evitarem o termino prévio.

Dessa forma, considerando que a fadiga a partir do SNC e periférico interferem diretamente na modulação da velocidade/potência em exercícios com carga auto selecionável, a cinética da fadiga parece influenciar diretamente trechos específicos do *pacing strategy* adotado, onde fenômenos como o “Sprint-final” poderia acarretar em maior alteração no componente periférico. Contudo, não se sabe como os componentes SNC e periférico são modulados ao longo de um exercício mais próximo da realidade, como uma prova contrarrelógio de 4 km no ciclismo, dado que os estudos até o momento utilizaram apenas um membro e contrações isométricas.

2.4 Modelos Teóricos de Fadiga em Exercício Físico com Predominância Aeróbia

2.4.1 Modelo de Sistema Controlador Extracelular e Teleoantecipação

Os primeiros trabalhos acerca dos limitantes do desempenho aeróbio em provas de longa duração e closed-loop apoiavam-se em alterações intracelulares (Abbiss e Laursen 2005; Bassett e Howley 2000). Nesse sentido, Ulmer (1996) propõe o modelo teórico de controle extracelular. O modelo apoia-se em diversos mecanismos extracelulares, como SNC, sistema humoral e influência da regulação metabólica intracelular. A regulação do metabolismo intracelular é feita através de sinais aferentes levados até o SNC, resultando em um feedback somatosensorial, onde acrescenta-se com a aprendizagem motora na tarefa permitindo uma previsão da distribuição de energia e otimização do desempenho físico. Dessa forma, as vias aferentes informariam a situação do metabolismo intracelular para o SNC, que por sua vez assimilaria a informação fazendo previsões do final e regularia a intensidade através das vias eferentes para a musculatura. Nesse contexto, a PSE seria a principal variável para mensurar o controle psicofisiológico do SNC a respeito das

informações aferentes e eferentes durante o exercício físico. Dessa forma, o modelo foi nomeado por teleoantecipação, pois utiliza informações aferentes e eferentes com o objetivo de fazer previsões futuras e terminar a tarefa.

Para comprovar o modelo teleoantecipatório, e verificar a existência de tal modelo de controle, foi sugerido que quatro diferentes aspectos deveriam ser levados em conta: 1) Sinais eferentes do SNC para musculatura; 2) sinais aferentes da musculatura e outras partes do corpo para o SNC; 3) o SNC como um órgão controlador e 4) mudanças na potência como resultado de modificações no SNC. Nesse contexto, Ulmer (1996) e duas baterias de testes relacionando a PSE e desempenho físico com carga fixa. No primeiro experimento, foram feitos testes progressivos em 10 atletas e a PSE foi perguntada a cada minuto. Os resultados mostraram um coeficiente de variação de 9% e 13% para cargas altas e baixas, respectivamente. Com isso, os autores assumem que a PSE é um bom indicativo de feedback a respeito da exigência muscular ao longo do exercício para o SNC. Em segundo experimento, foram utilizados diferentes valores fixos da PSE e avaliaram a regulação da intensidade para aqueles valores. Foi visto que em atividades de curta duração (<1min) a PSE não apresentou estabilização da intensidade, diferentemente as atividades de durações maiores (~5 min) houve um período de adaptação no início e estabilização ao longo da tarefa. Desse modo, considerando a relação da PSE com diferentes intensidades de esforço e a regulação da intensidade para PSE fixas, os autores sugerem que há um controle central sobre as alterações intracelulares. Além disso, a existência de um *delay* para ajustar intensidade à PSE fixa em atividades de maiores durações (>1min) demonstra que o organismo demanda determinado tempo para receber, analisar e mandar informações para a musculatura.

Desse modo, o modelo de teleoantecipação é composto por informações de diversas fontes do organismo. Ulmer (1996) sugere que a antecipação ajusta o esforço para que não ocorra exaustão antes do término da tarefa. Assim, o centro de comando que recebe os feedbacks deve levar em conta diversos fatores para a antecipação correta, tais como: reservas metabólicas, taxa metabólica no momento e o tempo até o final da tarefa. Levando isso em conta, o desempenho físico seria otimizado através das informações que o SNC mandaria para a musculatura, ajustando a intensidade.

2.4.2 Governador Central

O modelo de governador central foi proposto posteriormente pelo grupo da África do Sul liderado pelo professor Timothy Noakes. Para esse grupo de pesquisa, a fadiga é um estado sensitivo e não fisiológico (Noakes *et al.* 2005). É sugerido que o organismo possui um regulador central o qual monitora todas mudanças oriundas do exercício, sendo que sua função é manter a homeostase e evitar a catástrofe (Lambert *et al.* 2005; Noakes *et al.* 2005). A palavra “governador” é entendida como um termo genérico que descreve o sistema regulatório que integra os sinais aferentes dos órgãos e musculatura envolvidos e resulta nos comandos neurais eferentes (St Clair Gibson *et al.* 2001). Para que a regulação aconteça de forma precisa, o modelo de governador central se apoia no mecanismo de *feedback* de diferentes sistemas e *feedforward* (Noakes *et al.* 2005). Nesse modelo, o governador central receberia informações sensoriais do organismo, tais como acúmulo de calor, oxigenação geral, perda de fluídos, dano muscular e nível de fadiga. Além disso, também levaria em conta as informações do próprio córtex, tais como estado emocional, nível de motivação, experiência prévia e presença de competidores. Uma vez que todas essas informações forem processadas, a resposta eferente para a musculatura seria baseada na antecipação das mudanças durante o exercício para que não se atinja o limite fisiológico tolerável (NOAKES, 2012).

O modelo foi criado através da observação das variáveis que poderiam limitar o desempenho físico em testes incrementais máximos, por exemplo para detectar o $\dot{V}O_{2max}$. O autor destaca que modelos anteriores postulavam que o exercício cessaria quando a musculatura recebesse menos oxigênio do que necessitaria, entrando em estado de “anaerobiose”. Contudo, foi observado que a oferta de oxigênio sempre supriria a demanda muscular, principalmente no caso do coração, o qual seria o primeiro órgão a ser afetado. Desse modo, o autor sugere que outros fatores além da oxigenação poderiam limitar o desempenho físico. Outro exemplo que suporta a teoria do governador central são os acúmulos de metabólitos e utilização de substratos. Segundo Eston *et al.* (2007), o acúmulo de metabólitos na musculatura envolvida na atividade, serve apenas para levar informações ao governador central e não como limitantes do exercício. De acordo com (Noakes *et al.* 2005a, 2005b), as concentrações de ATP muscular diminuem até 50% do valor em repouso,

mesmo o indivíduo chegando à exaustão e o recrutamento de UM estar em valores submáximos quando normalizados pela CVIM. Em um artigo de revisão de St Clair Gibson *et al.* (2001), é visto que as alterações no recrutamento de UM durante o esforço são uma boa prova de regulação do governador, pois nas CVIMs há queda na produção de força e sinal EMG de forma linear. As utilizações de substratos não conseguiriam explicar tal queda, pois logo nos primeiros segundos de atividade observa-se uma diminuição em ambas medidas sem que haja depredação total das reservas de energia. Além disso, St Clair Gibson *et al.* (2001) sugere que a queda no desempenho de *sprints* repetidos é curvilínea e contrária ao suposto gasto de reservas energéticas que seria linear. No mesmo trabalho é sugerido que os mecanismos inibitórios são independentes da queda das reservas de substratos energéticos, sendo que alterações corticais seriam mais relevantes para queda do rendimento.

As alterações no SNC seriam resumidas através da PSE, pois é controlada primordialmente de forma subconsciente, ou seja, o governador central (Lambert *et al.* 2005). Os autores demonstram que a máxima PSE relatada ao término do exercício não demonstra o máximo acúmulo de metabólitos, recrutamento de UM e esgotamento das reservas energéticas, pois essas variáveis não chegaram ao esgotamento (St Clair Gibson *et al.* 2001). St Clair Gibson *et al.* (2001) demonstraram que em um contrarrelógio de 100 km com *sprints* de 1 km ao longo do percurso, a diminuição da força e EMG foi similar. Os autores concluíram que tal queda em ambas variáveis seria explicada pela diminuição do sinal eferentes para musculatura, pois menos de 20% das UM foram recrutadas. Além disso, em atividades aeróbias com distância ou tempo previamente estabelecidos (*closed-loop*), foi visto que há regulação do esforço para que a catástrofe metabólica não ocorra ao longo do percurso (Kay *et al.* 2001).

Nesse sentido, considerando as provas de intensidade auto selecionável, alguns estudos demonstraram a influência do SNC e controle da potência a fim de evitar níveis de fadiga máximos prévio ao término da tarefa (Lima-Silva *et al.* 2012; Rauch *et al.* 2005; Tucker *et al.* 2004). No estudo realizado por Tucker *et al.* (2004), os sujeitos foram submetidos a dois testes contrarrelógio de 20 km realizados em condição calor (35°C) e de frio (18°C). Durante a realização dos testes contrarrelógio, os atletas apresentaram significativa redução na produção de potência e EMG dos músculos do quadríceps durante

a condição de calor, enquanto a temperatura central, FC e PSE foram similares entre as condições. Para Tucker *et al.* (2004) essa redução na produção de potência e EMG seria uma resposta antecipatória para assegurar que a homeostase da temperatura corporal seja mantida durante a condição de calor.

Desse modo, o modelo teórico de governador central prevê que as alterações decorrentes do exercício são controladas pelo subconsciente a fim de evitar a catástrofe metabólica. Nesse sentido, os autores se apoiam nas evidências de um limite metabólico respeitado em todas as situações e na tentativa de manutenção da homeostase do organismo. Possíveis danos aos tecidos e órgãos seriam evitados com o fim da atividade.

2.4.3 Limiar Crítico Individual de Fadiga Periférica

Outro modelo sugerido na literatura é o limiar crítico individual de fadiga periférica (LCIFP), o nível de fadiga intramuscular é tolerado até certo nível em condições normais, sendo que a consequência além desse limite poderia ser maléfica para a estrutura local e/ou sistêmica. Amann e colaboradores têm procurado comprovar o modelo (Amann *et al.* 2006, 2013; Amann e Dempsey 2008), onde evidenciaram o mesmo limiar de fadiga periférica em diferentes exercícios. Segundo os autores, a intensidade ou tempo limite do exercício é regulada através de informações aferentes da musculatura, chegando até o SNC, que por sua vez regula o drive neural para recrutar mais ou menos UM. Nesse sentido, é relevante ressaltar que tal mecanismo baseia-se no limite sensorial tolerável, proposto por Gandevia (2001). Tal limiar tem como principal variável as vias aferentes III e IV que se localizam na musculatura e são sensíveis à estímulos mecânicos e químicos oriundos do exercício (BLAIN *et al.*, 2016; GANDEVIA, 2001; HUREAU *et al.*, 2017). Independente da origem dos estímulos nessas terminações nervosas, as informações aferentes é que determinam as respostas do SNC no recrutamento de fibras e drive (Amann *et al.* 2013).

Com o intuito de investigar a existência do LCIFP, Amann *et al.* (2006) conduziram um estudo com diferentes concentrações de oxigênio (CaO_2 17.6-24.4 mL O_2 dL⁻¹) em testes contrarrelógio de 5 km conduzindo avaliações neuromusculares antes e após. Para avaliar a fadiga neuromuscular, foi utilizada a técnica de estimulação magnética no nervo femoral (EM), a qual possibilita a mensuração de fadiga no SNC (i.e. central) e na musculatura (i.e.

periférica) abaixo da junção neuromuscular. Foi visto que o desempenho variou de acordo com a oferta de oxigênio, sendo 439 ± 7 e 483 ± 8 segundos na hiperóxia e hipóxia, respectivamente. Contudo, os parâmetros neuromusculares apontaram para a mesma fadiga periférica nas diferentes situações, com redução de $-27.8 \pm 2.3\%$ da força evocada pelo estímulo magnético. Os autores concluem que as discrepâncias nos desempenhos se deram pela diferença na taxa de aumento da fadiga periférica, atingindo de forma mais rápida o LCIFP. Além disso, sugerem que as vias aferentes III e IV foram sensíveis ao um possível aumento nos metabólitos, levando o SNC a diminuir a potência ou cessar a atividade.

No sentido de investigar a importância das vias aferentes, III e IV na influência do SNC e controle da potência, Amann *et al.* (2009) bloquearam tais vias utilizando um anestésico específico (fentanyl), o qual não possui efeito na produção de força ou contração muscular. Após a anestesia, oito ciclistas fizeram um teste contrarrelógio de 5 km e avaliou-se a fadiga periférica antes e após através de EM no nervo femoral. Em comparação ao placebo, os participantes anestesiados produziram $6 \pm 2\%$ a mais de potência nos primeiros 2.5 km, porém com redução de $11 \pm 2\%$ no segundo trecho. De forma geral, a EMG foi $8 \pm 3\%$ maior no teste com anestesia em comparação ao placebo, sendo que não houve diferença entre os tempos para completar o percurso. As avaliações com EM mostraram diferenças na fadiga periférica após o exercício, com maior fadiga na situação com anestesia. Houve redução significativa de $-32.4 \pm 1.9\%$ e $-45.6 \pm 1.9\%$ na produção de força com EM, nas situações placebo e fentanyl, respectivamente. Além disso, não houve diferença estatística no percentual de ativação voluntária entre as condições. Dessa forma, os autores concluem que ao fazer o bloqueio das vias aferentes para o SNC, o controle do LCIFP fica desregulado e por vez ultrapassado o limite durante a atividade. A grande produção de potência na parte inicial do contrarrelógio e posterior redução seria um indício de descontrole do SNC no recrutamento muscular, evidenciado com maior fadiga periférica após o exercício através da EM.

No sentido contrário ao bloqueio das vias aferentes, Amann *et al.* (2013) sugeriram que o aumento de estímulos via maior acúmulo de metabólitos antes do exercício faria com que o SNC reduzisse o drive neural para outra musculatura não fadigada, reforçando assim o sistema de *feedback* inibitório das vias aferentes no SNC. Foi utilizado um teste unilateral

de extensão de joelho com carga constante ($85\% W_{\max}$) até a exaustão e após 10 segundos fez-se exercício com a outra perna não exercitada. Os resultados demonstraram que houve queda no tempo até a exaustão (9.2 ± 0.4 e 4.7 ± 0.6 s, controle e pré-fadiga, respectivamente) e o nível de fadiga periférica não foi o mesmo (-52 ± 3 e $-33 \pm 3\%$ da força com EM, no controle e pré-fadiga, respectivamente). Além disso, a PSE e iEMG tiveram taxas de aumento similares ao controle, porém a iEMG teve valores absolutos menores que a situação com pré-fadiga (247 ± 39 e $98 \pm 35\%$ da iEMG do primeiro minuto nas situações controle e pré-fadiga, respectivamente). Desse modo, os autores concluem que o exercício até a exaustão foi capaz de mandar informações das vias aferentes para o SNC, atingindo o LCIFP, que por sua vez acarretou na redução de recrutamento muscular no exercício posterior, piorando assim o desempenho. Os valores finais da iEMG e fadiga periférica pós exercício da perna sem exercício prévio sustentam essa afirmação, pois o LCIFP não foi atingido no término do exercício. Desse modo, as informações aferentes devem acarretar em alterações inibitórias no SNC, provavelmente no córtex motor ou nas vias descendentes (HUREAU et al., 2017).

Porém, recentemente o modelo de LCIFP tem sido questionado. Thomas *et al.* (2014) avaliaram, por meio de EE aplicada no nervo femoral e estimulação magnética transcraniana (EMT), o nível de fadiga central e periférica durante testes contrarrelógio com diferentes distâncias (4, 20 e 40 km de ciclismo contrarrelógio). Os autores constataram que os ciclistas apresentaram maior grau de fadiga periférica (40%) após 4 km de ciclismo contrarrelógio em comparação com 20 e 40 km (31 e 29%, respectivamente). Por outro lado, o nível de fadiga central, foi maior (-11% e -10%, respectivamente) após 20 e 40 km de ciclismo contrarrelógio quando comparado com 4 km (-7%). Esses achados indicam que o modelo de LCIFP não é aplicado durante a realização de exercícios contrarrelógio de diferentes distâncias, uma vez que o mesmo nível de fadiga periférica não foi atingido entre as condições.

2.4.4 Modelo Psicobiológico

O modelo psicobiológico baseia-se na regulação do SNC sobre o limite da tarefa a ser executada. É proposto que a fadiga e o término do exercício não estão ligadas à capacidade da musculatura na geração de força e sim no quanto o indivíduo está disposto a continuar a tarefa (Marcora e Staiano 2010). O SNC assume um papel principal na regulação, ao ponto de mudanças em seu funcionamento limitarem a atividade. Com o intuito de demonstrar a interferência do SNC sobre o exercício físico, Marcora *et al.* (2009) induziram um estudo de fadiga mental nos voluntários antes de um teste de carga constante em ciclo ergômetro a 80%W_{max}. Na situação de fadiga mental, induzida por um protocolo psicomotor de alta demanda de atenção, houve aumento na sensação de fadiga prévia ao teste, elevada PSE durante o teste e queda no tempo até exaustão (640 ± 316 e 754 ± 339 s, na situação com fadiga mental e controle respectivamente). Além disso, não houve diferença nos parâmetros fisiológicos, como FC, VO₂ e lactato quando analisados em *isotime*. Dessa forma, os autores concluíram que os principais fatores limitantes do exercício foram as alterações no SNC oriundas do estado de fadiga mental, sendo que apenas a PSE e sensações de fadiga e vigor mudaram.

Nesse contexto, Marcora e Staiano (2010) demonstraram que mesmo no estado de fadiga, a produção de força e potência ainda dependem do controle do SNC. Nesse estudo, foi feito um teste de carga constante (80%W_{máx}) em ciclo ergômetro e logo em seguida um *sprint* de cinco segundos com 7.5% do peso corporal. Os resultados demonstraram que, mesmo após o término do teste de carga constante, os voluntários conseguiam produzir potência suficiente para continuar o teste. Foi proposto que a produção de potência é dependente da motivação ou percepção do indivíduo para a atividade, pois a PSE atingiu valores máximos e a musculatura ainda era capaz de produzir potência o suficiente para continuar o teste (Marcora e Staiano 2010).

Dessa forma, de acordo com o modelo psicobiológico proposto, o SNC se basearia de forma independente das vias aferentes para limitar o exercício (Pageaux *et al.* 2015). Em um estudo de Pageaux *et al.* (2015) foi demonstrado que o estado de fadiga mental não altera o nível de ativação voluntária mas aumenta o recrutamento muscular (aumento da EMG do vasto lateral para a mesma potência exercida em ambas situações, fadiga mental

e controle) em um teste de 6 min no ciclo ergômetro a 80%W_{máx}. Além disso, a PSE foi maior ao longo do teste na situação de fadiga mental. Assim, os autores sugerem que as limitações do exercício são decorrentes de mudanças nos processos sensoriais no SNC, dado que a AV% não foi alterada e a PSE e EMG do VL aumentaram. A forma que o exercício é percebido, mensurado através da PSE, é o ponto principal do modelo. Assim, alterações nas áreas sensoriais do córtex, como o estado de fadiga mental, poderiam resultar em término prévio da tarefa (Marcora *et al.* 2009).

O modelo sugere que para modalidades de média e longa duração com intensidade variada, cinco fatores devem ser levados em conta (Pageaux 2014; Marcora 2010b), tais como:

1. Percepção de esforço.
2. Motivação potencial.
3. Conhecimento da distância da tarefa.
4. Conhecimento da distância restante da tarefa.
5. Experiência prévia / memória da percepção de esforço durante exercício.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A sessão de materiais e métodos foi estruturada apresentando os procedimentos distintos (amostra, desenho experimental, protocolos envolvidos no estudo e análise estatística) ou idênticos (antropometria, teste progressivo máximo, familiarização e teste contrarrelógio 4 km de ciclismo) nos dois estudos.

3.1 Estudo 1

3.1.1 Amostra

Foram recrutados 15 ciclistas do sexo masculino (idade: 32 ± 5 anos, massa corporal: 77.5 ± 9.4 kg, estatura: 1.81 ± 0.09 m, frequência cardíaca máxima: 180 ± 12 batimentos·min⁻¹, pico de potência: 372 ± 43 W e VO₂MAX 54.2 ± 5.9 mL·kg⁻¹·min⁻¹) para participarem no estudo 1. De acordo com Pauw *et al.* (2013) os participantes foram classificados como treinados a nível recreacional, baseado nos valores de VO₂MAX e potência pico no teste incremental máximo. Os participantes foram instruídos a evitar exercício intenso e ingestão de álcool nas 24-horas antecedentes ao teste. Também foram instruídos a consumir alimentos ao menos duas horas antes e evitar ingestão de cafeína no dia do teste. Todos os participantes foram informados dos procedimentos e possíveis riscos da pesquisa antes e depois do estudo. Os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, devidamente aprovado pelo Comitê de Ética para estudos com humanos da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (processo nº 111285/2015).

3.1.2 Desenho Experimental

O estudo foi composto por três visitas ao laboratório em um período de duas semanas. Cada sessão experimental foi feita com ao menos 48-horas de diferença e no mesmo período do dia. Na primeira visita, os participantes realizaram um teste incremental máximo, medidas antropométricas e familiarização com o teste 4 km contrarrelógio. Durante a segunda e terceira visita, os participantes realizaram o teste 4 km contrarrelógio. Os dados obtidos do último teste contrarrelógio foram utilizados para as diferentes formas de análise, visual e matemática, para evitar variações relacionadas à aprendizagem.

3.1.3 Análise do *Pacing Strategy*

Os dados de potência (W) foram obtidos a uma frequência de 1 Hz através do software Computrainer e analisados posteriormente de forma *offline*. A potência antes do pico nos primeiros metros foi removida, pois o software simula a resistência inicial em eventos reais de ciclismo e isso poderia influenciar negativamente a análise do *pacing strategy* (Hettinga *et al.* 2006, 2007). A média da potência a cada 200 metros foi utilizada para a análise das três diferentes fases do *pacing strategy* em formato de “U”, na forma visual e matemática.

Para a análise visual, quatro avaliadores, com ao menos três anos de experiência em pesquisa com *pacing strategy*, foram recrutados para encontrar visualmente os pontos de mudança ao longo dos 4 km de ciclismo. Os avaliadores receberam informações verbais e escritas para a análise, a saber: 1) Identifique o exato ponto de mudança que representa a transição da Fase 1 para Fase 2, considerando o primeiro ponto da potência que represente a estabilização após o término da Fase 1 (ponto de mudança 1, PM 1); 2) Identifique o exato ponto de mudança que representa a transição da Fase 2 para Fase 3, considerando o último ponto da potência que represente a estabilização ao término da Fase 2 (ponto de mudança 2, PM 2). A análise visual foi realizada em dois dias diferentes, separados por 7 dias, para determinar a reprodutibilidade do avaliador. O intervalo de 7 foi utilizado para investigar a reprodutibilidade da análise visual, sendo que os mesmos avaliadores analisaram os mesmos dados e informação também foi idêntica.

Foi desenvolvido um modelo matemático simples para identificar os pontos de mudanças 1 e 2 ao longo do teste contrarrelógio de 4 km de ciclismo. O modelo foi construído baseado no conceito de “*Change Point Analysis*” de dados ao longo do tempo. Essa forma de análise foi desenvolvida para identificar mudanças abruptas na estrutura dos dados e demonstra o ponto em que se apresentam dois segmentos homogêneos (Jandhyala *et al.* 2013; Killick 2011). O modelo matemático foi uma forma simplificada de “*Change Point Analysis*” onde utilizou as características do formato em “U” do *pacing strategy* e a fase estável da potência no meio do contrarrelógio de 4 km. A fase estável foi definida entre 1 e 3-km do teste, onde foi baseada em estudos prévios que sugeriram a ocorrência de menor variação da potência entre 25 e 75% da distância total (Abbiss e

Laursen 2008). A média e desvio padrão da potência nessa fase foram utilizados para determinação da mudança de fases, onde variações maiores que dois desvios padrões identificaram o final (PM1) e início (PM2).

Figura 7. Exemplo de identificação dos diferentes pontos de mudança (PM) durante o teste de 4 km contrarrelógio. A linha tracejada representa o limite do modelo matemático para identificação dos PMs. Os círculos destacam os pontos encontrados ao longo do teste.

3.1.4 Análise Estatística

A normalidade dos dados foi analisada através do teste de Shapiro-Wilk, onde todas variáveis demonstraram distribuição normal. A ANOVA de um caminho a quatro níveis (quatro avaliadores) foi utilizada para comparar os pontos de mudança entre avaliadores para PM1 e PM2. O Teste-T Student de amostras dependentes foi utilizado para comparar os valores da análise visual entre os dois momentos, separados por 7 dias, para PM1 e PM2. A reprodutibilidade intra- e entre-avaliadores para a análise visual foi realizada através do coeficiente de correlação intraclassa proposto por Hopkins (HOPKINS, 2000), onde: <0,10 (trivial), 0,10 até 0,30 (pequeno), 0,31 até 0,50 (moderado), 0,51 até 0,70 (grande), 0,71 até 0,90 (muito grande), 0,91 até 0,99 (quase perfeito) e 1 (perfeito). A ANOVA de um caminho a cinco níveis (quatro avaliadores e modelo matemático) foi utilizada para comparar as diferenças entre modelos de análise. Além disso, gráficos de Bland-Altman foram utilizados para comparar os modelos. O nível de significância foi estabelecido a $P \leq$

0,05. Os valores foram reportados em média $\pm$ desvio padrão. Todas análises estatísticas foram conduzidas no software SPSS (versão 13.0).

3.2 Estudo 2

3.2.1 Amostra

Foram recrutados 12 ciclistas do sexo masculino para participar do estudo (idade 32 ± 5 anos, peso corporal $77,5 \pm 9,4$ kg, estatura $181,0 \pm 8,8$ cm, gordura corporal relativa $11,7 \pm 2,5\%$, frequência cardíaca máxima 180 ± 7 batimentos $\cdot$ min⁻¹, potência pico 372 ± 37 watts e VO_{2MAX} $54,2 \pm 4,8$ mL $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ min⁻¹). De acordo com Pauw *et al.* (2013), os participantes foram classificados como treinados a nível recreacional, baseado nos valores de VO_{2MAX} e potência pico no teste incremental máximo. Como critério de inclusão, os participantes poderiam utilizar apenas bicicletas de estrada compatíveis com o ciclo simulador utilizado e não poderiam trocar de equipamento durante o estudo. Além disso, deveriam estar livres de lesões osteoarticulares e miotendíneas, assim como doenças que acometam qualquer sistema biológico envolvido na prática de exercícios físicos. Todos os participantes foram informados de todos os procedimentos e possíveis riscos da pesquisa antes e depois do estudo. Os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, devidamente aprovado pelo Comitê de Ética para estudos com humanos da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (processo nº 111285/2015).

3.2.2 Desenho Experimental

O estudo foi composto por seis sessões experimentais, as quais possuíam o intervalo mínimo de 48 horas e máximo de 72 horas entre as visitas (Figura 8). Na primeira sessão, todos os participantes realizaram avaliação antropométrica para caracterização da amostra e um teste progressivo máximo para determinação do VO_{2MAX} e potência aeróbia

máxima. Na segunda e terceira sessões, os participantes realizaram dois testes contrarrelógio de 4 km para a familiarização com todos os procedimentos experimentais, incluindo a estimulação elétrica. Entre a quarta e sexta sessão, os voluntários realizaram um teste contrarrelógio de 4 km com término em momentos específicos, a saber: 1) término da Fase 1 (F1_{FINAL}); 2) término da Fase 2 (F1_{FINAL}) e 3) término da Fase 3 (F1_{FINAL}) (4 km completo) (Figura 9). Tais momentos foram padronizados para cada voluntário através das familiarizações prévias, sendo que nessas sessões foi utilizado um avatar no software do ciclo simulador. Com a presença do avatar, foi possível que o voluntário seguisse sua performance prévia, realizando a mesma potência nas três sessões experimentais. A escolha da potência a ser seguida foi baseada nas sessões de familiarização, onde foi escolhida a que melhor apresentou o *pacing strategy* em formato de “U”. Os participantes do estudo foram orientados a não realizarem atividades físicas vigorosas, não ingerirem substâncias diuréticas, cafeinadas (café, chocolate, mate, pó-de-guaraná, coca-cola e guaraná) ou alcoólicas nas 48 horas precedentes aos testes experimentais.

Figura 8. Desenho experimental do estudo 2.

Figura 9. Design das visitas experimentais no estudo 2.

3.2.3 Antropometria

Foi realizada uma avaliação antropométrica para determinação da massa corporal, estatura, gordura corporal relativa e densidade corporal, sendo este último utilizando as dobras cutâneas peitoral, abdômen e coxa (Jackson e Pollock 1978).

3.2.4 Teste Progressivo

Os sujeitos pedalarão em um ciclo simulador (RacerMate Computrainer, Seattle, Washington, USA) a 150 W durante cinco minutos para aquecimento. Após esse período, foram aplicados incrementos de 30 W a cada minuto até a exaustão, mantendo uma cadência de pedalada entre 80 e 90 rotações por minuto (rpm) até o final do teste. O teste foi interrompido quando os participantes não conseguiram manter a cadência de pedalada

dentro desse intervalo por três avisos consecutivos feitos pelo pesquisador. Durante todo o teste, medidas de respiração a respiração de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$), dióxido de carbono ($\dot{V}CO_2$) e volume ventilatório (VE) foram obtidas através de um analisador automático de trocas gasosas (Cortex Metalyzer 3B, Cortex Biophysik, Leipzig, Germany). Antes de cada teste, os sensores de fração de O_2 e CO_2 expirado foram calibrados usando um cilindro com uma concentração conhecida de O_2 (12%) e CO_2 (5%). O volume de ar expirado foi calibrado utilizando uma seringa contendo três litros de ar. A frequência cardíaca máxima (FCmax) foi definida como o maior valor obtido no último estágio do teste. O $\dot{V}O_{2max}$ foi definido como o valor médio dos últimos 30s do teste incremental. A Wmax foi determinada como a maior carga que os ciclistas sustentaram durante todo o último estágio (período de um minuto). Quando a carga não foi sustentada durante todo o estágio, a Wmax foi calculada através da equação 1 (Kuipers *et al.* 1985):

$$W_{max} = W_c + [(t/60) \times 30] \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde: W_c é o valor da carga do último estágio completado, t é o tempo (s) em que os ciclistas permaneceram no estágio incompleto, 60 é a duração (s) de cada estágio e 30 é o incremento de potência entre os estágios.

Os limiares ventilatórios foram posteriormente analisados por dois pesquisadores experientes, em caso de divergência um terceiro pesquisador foi chamado. O primeiro limiar ventilatório (LV) foi identificado baseado no aumento da $VE / \dot{V}O_2$ e $PetO_2$, sem o aumento concomitante da $VE / \dot{V}CO_2$ e $PetCO_2$. O segundo limiar ventilatório, chamado de ponto de compensação respiratória (PCR), foi identificado baseando-se no aumento desproporcional de $VE / \dot{V}CO_2$ e queda na $PetCO_2$ (DENADAI, 1995; RIBEIRO, 2005).

3.2.5 Teste de Familiarização

Os participantes realizaram dois testes de familiarização para se adaptarem ao ciclo simulador e procedimentos adotados durante os testes contrarrelógio de 4 km de ciclismo (Stone *et al.* 2011). Os atletas foram informados para realizar o teste no menor tempo possível e permanecerem sentados na bicicleta durante todo teste. Os atletas foram livres para alterar a marcha e a cadência de pedalada durante todo teste contrarrelógio. Durante a realização dos testes contrarrelógio foi fornecido, de forma visual e contínua, a distância percorrida através de uma tela de computador do próprio software posicionada à frente do atleta.

3.2.6 Teste Experimental (4 km contrarrelógio)

Os atletas realizaram, em diferentes sessões experimentais, um teste contrarrelógio de 4 km de ciclismo no ciclo simulador. Primeiramente, foi realizado um aquecimento com cinco minutos de duração em uma intensidade correspondente a 150 W, mantendo a cadência de pedalada em 90 rpm. Em seguida foram realizados cinco minutos de repouso, seguido pelo teste de 4 km contrarrelógio. Durante os testes, foram realizados os mesmos procedimentos adotados no teste de familiarização, sendo que a de produção de potência (PPO) foi coletada de forma contínua para ambos estudos. Para o estudo 2, os sinais EMG, VO_2 , e FC foram mensuradas de forma constante ao longo do percurso. A PSE foi mensurada a cada 400 m (BORG, 1952). Além disso, foram coletados dez mililitros de amostra sanguínea antes e após 5 minutos o teste contrarrelógio.

3.2.7 Mensuração da Contração Voluntária Isométrica Máxima

Antes de cada teste contrarrelógio foi realizado um teste de CVIM. Os participantes realizaram um aquecimento padronizado com quatro contrações isométricas de extensão do joelho direito com duração de 5 segundos, intercaladas por 30s de intervalo entre elas,

em uma intensidade correspondente a 50%, 60%, 70% e 80%, respectivamente, da contração máxima subjetiva de cada participante. Em seguida foram realizadas três CVIM com 5 segundos de duração. Durante as contrações os atletas foram encorajados de forma verbal para atingir a força máxima. A CVIM foi determinada como maior pico de força entre as três CVIM. A força dos músculos do quadríceps da perna direita, com o joelho em um ângulo de 90° (com a extensão total sendo considerada 0°) e com o quadril em 130°, foi mensurada através de uma célula de carga (EMG System Brasil, São José dos Campos, Brasil).

3.2.8 Protocolo de Estimulação Elétrica no Nervo Femoral

A estimulação elétrica transcutânea foi realizado por meio de um estimulador de voltagem constante (Neuro-TES, Neurosoft, Ivanovo, Rússia). O local de estímulo, confirmado pela "máxima" amplitude da onda M, foi identificado por meio de uma caneta de estímulo a qual foi movida ao longo da região do triângulo femoral. O exato local de estímulo foi marcado com uma caneta dermatográfica para reprodução dos estímulos nas sessões seguintes. O nervo femoral foi estimulado utilizando um eletrodo catodo monopolar de superfície fixado no triângulo femoral. O eletrodo anodo monopolar de superfície foi fixado na prega glútea oposto do eletrodo catodo. Estímulos únicos (1 Hz) foram aplicados a cada 30 segundos em uma intensidade inicial correspondente à 10% (100 volts) da intensidade máxima do estimulador (1000 volts) seguido por incrementos de 3% (30 volts) para identificação da intensidade ótima de estímulo. A intensidade ótima de estimulação foi identificada no momento em que não ocorreu um aumento da amplitude da força ou da amplitude da onda M com o aumento da intensidade de estimulação. A intensidade de estimulação usada em todos os testes seguintes foi supra máxima (120% da intensidade ótima) (Neyroud *et al.* 2014). Os estímulos tiveram uma duração de 80µs.

O protocolo de estimulação foi composto de quatro estímulos elétricos com três voltagens diferentes (100, 10 e 1 Hz). Durante a CVIM, um estímulo duplo de 100 Hz foi aplicado de forma sobreposta (2-3 seg) sobre o platô da força. Após a CVIM (2, 4 e 6 seg), estímulos (potencializados) duplos de 100 Hz, 10 Hz e único (1 Hz) foram aplicados,

respectivamente. Esses procedimentos (CVIM + estimulações) foram realizados cinco vezes com intervalo de 30 segundos, contudo o presente trabalho utilizou o maior valor pré e primeira CVIM + estimulações pós teste de 4 km. Nós optamos por utilizar estímulos duplos sobrepostos a CVIM devido a este apresentar uma redução na variabilidade dos valores de ativação voluntária muscular (Kufel *et al.* 2002) e por aumentar a razão sinal/ruído, permitindo detectar pequenas mudanças na ativação voluntária muscular (Gandevia e McKenzie 1988). Essa técnica tem sido utilizada com êxito em estudos prévios conduzidos em nosso laboratório (processo nº 608706/2014).

3.2.9 Análise de Dados – Estimulação Elétrica

Onda M - Amplitude pico a pico foi analisada a partir estímulos únicos (1 Hz) aplicados com o músculo relaxado.

A amplitude do estímulo duplo potencializado de alta frequência (P_{Dp100}), a razão do pico de força em 10 Hz sobre 100 Hz (Dp 10:100) e a amplitude do pico de força durante o estímulo único (P_{un}) foram utilizados para análise. O uso do Dp 10:100 para avaliar fadiga de baixa frequência tem sido validado recentemente (Verges *et al.* 2009).

Para obtenção do nível percentual de ativação voluntária (%AV), foi utilizada a equação corrigida proposta por Strojnik e Komi (1998), como descrito abaixo:

$$\%AV = 100 - [D \cdot (P_{Dp100 \text{ sobreposto}} \cdot \text{pico de força CVIM}^{-1}) \cdot P_{Dp100 \text{ potencializado}}^{-1}] \cdot 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde D significa o delta entre o momento de estímulo e o pico de força evocada, P_{Dp100} é a força absoluta evocada pelo estímulo durante a CVIM, pico de força da CVIM antes do estímulo e P_{Dp100} potencializado é a força evocada com a musculatura relaxada. A equação foi utilizada pelo fato de o momento do estímulo não corresponder ao platô de força, por diferentes razões metodológicas. Estudos prévios na literatura têm utilizado tal equação (Hureau *et al.* 2016).

Adicionalmente, os seguintes parâmetros foram analisados através da força evocada com P_{un} (1 Hz potencializado):

- Pico de tensão potencializada (PT): maior valor da força produzida com o músculo relaxado após a CVIM;
- Tempo de contração (TC): tempo transcorrido entre o início da resposta mecânica e o PT;
- Máxima taxa de desenvolvimento de força (MTDF): pico de inclinação encontrado na fase crescente da curva;
- Meio tempo de relaxamento ($TR_{0.5}$): tempo entre o PT e 50% do PT;

3.2.10 Aquisição e Análise do Sinal Eletromiográfico

Durante as CVIM e os testes contrarrelógio, a aquisição do sinal de EMG dos músculos vasto lateral (VL) e vasto medial (VM) do quadríceps direito foi realizada por meio de um eletromiografo contendo 2 canais (Neuro-EMG-Micro-2, Neurosoft, Ivanovo, Rússia). Inicialmente, foi realizada tricotomia seguida por assepsia com álcool para reduzir a impedância da pele. Após esses procedimentos, um eletrodo bipolar de superfície (AMBU Neuroline 715) foi posicionado sobre o músculo VL e VM. O eletrodo de referência foi posicionado em um local neutro de protuberância óssea. Os eletrodos foram fixados sobre a pele utilizando fita adesiva (Micropore™ 3M, Campinas, SP, Brasil) para minimizar o movimento dos fios. A colocação e localização dos eletrodos foram de acordo com as recomendações do SENIAM (Hermens *et al.* 2000). A frequência de amostragem para a aquisição dos registros eletromiográficos foi de 20.000Hz. O quadrado da média do sinal (root mean square, RMS) foi calculado durante a CVIM e 4 km. Durante o teste contrarrelógio de 4 km, a determinação da ativação muscular foi feita com janelas de 50 ms com trechos de 5 ms, onde foi determinado que sinais acima de 15% da ativação máxima por ao menos 100 ms eram considerados para análise (Damasceno *et al.* 2015). Para cada

ativação, a média da RMS de dez “burst” foi feita a cada 400 metros (EMG_{RMS}). Esses parâmetros foram selecionados na relação sinal/ruído e conferidos visualmente para confirmar os períodos de ativação muscular. O sinal de EMG foi normalizado pelo pico de ativação na CVIM, onde uma janela de 500 ms no pico de força foi utilizada para determinação (250 ms antes e 250 após o valor pico). Feito isso, utilizou-se o maior valor de amplitude da onda-M no momento pre-4 km para normalização dos dados de EMG_{RMS} ($EMG_{RMS} \cdot \text{onda-M}^{-1}$). Todas análises foram feitas usando um algoritmo específico desenvolvido no MatLab (versão R2015a, MathWorks, Natick, MA).

3.2.11 Coletas Sanguíneas e Preparação das Amostras

Foram realizadas coletas sanguíneas por profissionais capacitados em todas as sessões experimentais, duas coletas por sessão, uma antes do estímulo elétrico e 5 minutos após o contrarrelógio. O sangue foi coletado da veia braquial e mantido em temperatura ambiente por 30 minutos. Após esse período, o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos também em temperatura ambiente para obtenção do soro. O soro obtido foi então aliquotado, rapidamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C para posterior análise.

3.2.12 Análise dos Metabólitos Sanguíneos

Previamente à análise dos metabólitos no sangue, filtros 3kDa (Amicon Ultra) foram lavados com o intuito de obter o branco amostral. Foram utilizados 500 μL de H_2O Milli-Q aplicados ao filtro, com posterior centrifugação a 14.000 rpm, durante 10 minutos em temperatura de 4°C. Este processo foi repetido cinco vezes devido a resultados anteriores terem mostrado eliminação total do glicerol do filtro. Após a quinta lavagem, foi realizado um *spin* com inversão do filtro e rotação de 8.000 rpm por 5 segundos para eliminar qualquer resíduo de H_2O Milli-Q. Após o *spin*, foram adicionados ao filtro 350 μL de amostra de soro, a qual foi centrifugada a 14.000 rpm por 45 minutos a 4°C. Após a centrifugação,

foram recuperados 200 µL do soro filtrado. Ao soro foram então adicionados 60 µL de um tampão fosfato (Fosfato de Sódio Monobásico, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -137,99 g.mol⁻¹; Fosfato de Sódio Dibásico, Na_2HPO_3 - 141,96 g.mol⁻¹) (padronização do pH), TSP ((ácido 3-(trimetilsilil)-2,2',3,3' tetradeuteropropiônico ou TMSP-d₄, a 50 mmol.L⁻¹ em D₂O(6,06µL) (referência interna) e 340 µl de H₂O Milli-Q.

3.2.13 Aquisição do Espectro e Identificação dos Metabólitos

Os espectros foram adquiridos utilizando um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Inova Agilent (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA). A RMN utilizado a uma frequência de ressonância de ¹H 600 MHz e temperatura constante de 298 K (25 ° C). Um total de 256 decaimentos de indução livre (FID) foi realizado. A fase espectral e as correções de base, assim como a identificação e quantificação dos metabólitos presentes nas amostras, foram realizadas utilizando o software Suite 7.6 Chenomx RMN (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada). Para inibir qualquer viés tendencioso, as amostras foram perfiladas aleatoriamente.

3.2.14 Análise Estatística

A distribuição dos dados foi analisada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Todas variáveis apresentaram distribuição normal e os dados foram reportados como médias ± desvios padrão. ANOVA a dois fatores (condição x momento) foi utilizada para comparar a potência, variáveis fisiológicas (VO_2 , FC, PSE e RMS_{EMG}) e neuromusculares entre F1_{FINAL}, F2_{FINAL} e F3_{FINAL}. A ANOVA a um fator (momento) com medidas repetidas foi utilizada para comparar as variáveis fisiológicas ao longo da sessão F3_{FINAL}. O teste de *post hoc* de Turkey foi utilizado para a localização das possíveis diferenças. Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* Statistica 13.0 (Dell Inc. USA). O perfil metabolômico foi analisado com valores normalizados por Fold Change (razão pós/pré teste 4 km) onde a análise de Principal Component Analysis (PCA) foi conduzida para discriminar diferentes perfis metabolômicos para cada sessão. A análise supervisionada de Partial Least Square –

Discriminant Analysis (PLS-DA) foi realizada para identificar quais metabólitos discriminavam os perfis. A validade da PLA-DA foi feita através da previsibilidade do modelo ($Q^2 \geq 0,3$). Por final, valores de Variable Importance Projection (VIP) foram obtidos para determinais tais metabólitos, onde foram assumidos como relevantes valores ≥ 1 . Toda análise metabolômica foi feita no software MetaboAnalyst 3.0. Para todos os tratamentos foi adotado um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Resultados Estudo 1

4.1.1 Desempenho no 4 km contrarrelógio

O tempo para completar os 4 km na segunda e terceira visita foram 375 ± 17 e 372 ± 16 segundos. O ICC entre os testes foi quase perfeito (0,97; $P < 0,05$, $n = 15$), demonstrando boa reprodutibilidade e pouco efeito de aprendizado.

4.1.2 Identificação das fases do *pacing strategy*

Apenas um participante não demonstrou PM1, assim não foi possível ser utilizado pelos modelos de análise. Para as análises do modelo visual, todos os avaliadores conseguiram identificar PM1 nos outros participantes ($n = 14$). Na média, PM1 foi identificado próximo de $\sim 11 \pm 6$ % da distância total. Para PM2, houve dois avaliadores que não conseguiram identificar o ponto no mesmo sujeito ($n = 14$). Na média, PM2 foi identificado próximo de $\sim 91 \pm 6$ % da distância total. O modelo matemático foi capaz de identificar PM1 e PM2 em 14 participantes, os quais ocorreram em 431 ± 211 m ($\sim 11 \pm 5$ %) e 3694 ± 231 m ($\sim 91 \pm 5$ %), respectivamente.

4.1.3 Reprodutibilidade do modelo visual

Não houve diferença estatística entre os quatro avaliadores para PM1 e PM2 no primeiro momento de avaliação ($F_{3,55} = 0,287$ e $0,919$, $P = 0,834$ e $0,438$) e no segundo momento ($F_{3,55} = 0,205$ e $1,306$, $P = 0,892$ e $0,282$). Não houve diferenças nos valores entre o primeiro e segundo momento ($P = 0,418$ e $0,761$) para PM1 e PM2. Além disso, os valores entre avaliadores foram altamente reprodutíveis, demonstrando ICC entre muito grande e quase perfeito para PM 1 e 2 (i.e. $ICC \geq 0,87$ e $0,96$, $P < 0,05$, $n = 14$). A reprodutibilidade intra-avaliadores e média dos valores estão demonstrados na Tabela 1, foram encontrados altos valores de concordância (entre muito grande e perfeito).

4.1.4 Concordância entre modelos

Não houve diferença entre o modelo visual e matemático para PM 1 e 2 ($P > 0,05$, $n = 14$, respectivamente). Os gráficos de Bland-Altman analisados para PM1, demonstraram que 70% das comparações tiveram diferenças menores que 5 % (figura 10), onde os limites de confiança foram $\pm 38\%$ (intervalos de confiança $\pm 28\%$ e $\pm 63\%$). Para PM2 Bland-Altman análise, 73% dos valores demonstraram menos que 5% de diferença entre modelos (figura 11), onde os limites de concordância foram $\pm 15\%$ (intervalo de confiança de $\pm 11\%$ e $\pm 25\%$).

Tabela 1. Valores (metros) de cada PM identificado pelos quatros avaliadores nos dois momentos de coleta (7 dias de diferença).

Avaliadores	Ponto de Mudança 1 (m)				Ponto de Mudança 2 (m)			
	Primeiro Momento	Segundo Momento	ICC		Primeiro Momento	Segundo Momento	ICC	
1	403 ± 221	445 ± 232	0,96*	Quase perfeito	3628 ± 274	3548 ± 95	0,89*	Muito grande
2	503 ± 206	415 ± 234	0,89*	Muito grande	3601 ± 251	3646 ± 277	0,93*	Quase perfeito
3	460 ± 210	460 ± 210	1,00*	Perfeito	3564 ± 284	3598 ± 272	0,90*	Muito grande
4	460 ± 210	517 ± 192	0,93*	Quase perfeito	3698 ± 178	3712 ± 156	0,78*	Muito grande

* P < 0.05

Figura 10. Gráficos de Bland-Altman comparando os valores do modelo visual e matemático para PM1. Panel A: representa a diferença entre o avaliador 1 e modelo matemático; Panel B: representa a diferença entre o avaliador 2 e modelo matemático; Panel C: representa a diferença entre o avaliador 3 e modelo matemático; Panel D: representa a diferença entre o avaliador 4 e modelo matemático.

Figura 11. Gráficos de Bland-Altman comparando os valores do modelo visual e matemático para PM2. Panel A: representa a diferença entre o avaliador 1 e modelo matemático; Panel B: representa a diferença entre o avaliador 2 e modelo matemático; Panel C: representa a diferença entre o avaliador 3 e modelo matemático; Panel D: representa a diferença entre o avaliador 4 e modelo matemático.

4.2 Resultados Estudo 2

4.2.1 Reprodutibilidade da Familiarização

A potência durante o teste contrarrelógio de 4-km (potência média para cada sessão) foi altamente reprodutível entre as familiarizações (Sessão 2 = 292 ± 28 W, Sessão 3 = 269 ± 39 W, ICC = 0,911, $P < 0,001$). Além disso, as variáveis neuromusculares também

apresentaram boa reprodutibilidade para %AV (Sessão 2 = 92 ± 2 %, Sessão 3 = 91 ± 4 %, ICC = 0,890, P = 0,015), CVIM (Sessão 2 = 533 ± 126 N, Sessão 3 = 587 ± 142 N, ICC = 0,843, P = 0,035) e P_{un} (Sessão 2 = 164 ± 37 N, Sessão 3 = 169 ± 26 N, ICC = 0,960, P = 0,002).

4.2.2 Potência das sessões experimentais

As comparações para a $F1_{FINAL}$ entre as sessões experimentais não houve efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 12,173$, P = 0,257), condição ($F_{2,20} = 1,482$, P = 0,251) e interação ($F_{2,20} = 1,325$, P = 0,117). Para as comparações entre a $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$, não houve efeito principal de condição ($F_{1,10} = 0,378$, P = 0,552), contudo houve efeito principal do tempo ($F_{8,80} = 4,588$, P < 0,001) e sem interação ($F_{8,80} = 0,945$, P = 0,484). O *post hoc* demonstrou diferença estatística para 400 m comparado com o restante (P = 0,006). Para a avaliação da potência ao longo da sessão $F3_{FINAL}$ houve efeito principal de tempo ($F_{9,90} = 3,928$, P < 0,001), onde o *post hoc* demonstrou maior potência nos pontos 400 e 4.000 m comparado com o resto. Houve diferente tempos e intensidades para completar cada fase do teste 4 km, onde a fase 1, 2 e 3 demonstraram, respectivamente, as seguintes durações e intensidades: 68 ± 14 (83,1% acima e 16,9% abaixo do PCR, em relação ao tempo total da fase 1), 287 ± 17 (24,9% acima e 75,1% abaixo do PCR, em relação ao tempo total da fase 2) e 33 ± 7 s (74,5% acima e 25,5% abaixo do PCR, em relação ao tempo total da fase 3), respectivamente (Figura 12).

Figura 12. Painel A: Potência produzida durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. F1_{FINAL}: fase 1 do *pacing strategy* (600 ± 205 m); F2_{FINAL}: fase 2 do *pacing strategy* (3.600 ± 190 m); F3_{FINAL}: fase 3 do *pacing strategy* (4.000 m). Linhas tracejadas representam a potência referente aos limiares metabólicos, a saber: Limiar Ventilatório (LV); Ponto de compensação Respiratória (PCR) e máximo volume de consumo de oxigênio (VO₂MAX). Painel B: Tempo gasto em cada fase em relação ao PCR. b efeito principal de tempo para Fase 3 (P < 0.05).

4.2.3 Variáveis Fisiológicas

O VO₂, FC e PSE não foram diferentes entre as sessões experimentais. Para as comparações da F1_{FINAL} e as sessões experimentais para VO₂, FC e PSE houve efeito principal de tempo ($F_{2,10} = 32,978, 30,509$ e $10,694$, $P = 0,0001, 0,0002$ e $0,008$), mas não houve efeito principal de condição ($F_{2,20} = 1,456, 1,034$ e $1,959$, $P = 0,256, 0,373$ e $0,167$) e interação ($F_{2,20} = 0,686, 0,587$ e $0,978$, $P = 0,514, 0,565$ e $0,393$). A comparação entre F2_{FINAL} e F3_{FINAL} para VO₂, FC e PSE demonstrou efeito principal de tempo ($F_{8,80} = 26,356, 46,639$ e $29,129$, $P < 0,001$) mas sem efeito principal de condição ($F_{1,10} = 0,740, 0,037$ e $0,013$, $P = 0,409, 0,850$ e $0,910$) e interação ($F_{8,80} = 0,545, 1,187$ e $1,747$, $P = 0,819, 0,317$ e $0,100$). Para a F3_{FINAL}, houve efeito principal de tempo ($F_{9,90} = 26,166$, $P < 0,001$), onde o *post hoc* demonstrou valores inferiores para 400 e 800 m em comparação ao restante do teste contrarrelógio 4-km. A FC e PSE também demonstraram efeito principal de tempo ($F_{9,90} = 45,482$ e $32,625$, $P < 0,001$), onde *post hoc* demonstrou menores valores para 400,

800 e 1200 m em comparação ao restante (Figura 13). A $EMG_{RMS} \cdot \text{onda} \cdot M^{-1}$ do VL e VM não demonstraram diferenças entre as sessões experimentais. A comparação da condição $F1_{FINAL}$ para VL e VM não demonstrou efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 1,030$ e $2,211$, $P = 0,731$ e $0,167$), condição ($F_{2,20} = 0,345$ e $1,364$, $P = 0,712$ e $0,278$) e interação ($F_{2,20} = 0,237$ e $0,063$, $P = 0,791$ e $0,938$). A comparação entre $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$ não demonstrou efeito principal de condição ($F_{1,10} = 0,490$ e $3,189$, $P = 0,499$ e $0,104$), tempo ($F_{8,80} = 1,270$ e $0,423$, $P = 0,270$ e $0,904$) ou interação ($F_{8,80} = 0,678$ e $0,418$, $P = 0,709$ e $0,906$). Para $F3_{FINAL}$ $EMG_{RMS} \cdot \text{onda} \cdot M^{-1}$ ao longo do teste contrarrelógio 4 km demonstrou efeito principal do tempo para ambos músculos ($F_{9,90} = 9,454$ e $6,354$, $P < 0,001$). O *post hoc* demonstrou valores maiores para ambos músculos na distância de 4000 m em comparação ao resto (Figura 14).

Figura 13. Variáveis fisiológicas durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. Painel A: consumo de oxigênio ao longo do teste; Painel B: frequência cardíaca ao longo do teste; Painel C: percepção subjetiva de esforço ao longo do teste. b efeito principal de tempo para Fase 3 ($P < 0,05$).

Figura 14. $RMS_{EMG} \cdot onda-M^{-1}$ durante cada sessão experimental ao longo de teste 4 km contrarrelógio. Painei A: eletromiografia do Vasto Lateral ao longo do teste; Painei B: eletromiografia do Vasto Medial ao longo do teste. b efeito principal de tempo para Fase 3 ($P < 0,05$).

4.2.4 Variáveis neuromusculares

Houve efeito principal de tempo para a maioria das variáveis neuromusculares entre as sessões experimentais (Tabela 2). A fadiga global, mensurada através da CVM demonstrou efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 198,122$, $P < 0,001$) mas não houve efeito principal de condição ($F_{2,20} = 0,485$, $P = 0,622$) e interação ($F_{2,20} = 0,120$, $P = 0,887$). O %AV e P_{un} demonstraram comportamento semelhante, onde houve efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 74,945$ e $61,640$, $P < 0,001$) mas não houve efeito principal de condição ($F_{2,20} = 0,278$ e $2,035$, $P = 0,759$ e $0,156$) e interação ($F_{2,20} = 1,894$ e $0,670$, $P = 0,176$ e $0,522$) (Figura 15). PD_{p100} demonstrou efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 62,601$, $P < 0,001$) mas não houve efeito principal de condição ($F_{2,20} = 0,316$, $P = 0,732$) ou interação ($F_{2,20} = 0,200$, $P = 0,820$). Entretanto, para P_{Dp10} e Dp 10:100 houve efeito principal de tempo ($F_{2,20} = 55,687$ e $32,457$, $P < 0,001$) e condição ($F_{1,10} = 6,179$ e $8,228$, $P < 0,001$) mas sem interação ($F_{2,20} = 2,272$ e $2,665$, $P = 0,129$ e $0,094$). O *post hoc* para P_{Dp10} e Dp 10:100 demonstrou

menores valores para F3 em comparação à F1 ($P = 0,006$ e $0,001$) (Figura 16) (Tabela 3). TC e MTDf demonstraram efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 19,240$ e $12,381$, $P = 0,001$ e $0,005$) mas sem efeito principal de condição ($F_{2,20} = 2,029$ e $2,140$, $P = 0,157$ e $0,143$) e interação ($F_{2,20} = 0,314$ e $0,452$, $P = 0,734$ e $0,642$). $TR_{0.5}$ e amplitude da Onda-M não demonstraram efeito principal de tempo ($F_{1,10} = 0,646$ e $0,020$, $P = 0,440$ e $0,889$), condição ($F_{2,20} = 0,001$ e $1,061$, $P = 0,998$ e $0,364$) e interação ($F_{2,20} = 1,074$ e $0,792$, $P = 0,360$ e $0,466$) (Figura 17) (Tabela 4).

Figura 15. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Painel A: delta de mudança para Contração Voluntária Isométrica Máxima (CVIM) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Painel B: delta de mudança para o percentual de Ativação Voluntária (%AV) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Painel C: delta de mudança para o pico de força no estímulo único potencializado de 1Hz (P_{un}) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Figura 16. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Painel A: delta de mudança para o pico de força no estímulo duplo potencializado de 100 Hz (P_{Dp100}) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Painel B: delta de mudança para pico de força no estímulo duplo potencializado de 10 Hz (P_{Dp10}) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Painel C: delta de mudança para razão entre pico de força potencializado de 10 e 100 Hz ($Dp10 \cdot Dp100^{-1}$) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Figura 17. Delta de mudança entre as sessões experimentais para os dados neuromusculares. Panel A: delta de mudança para Máxima Taxa de Desenvolvimento de Força (MTDF) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Panel B: delta de mudança para Tempo de Contração (TC) em relação ao pre 4 km contrarrelógio; Panel C: delta de mudança para meio Tempo de Relaxamento (TR_{0.5}) em relação ao pré 4 km contrarrelógio; Panel D: delta de mudança para amplitude da Onda-M (Onda-M) em relação ao pré 4 km contrarrelógio.

Tabela 2. Valores absolutos e deltas de mudança para cada variável neuromuscular.

		F1_{FINAL}	F2_{FINAL}	F3_{FINAL}
Fadiga Global				
CVM (N)	Pré	745 ± 139	727 ± 129	744 ± 161
	Pós ^b	656 ± 138	638 ± 140	648 ± 168
	% mudança	-12 ± 6 %	-12 ± 5 %	-13 ± 7 %
Fadiga Central				
AV (%)	Pré	94 ± 3	93 ± 3	93 ± 3
	Pós ^b	86 ± 7	87 ± 5	86 ± 6
	% mudança	-8 ± 4 %	-6 ± 3 %	-8 ± 5 %
Fadiga Periférica				
P _{un} (N)	Pré	202 ± 34	193 ± 31	198 ± 30
	Pós ^b	155 ± 35	148 ± 35	145 ± 33
	% mudança	-23 ± 9 %	-22 ± 14 %	-26 ± 14 %

CVIM: Contração voluntária isométrica máxima; AV: ativação voluntária; P_{un}: estímulo único potencializado (1 Hz). b efeito principal de tempo (P < 0.05).

Tabela 3. Valores absolutos para variáveis de fadiga neuromuscular de baixa e alta frequência.

		F1_{FINAL}	F2_{FINAL}	F3_{FINAL}
P _{Dp100} (N)	Pré	292 ± 44	292 ± 47	291 ± 42
	Pós ^b	262 ± 42	257 ± 43	257 ± 46
	% mudança	-10 ± 5 %	-11 ± 7 %	-11 ± 8 %
P _{Dp10} (N)	Pré	292 ± 45	285 ± 35	282 ± 46
	Pós ^b	234 ± 52 [#]	215 ± 49	203 ± 53
	% mudança	-20 ± 8 %	-24 ± 13 %	-27 ± 17 %
Dp10•Dp100 ⁻¹	Pré	1,00 ± 0,08	0,98 ± 0,06	0,97 ± 0,09
	Pós ^b	0,89 ± 0,12 [#]	0,84 ± 0,14	0,78 ± 0,14
	% mudança	-11 ± 7 %	-14 ± 12 %	-18 ± 14 %

P_{Dp100}: estímulo duplo potencializado (100 Hz); P_{Dp10}: estímulo duplo potencializado (10 Hz); Dp10•Dp100⁻¹: razão entre estímulos duplos potencializados. b efeito principal de tempo e # diferente de F3_{FINAL} (P < 0.05).

Tabela 4. Valores absolutos para variáveis obtidas através do estímulo único potencializado de 1 Hz (P_{un})

		Fase 1	Fase 2	Fase 3
TC (ms)	Pré	114 ± 12	109 ± 10	108 ± 8
	Pós ^b	97 ± 17	94 ± 14	89 ± 20
	% mudança	-14 ± 17 %	-12 ± 14 %	-18 ± 15 %
MTDF ($N \cdot ms^{-1}$)	Pré	6,7 ± 1,0	6,4 ± 0,9	6,6 ± 1,2
	Pós ^b	5,8 ± 1,3	5,4 ± 1,5	5,4 ± 1,4
	% mudança	-12 ± 17 %	-15 ± 20 %	-17 ± 22 %
TR _{0.5} (ms)	Pré	62 ± 8	67 ± 14	65 ± 15
	Pós	69 ± 18	65 ± 22	67 ± 25
	% mudança	9 ± 26 %	-3 ± 17 %	3 ± 32 %
EMG				
Amplitude da onda-M (mV)	Pré	25 ± 5	25 ± 4	27 ± 4
	Pós	24 ± 6	26 ± 4	26 ± 6
	% mudança	-1 ± 6 %	2 ± 7 %	-1 ± 14 %

TC: tempo de contração; TR_{0.5}: meio tempo de relaxamento; MTDF: máxima taxa de desenvolvimento de força. b efeito principal de tempo ($P < 0.05$).

4.2.5 Perfil Metabolômico

A análise PLS-DA de cross-validação demonstrou acurácia de 0,33, r^2 de 0,97 e Q^2 de 0,32 (Figura 18 e 19). Inicialmente o total de 54 metabólitos foram identificados nos espectros da RMN, contudo apenas 21 foram selecionados através dos VIP scores $> 1,0$, demonstrando serem mais relevantes para mudança do perfil metabólito em cada condição (Figura 20). Dentre os 21 metabólitos relevantes, apenas 5 tiveram diferença estatística entre as três condições e foram discutidos no presente trabalho, a saber: 2-oxoisocaproate ($F_{2,14} = 3,624$, $P = 0,053$), asparagina ($F_{2,14} = 8,870$, $P = 0,003$), dimetilamina ($F_{2,14} = 4,658$,

P = 0,028), lactato ($F_{2,14} = 9,624$, P = 0,002) e succinato ($F_{2,14} = 4,339$, P = 0,034). Os demais metabólitos foram identificados por: acetato, alanina, colina, citrato, creatina fosfato, glicerol, isoleucina, malonato, metanol, methionina, metilistidina, n-n-dimetilglicine, fenilalanina, piruvato, tirosina e valina. O *post hoc* demonstrou menores valores para 2-oxoisocarporate (P = 0,053) e Dimatilamina (P = 0,023) para F1_{FINAL} comparado com F2_{FINAL}. O succinato apenas teve menores valores para F1_{FINAL} comparado com F3_{FINAL} (P = 0,038). Já a asparagina e lactato apresentaram diferenças de F1_{FINAL} com F2_{FINAL} (P = 0,003 e 0,028) e F3_{FINAL} (P = 0,022 e 0,002) (Tabela 5).

Figura 18. Principal Component Analysis (PCA) para os dados dos diferentes perfis metabolômicos em cada sessão experimental.

Figura 19. Partial Least Square – Discriminant Analysis (PLS-DA) para discriminação dos perfis metabolômicos em cada sessão experimental.

Figura 20. Variable Importance in the Projections (VIP) para discriminação dos metabólitos relevantes na discriminação de cada perfil metabolômico em cada sessão experimental.

Tabela 5. Perfil metabólico ao final das três diferentes fases do teste contrarrelógio de 4 km.

Metabolitos	Fold Change			VIP	Valor <i>P</i>
	F1 _{FINAL}	F2 _{FINAL}	F3 _{FINAL}		
2-Oxoisocaproate	1,2 ± 0,1 [*]	1,7 ± 0,6	1,4 ± 0,7	1,729	0,053
Asparagina	0,7 ± 0,1 ^{*,#}	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,779	0,003
Dimetilamina	0,7 ± 0,3 [*]	1,2 ± 1,0	1,0 ± 0,2	1,806	0,028
Lactato	2,7 ± 0,9 ^{*,#}	4,5 ± 1,4	4,5 ± 2,1	1,484	0,002
Succinato	1,6 ± 0,6 [#]	2,9 ± 0,5	2,9 ± 1,5	1,470	0,034

F1_{FINAL}: final da fase 1, F2_{FINAL}: final da fase 2, F3_{FINAL}: final da fase 3.

Média ± DP.

* Estatisticamente diferente de F2_{FINAL}.

Estatisticamente diferente de F3_{FINAL}.

5. DISCUSSÃO

5.1 Discussão Estudo 1

O objetivo do estudo 1 foi desenvolver e comparar dois métodos diferentes para identificar as principais fases do *pacing strategy* em formato de “U” durante um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo. Os resultados demonstraram que o modelo visual é reprodutível e similar ao modelo matemático. Esses achados sugerem que ambos modelos possuem sensibilidade para detectar as três diferentes fases do *pacing strategy* em “U”.

Os resultados da presente Dissertação demonstraram que 14 de 15 participantes realizaram as três diferentes fases do “U”. Esses achados corroboram estudos prévios, pois já foi reportado que em eventos de ciclismo de média duração (> 2 min), os atletas frequentemente adotam o *pacing strategy* em formato de “U” (Abbiss e Laursen 2008; Hettinga *et al.* 2006; de Koning *et al.* 1999). Contudo, é relevante ressaltar que a identificação do PM1 demonstrou maior variação comparada com o PM2 quando os gráficos de Bland-Altman foram utilizados para análise (variação dos intervalos de confiança de $\pm 38\%$ comparado com $\pm 15\%$). A possível explicação para disparidade entre os PMs poderia estar relacionada com as variáveis determinantes de cada fase do *pacing strategy* em “U”, onde é sabido que mecanismos fisiológicos (Bishop *et al.* 2002), por exemplo a cinética *on* do consumo de oxigênio, e psicológicos (Tomazini *et al.* 2015) poderiam influenciar a potência dessa fase. Estudos prévios demonstraram considerável influência do aquecimento e maior potência produzida na fase 1 em testes contrarrelógio no ciclismo (Silva *et al.* 2014). Assim, o PM1 possui grande variação pelo fato de a fase 1 ser sensível a diversas variáveis. De fato, análise de Bland-Altman para PM1 demonstrou 6 valores fora do limite de concordância ao passo que PM2 apenas demonstrou 3 valores. Nesse contexto, vale ressaltar que estudos prévios utilizaram diferentes métodos para analisar a Fase 1. Por exemplo, Aisbett *et al.* (2009) considerou que a Fase 1 teria seu término a uma distância fixa para todos voluntários, 5% do tempo total em um teste de 5-min. Ansley *et al.* (2004) utilizou 5% da distância total em um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo, pois a potência produzida foi significativamente maior nesse trecho em comparação ao resto. Em contraste, Hettinga *et al.* (2006) e Gosztyla *et al.* (2006)

consideraram que a Fase 1 teria duração até o meio da distância total nos testes contrarrelógio de 4 km no ciclismo e 5 km na corrida, respectivamente. Dessa forma, é difícil comparar os achados desses estudos considerando que a Fase 1 apresenta grande variação e foram utilizados diferentes métodos de análise.

A análise de variáveis fisiológicas e desempenho no exercício físico é frequentemente feita através de modelos específicos, sendo que a maioria adotou métodos visuais e matemáticos (Cheng *et al.* 1992; Santos e Giannella-Neto 2004; Taylor *et al.* 1955). O modelo visual de análise apresenta grande vantagem pela baixa demanda financeira. Esse é o primeiro estudo a analisar dois diferentes métodos de análise para o *pacing strategy* em formato de “U” durante um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo. O modelo visual demonstrou que o ponto de mudança entre a Fase 1 e Fase 2 ocorreu por volta de $\sim 11 \pm 6$ % da distância total do teste, ao passo que o ponto de mudança entre a Fase 2 e Fase 3 ocorreu por volta de $\sim 91 \pm 6$ %. Não obstante, os resultados também demonstraram que o modelo visual foi reprodutível, pois o ICC foi entre muito alto e perfeito para PM 1 (ICC range de 0,89 – 1,00) e PM2 (ICC range de 0,78 – 0,93). Considerando que modelos visuais de análise em variáveis fisiológicas e desempenho no exercício físico têm demonstrado grande aplicabilidade no campo da ciência do exercício e esporte (Santos e Giannella-Neto 2004), e o modelo proposto no presente trabalho demonstrou boa reprodutibilidade, é possível recomendar que a análise visual seja um bom método para analisar as diferentes fases do *pacing strategy* em “U”.

Apesar de o modelo visual se apresentar como um método útil e eficiente, é necessário que ele seja aplicado por recursos humanos especializados, o que poderia limitar sua aplicação em outros grupos de estudos com pouca familiaridade nessa temática. Dessa forma, um modelo matemático simples foi proposto como forma alternativa para identificação das diferentes fases do *pacing strategy* em “U”. Os resultados demonstraram que ambos modelos, visual e matemático, produziram valores similares para PM1 e PM2. Através da análise com gráficos de Bland-Altman foi visto que a maioria ($\sim 70\%$) da diferença entre os modelos ficou abaixo de 5% de variação para ambos pontos de mudança. É interessante destacar que a determinação do PM2 apresentou maior consistência que PM1 quando comparando os modelos, onde os limites de concordância para os gráficos de Bland-Altman foram menores (~ 15 e 38% , respectivamente). Nesse

contexto, estudos prévios que compararam modelo visual e matemático para determinada varável do exercício apresentaram resultados similares de concordância (Mello *et al.* 2008; Santos e Giannella-Neto 2004). Por exemplo, Santos e Giannella-Neto (2004) demonstraram que a identificação dos limiares ventilatórios durante o exercício físico com modelo visual e matemático demonstrou boa concordância com variação menor que 5% nos gráficos de Bland-Altman. Ao considerarmos o resultado do presente estudo, é possível sugerir que ambos modelos, visual e matemático, possuem sensibilidade semelhante para identificar as diferentes fases do *pacing strategy* em formato de “U”, onde o modelo matemático possui a vantagem de não requerer recursos humanos especializados.

5.1.1 Limitações

O presente estudo utilizou apenas quatro avaliadores para fazer a análise visual, onde a utilização de mais recursos humanos poderia demonstrar melhor reprodutibilidade. Além disso, o teste e amostra utilizada tiveram grande especificidade. Mais estudos deveriam utilizar ambos modelos propostos para verificar a sensibilidade em diferentes atividades e populações, sendo que dependendo da distância e nível de treinamento, o *pacing strategy* pode mudar consideravelmente (Abbiss *et al.* 2016; Lima-Silva *et al.* 2010). Por exemplo, dependendo da distância a ser utilizada no teste, os atletas podem executar *pacing strategy* em formato negativo ou em forma de “J” invertido. Diferentes *pacing strategies* deveriam ser utilizados para investigar a sensibilidade dos modelos em identificar as variações e fases.

5.2 Discussão Estudo 2

O objetivo do estudo 2 na presente dissertação foi investigar o desenvolvimento da fadiga neuromuscular e perfil metabólico durante um teste de carga auto selecionada de 4 km no ciclismo. Os principais achados do estudo 2 foram os seguintes: i) A potência no início do teste diminuiu concomitantemente com aumento da fadiga neuromuscular ao término da Fase 1 ($F1_{FINAL}$); ii) Houve uma aparente estabilização da potência ao longo da Fase 2, a qual foi acompanhada por manutenção do nível de fadiga neuromuscular previamente desenvolvido; iii) Ao final do teste, houve aumento abrupto da potência produzida, contudo o nível de fadiga neuromuscular não foi diferente dos demais trechos; iv) O perfil metabólico teve grandes mudanças logo na $F1_{FINAL}$, sendo que não houve alterações significativas para as demais fases. Nesse contexto, tais achados sugerem que durante um teste de carga auto selecionada de 4 km o nível de fadiga neuromuscular e alteração no perfil metabólico sofrem mudanças logo ao início da tarefa e são mantidos até o final.

Os mecanismos de desenvolvimento da fadiga no exercício físico tem sido um tópico de interesse na comunidade científica desde o começo do século passado (NOAKES, 2000). Estudos recentes têm ressaltado as contribuições do componente central (córtex e espinha dorsal) e intramuscular (abaixo da junção neuromuscular) que originam a fadiga após o exercício físico (Allen *et al.* 2008; Gandevia 2001; Millet 2011). Contudo, as contribuições desses componentes durante um teste de carga auto selecionada ainda são desconhecidas. Esse é o primeiro estudo a investigar o desenvolvimento da fadiga neuromuscular e mudança do perfil metabólico ao longo das diferentes fases de um teste contrarrelógio de 4 km.

O estabelecimento da fadiga pós exercício oriundo de falha em mecanismos intramusculares é constantemente reportado em testes de carga auto selecionada, onde a intensidade do exercício é mantida em valores próximos do máximo (~70% da potência pico no teste incremental) (Amann *et al.* 2009; Thomas *et al.* 2015). De fato, alterações intramusculares que impossibilitam a produção de força após o exercício com predominância aeróbia é dependente da intensidade que o mesmo foi realizado (Thomas *et al.* 2016; Vanhatalo *et al.* 2016). Estudos prévios demonstraram queda de ~30% na força

evocada por estimulação elétrica do músculo relaxado (P_{un} , o qual representa alterações intramusculares) após um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo feito em ~400 segundos e ~80% da potência pico (Amann e Dempsey 2008; Thomas *et al.* 2015). O presente estudo corrobora com esses achados, sendo que os participantes apresentaram redução de ~25% no P_{un} após 1-min do final do exercício, além disso o teste foi concluído em ~380 segundos à ~70% da potência pico. Por outro lado, é visto na literatura que a fadiga originada no SNC ocorre em tarefas de longa duração (Place *et al.* 2004; Thomas *et al.* 2015, 2016). Lepers *et al.* (2002) demonstrou que a fadiga central, mensurada através da AV, apenas foi encontrada ao final de um teste de cinco horas de ciclismo feito em carga constante (55% da potência aeróbia máxima). Contudo, a intensidade do exercício físico é relevante para acentuar a fadiga central (Burnley e Jones 2016; Hureau *et al.* 2016). O presente resultado demonstra que a AV teve queda significativa (~8%) após o teste contrarrelógio de 4 km. De fato, a fadiga central pode ser acentuada após testes de carga auto selecionada feitos em alta intensidade com diferentes durações e quantidade de massa muscular envolvida na tarefa (Froyd *et al.* 2016; Thomas *et al.* 2016). Dessa forma, após o exercício físico de predominância aeróbia e com carga auto selecionada há falha em mecanismos intramusculares e centrais que contribuem para o desenvolvimento da fadiga. Contudo, nenhum estudo demonstrou como esses componentes podem estar relacionados com a variação da intensidade ao longo do teste.

Durante a Fase 1, a potência foi mantida em alta intensidade (~85% da potência aeróbia máxima) por um curto período de tempo e distância (~70 segundos em 600 ± 205 metros de teste). É interessante ressaltar que, ao considerarmos os domínios fisiológicos de intensidade do exercício, a Fase 1 foi mantida no domínio severo em quase sua totalidade (83,1% acima e 16,9% abaixo do PCR, em relação ao tempo total da fase 1) (Burnley e Jones 2016; Vanhatalo *et al.* 2016). Ao término da Fase 1 ($F1_{FINAL}$), os participantes demonstraram desenvolvimento acentuado de fadiga neuromuscular, quando mensurada através da CVIM (~23% de queda em relação ao basal). Além disso, a fadiga detectada na CVIM foi acompanhada por queda em variáveis intramusculares (P_{un} (-23%), P_{Dp10} (-20%) e P_{Dp100} (-10%)) e queda na AV (-8%). Tem sido sugerido na literatura que a queda de força evocada no músculo relaxado estão relacionadas com alterações intramusculares na produção de força (Decorte *et al.* 2012; Millet 2011; Millet *et al.* 2011). Alterações nos valores de P_{un} representam todos os sistemas intramusculares em conjunto,

ao passo que queda na força evocada por estímulos de baixa (P_{Dp10}) e alta frequência (P_{Dp100}) representariam falha no ciclo de estímulo-contração e propagação dos potenciais de ação no sarcolema e/ou túbulos T, respectivamente (HILL et al., 2001; JONES, 1996). Nesse contexto, queda no percentual de AV durante a CVIM é indicativo de falha no SNC em recrutar unidades motoras, podendo ser a nível cortical e/ou espinhal (Gandevia 2001; Temesi et al. 2014). Possivelmente, a fadiga neuromuscular instaurada na $F1_{FINAL}$ poderia estar relacionada à intensidade realizada, pois poderia afetar tanto o SNC quanto mecanismos intramusculares.

A intensidade durante a Fase 1 foi realizada, em sua maioria, acima do ponto PCR, classificada como domínio severo do esforço físico. Tem-se sugerido que no domínio severo há alta taxa de desenvolvimento de fadiga devido às rápidas mudanças intramusculares que levam à falha na produção de força (Burnley e Jones 2016; Thomas et al. 2016; Vanhatalo et al. 2016). Por exemplo, a redução do pH e aumento da concentração de fosfato inorgânico (Pi) intramuscular estariam ligadas à redução de produção de força nas fibras musculares, menor velocidade de contração e produção de potência (FITTS, 1994, 2016). Não obstante, a redução no %AV poderia estar ligada à inibição de vias aferentes (III e IV) oriundas da musculatura, as quais levam informações sobre o estado metabólico intramuscular regiões supra espinhais (Amann et al. 2017; Blain et al. 2016; Gandevia 2001). É sugerido que alterações intramusculares resultantes do exercício físico ativariam vias aferentes nociceptivas ($A\delta$, grupo III) e metaboreceptivas (fibras C, grupo IV) produzindo feedback negativo para o SNC, este reduziria a intensidade do exercício com o intuito de não chegar ao limite de fadiga tolerável (Gandevia 2001; Pollak et al. 2014). Não obstante, trabalhos prévios sugerem que as vias III e IV se conectam ao chifre dorsal na espinha, o qual leva informações a regiões somatossensoriais e córtex frontal (Laurin et al. 2015; Laurinet al. 2010). Mudanças na atividade da região frontal do córtex estão ligadas à tomada de decisões durante o exercício (Boksem et al. 2006). Contudo, poucas são as evidências para tais mecanismos e ainda necessitam de mais estudos para confirmar tal relação.

A potência durante a Fase 2 foi mantida constante antes dos metros finais do teste (3.600 ± 190 m), onde a Fase 3 apresentou aumento gradual até o término. A potência durante a Fase 2 foi abaixo do segundo limiar metabólico (PCR) e acima do limiar

ventilatório, resultando em intensidade do exercício muito pesado. Por outro lado, o “sprint” final foi mantido por volta de ~30 segundos e com produção de potência acima do PCR, considerando assim domínio severo de intensidade do exercício. É relevante ressaltar que ao final de cada Fase, a fadiga global (CVIM) apresentou o mesmo nível de queda (-12 e 13% em relação ao pre- 4 km) e foi acompanhada por redução na força evocada da P_{un} (-22 e 26%, para $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$) e P_{Dp100} (-11 e 11%, para $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$) e no %AV (-6 e -8, para $F2_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$). Contudo, a redução da fadiga de baixa frequência e razão (P_{Dp10} e $Dp10 \cdot Dp100^{-1}$) foi maior para $F3_{FINAL}$ comparada à $F1_{FINAL}$. A manutenção da fadiga global entre as diferentes fases sugere que na $F1_{FINAL}$, os participantes reduziram a potência para manter o mesmo nível de fadiga acumulado, inclusive nas contribuições periférica e central. Além disso, a diferença entre queda na força evocada com 10 Hz entre a $F1_{FINAL}$ e $F3_{FINAL}$ poderia ilustrar a demanda para executar o sprint final, onde a intensidade foi mantida no domínio severo.

Durante a Fase 2, a intensidade do exercício foi mantida no domínio pesado, onde alterações metabólicas e fisiológicas apresentam menor taxa de desenvolvimento de fadiga do que o domínio severo. Estudos prévios demonstraram que o exercício físico no domínio pesado podem ser mantidos por longos períodos até atingir a exaustão (entre 40 minutos e 3 horas) (Burnley e Jones 2016; Thomas *et al.* 2016). Nesse contexto, os resultados demonstram manutenção do nível de fadiga após a Fase 1, poderia indicar menor taxa de acúmulo de metabólitos na musculatura e alterações no SNC (Burnley e Jones 2016; Thomas *et al.* 2016). Não obstante, testes até exaustão no domínio pesado têm sido relacionados com depleção de glicogênio muscular e aumento na concentração de neurotransmissores inibitórios no córtex (Taylor *et al.* 2016). Ambos mecanismos de fadiga apresentam elevada demanda de tempo para ocorrerem, quando comparados à domínios com intensidade mais elevada (severo e extremo) (Burnley e Jones 2016; Thomas *et al.* 2016)

Na $F3_{FINAL}$ foi visto que houve falha em mecanismos intramusculares quando comparados com a $F1_{FINAL}$. A menor força evocada com estímulo de 10 Hz e razão ($Dp10 \cdot Dp100^{-1}$) indica pior mobilidade de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RSP) e ciclo excitação-contração (Verges *et al.* 2009; Westerblad *et al.* 2000). Além disso, foi visto que o sinal EMG da musculatura aumentou nos metros finais, demonstrando maior drive neural

e recrutamento de unidades motoras. De fato, em testes com carga auto selecionável os participantes geralmente aumentam o drive neural na tentativa de melhorar o desempenho. Froyd *et al.* (2016) demonstraram maior atividade EMG nos últimos 25% de exercício concêntrico unilateral de carga auto selecionada independente da duração (3, 10 e 40 minutos). Além disso, não houve queda adicional no %AV após o “spint” final nas três durações testadas. O presente resultado corrobora com esses achados, onde o %AV foi mantido após o “spint” final, contudo a falha em mecanismos intramusculares pode ser devido a diferenças no exercício físico e acúmulo de metabólitos envolvidos na tarefa.

Também houve diferenças nos perfis metabolômicos ao final de cada fase do teste contrarrelógio de 4 km, as quais foram constituídas por 21 metabólitos. Contudo, apenas 5 metabólitos apresentaram diferença estatística entre as diferentes fases. Vale ressaltar que as principais diferenças foram entre F1_{FINAL} e as outras duas sessões, demonstrando assim maior variação do metabolismo logo no início do teste contrarrelógio de 4 km. Dentre os metabólitos que apresentaram diferença, ao menos 2-oxoisocaproate, asparagina e succinato, estão ligados ao ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT) (Pechlivanis *et al.* 2015; Zafeiridis *et al.* 2016). Já os outros dois metabólitos, lactato e dimetilamina, estão relacionados à via anaeróbia de produção de energia e metabolismo de colina, respectivamente (Pechlivanis *et al.* 2015; Wasserman 1984; Zhang *et al.* 1998). É sugerido que alterações metabólicas durante o exercício com predominância aeróbia são controladas pelo SNC com o objetivo de manter a homeostase e prevenir o término prévio da tarefa (Millet 2011; Noakes *et al.* 2001; Taylor *et al.* 2016). Estudos prévios demonstraram que durante o *pacing strategy* em formato de “U” os atletas adotam o “fast-start” com o intuito de acelerar a cinética de oxigênio e ativar a via oxidativa de produção de energia, poupando assim a reserva anaeróbia para outros trechos da tarefa (Bishop *et al.* 2002; Hettinga *et al.* 2006). Os resultados do presente estudo corroboram esses achados, pois na F1_{FINAL} houve aumento de três metabólitos ligados ao CAT e não houve diferença entre F2_{FINAL} e F3_{FINAL}. O aumento de 2-oxoisocaproate está relacionado à degradação de leucina para produção de acetil-CoA, o qual é extremamente relevante para o funcionamento do CAT (Hood e Terjung 1990). Dessa mesma forma, o aumento de asparagina também está relacionado com o funcionamento da via oxidativa de produção de energia, uma vez que a degradação desse amino ácido está envolvida em produção de oxaloacetato. Estudos sugerem que a suplementação de asparagina melhora o

desempenho em testes de carga constante até a exaustão, melhorando a via oxidativa e exigindo menos da via anaeróbia (Lancha *et al.* 1995; Marquezi *et al.* 2003). Por sua vez, o succinato está diretamente relacionado com o CAT, pois é formado pela redução de succinil-CoA através da enzima succinil-CoA-sintetase para, posteriormente, formar fumarato através da succinato-desidrogenase. Além disso, o aumento de succinato está relacionado com o aumento de utilização de glicose e lipídios no músculo esquelético (Lewis *et al.* 2010). Possivelmente, as alterações desses três metabólitos poderiam ser marcadoras indiretos para o organismo regular a intensidade do exercício, sendo que é sugerido que diminuição nos níveis de amino ácidos disponíveis seriam detectadas pelo SNC e há grande formação de ureia (Hood e Terjung 1990; Pechlivanis *et al.* 2015; Zafeiridis *et al.* 2016).

Não obstante, variações na concentração de dimetilamina e lactato também poderiam ser relevantes para o controle da intensidade do exercício. A dimetilamina é um subproduto do metabolismo da colina, sendo formada no fígado e intestino (Conlay *et al.* 1992; Penry e Manore 2008; Zhang *et al.* 1995; Zhang *et al.* 1998). O metabolismo de colina é extremamente relevante para o funcionamento do organismo, pois está relacionado à formação de neurotransmissores (acetilcolina), sinalização na membrana celular (fosfolipídeos), transporte de lipídios (lipoproteínas) e doação do grupo metil para várias reações bioquímicas (redução da homocisteína) (Conlay *et al.* 1992; Penry e Manore 2008). Estudos prévios demonstraram que o metabolismo de colina pode ser relevante para o exercício com predominância aeróbia, sendo que atividades de longa duração (>2 horas) e alta intensidade (>70 % do VO_{2MAX}) promovem queda acentuada dos níveis de colina sanguínea (redução de ~40% após uma maratona) (Conlay *et al.* 1992; Penry e Manore 2008). Além disso, a suplementação de colina ao longo de um teste contrarrelógio de 20 km no ciclismo melhorou o desempenho e manteve a concentração de colina estável durante o exercício (Penry e Manore 2008). No mesmo sentido, alterações nos níveis de lactato parecem estar ligadas à mecanismos de controle do SNC durante o exercício (Gandevia 2001; Pollak *et al.* 2014; Taylor *et al.* 2016). O aumento de concentração de lactato, Pi e ions H^+ estão ligados às sensações de cansaço e dor na musculatura, pois estão ligados à ativação das vias aferentes III e IV na musculatura. Nesse contexto, é plausível sugerir que alterações abruptas decorrentes de ambos metabólitos em relação ao basal podem ser relevantes para diminuição da intensidade do exercício, pois na $F1_{FINAL}$

houve maior alteração em relação ao basal do que nas outras duas fases. Possivelmente, na F2_{FINAL} e F3_{FINAL} o organismo regula as variações da homeostase através desses metabólitos para não ocorrer efeitos deletérios ao organismo e término prévio da tarefa.

5.2.1 Limitações

Algumas limitações da presente Dissertação devem ser destacadas. É possível que o resultado do presente estudo seja específico ao tipo de atividade e o nível de treinamento dos sujeitos que compuseram a amostra. Já foi demonstrado na literatura que diferentes tipos de atividade física provocam variações na fadiga neuromuscular, por exemplo, a comparação entre um teste contrarrelógio de ciclismo e de corrida apresentou falhas distintas nos mecanismos intramusculares. Além disso, também foi demonstrado que diferente nível de treinamento impacta diretamente no *pacing strategy* ao longo de um teste contrarrelógio. Contudo, não se sabe se as alterações nas diferentes fases do *pacing* em “U” seriam semelhantes. Dessa forma, os resultados e conclusão do presente estudo deve ser testada em diferentes atividades e níveis de treinamento.

6. CONCLUSÃO

6.1 Estudo 1

Os resultados do presente estudo demonstraram que o modelo visual é um método reprodutível para identificar as três diferentes fases do *pacing strategy* em “U” em um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo. Considerando a boa concordância entre o modelo visual e matemático, onde a maioria da diferença entre modelos foi menor que 5% de variação, é possível recomendar o modelo matemático como um bom método alternativo. Dessa forma, a análise do *pacing strategy* em formato de “U” pode ser utilizado em grupos de pesquisa com e sem recursos humanos especializados.

6.2 Estudo 2

Os resultados do presente estudo sugerem que, ao longo de um teste contrarrelógio de 4 km no ciclismo, o nível de fadiga neuromuscular é estabelecido logo no início e mantido até o final da tarefa. Somando-se a isso, foi visto que a fadiga neuromuscular foi resultante de falha em mecanismos do SNC e intramusculares, possivelmente demonstrando um robusto sistema de controle do organismo para regular a intensidade do exercício. Não obstante, o perfil metabolômico parece estar associado com alterações em metabólitos da via oxidativa e outros marcadores relevantes para o SNC controlar a intensidade do exercício.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBISS, C. R. et al. Effect of hot versus cold climates on power output, muscle activation, and perceived fatigue during a dynamic 100-km cycling trial. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 2, p. 117–125, 2010.
- ABBISS, C. R. et al. Difference in pacing between time- and distance-based time trials in trained cyclists. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 11, n. 8, p. 1018–1023, 2016.
- ABBISS, C. R.; LAURSEN, P. B. Models to Explain Fatigue during Prolonged Endurance Cycling. **Sports Medicine**, v. 35, n. 10, p. 865–898, 2005.
- ABBISS, C. R.; LAURSEN, P. B. Describing and Understanding Pacing Strategies during Athletic Competition. **Sports Medicine**, v. 38, n. 3, p. 239–252, 2008.
- AISBETT, B. et al. Influence of all-out and fast start on 5-min cycling time trial performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 10, p. 1965–1971, 2009.
- ALLEN, D. G.; LAMB, G. D.; WESTERBLAD, H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. **Physiological reviews**, v. 88, n. 1, p. 287–332, 2008.
- AMANN, M. et al. Arterial oxygenation influences central motor output and exercise performance via effects on peripheral locomotor muscle fatigue in humans. **J Physiol**, v. 575, n. Pt 3, p. 937–952, 2006.
- AMANN, M. et al. Opioid-mediated muscle afferents inhibit central motor drive and limit peripheral muscle fatigue development in humans. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 1, p. 271–283, 2009.
- AMANN, M. Central and peripheral fatigue: Interaction during cycling exercise in humans. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 11, p. 2039–2045, 2011.
- AMANN, M. et al. Peripheral fatigue limits endurance exercise via a sensory feedback-mediated reduction in spinal motoneuronal output. **J Appl Physiol**, v. 115, p. 355–364, 2013.
- AMANN, M.; DEMPSEY, J. A. Locomotor muscle fatigue modifies central motor drive in healthy humans and imposes a limitation to exercise performance. **Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 161–73, 2008.
- ANSLEY, L. et al. Regulation of pacing strategies during successive 4-km time trials. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 10, p. 1819–1825, 2004.
- ATKINSON, G. et al. Distribution of Power Output During Cycling. **Sports Medicine**, v. 37, n. 8, p. pp.647-667, 2007.
- ATKINSON, G.; BRUNSKILL, A. Pacing strategies during a cycling time trial with simulated headwinds and tailwinds. **Ergonomics**, v. 43, n. 10, p. 1449–1460, 2000.
- BADEN, D. A et al. Effect of anticipation during unknown or unexpected exercise duration on rating of perceived exertion, affect, and physiological function. **Br J Sports Med**, v. 39, n. 10, p. 5, 2005.
- BARON, B. et al. Why does exercise terminate at the maximal lactate steady state intensity ? **British Journal of Sports Medicine**, v. 80, p. 828–833, 2008.
- BASSETT, D. R.; HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 1, p. 70–84, 2000.
- BENTLEY, D. J.; SMITH, A.; DAVIE, A. J. Muscle activation of the knee extensors following high intensity

endurance exercise in cyclists. **European Journal of Applied Physiology**, v. 81, p. 297–302, 2000.

BERTUZZI, R. C. D. M. et al. Pacing strategy determinants during a 10-km running time trial: contributions of perceived effort, physiological and muscular parameters. **Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 28, n. 6, p. 1688–1696, 2014.

BISHOP, D.; BONETTI, D.; DAWSON, B. The influence of pacing strategy on VO₂ and supramaximal kayak performance. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 34, n. 6, p. 1041–1047, 2002.

BLAIN, G. M. et al. Group III / IV muscle afferents limit the intramuscular metabolic perturbation during whole body exercise in humans. **J Physiol**, v. 18, p. 5303–5315, 2016.

BOKSEM, M. A. S.; MEIJMAN, T. F.; LORIST, M. M. Mental fatigue, motivation and action monitoring. **Biological Psychology**, v. 72, n. 2, p. 123–132, 2006.

BORG, G. A. V. Psychological Bases of Perceived Exertion. Pdf. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 14, n. 5, p. 377–361, 1952.

BURNLEY, M.; JONES, A. M. Power–duration relationship: Physiology, fatigue, and the limits of human performance. **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–12, 2016.

CHENG, B. et al. A new approach for the determination of ventilatroy and lactate thresholds. **International journal of sports medicine**, v. 13, n. 7, p. 518–522, 1992.

CONLAY, L. A.; SABOUNJIAN, L. A.; WURTMAN, R. J. Exercie and neuromodulators: Choline and acetylcholine in marathon runners. **International Journal of Sports Medicine**, v. 13, p. 141–142, 1992.

DAMASCENO, M. V. et al. Static stretching alters neuromuscular function and pacing strategy, but not performance during a 3-km running time-trial. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, p. 1–8, 2014.

DAMASCENO, M. V. et al. Effects of resistance training on neuromuscular characteristics and pacing during 10-km running time trial. **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 7, p. 1513–1522, 2015.

DE KONING, J. J.; BOBBERT, M. F.; FOSTER, C. Determination of optimal pacing strategy in track cycling with an energy flow model. **Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia**, v. 2, n. 3, p. 266–277, 1999.

DECORTE, N. et al. Central and peripheral fatigue kinetics during exhaustive constant-load cycling. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 22, n. 3, p. 381–391, 2012.

DENADAI, B. S. Limiar Anaeróbio: Considerações Fisiológicas e Metodológicas. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v. 2, p. 74–88, 1995.

ESTON, R. et al. The effect of antecedent fatiguing activity on the relationship between perceived exertion and physiological activity during a constant load exercise task. **Psychophysiology**, v. 44, n. 5, p. 779–786, 2007.

FAUDE, O.; KINDERMANN, W.; MEYER, T. Lactate Threshold Concepts How Valid are They ? **Sports Medicine**, v. 39, n. 6, p. 469–490, 2009.

FAULKNER, J.; PARFITT, G.; ESTON, R. The rating of perceived exertion during competitive running scales with time. **Psychophysiology**, v. 45, p. 977–985, 2008.

FITTS, R. H. Cellular Mechanisms of Muscle Fatigue. **Physiological reviews**, v. 74, n. 1, 1994.

- FITTS, R. H. The Role of Acidosis in Fatigue : Pro Perspective. **Med. Sci. Sports Exerc.**, p. 2335–2338, 2016.
- FOSTER, C. et al. Physiological responses during simulated competition. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 25, n. 7, p. 877–882, 1993.
- FOSTER, C. et al. Pacing Strategy and Athletic Performance. **Sports Medicine**, v. 17, n. 2, p. 77–85, 1994.
- FROYD, C. et al. Potentiation and Electrical Stimulus Frequency During Self-Paced Exercise and Recovery. **Journal of Human Kinetics**, v. 42, p. 91–101, 2014.
- FROYD, C. et al. Central regulation and neuromuscular fatigue during exercise of different durations. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 48, n. 6, p. 1024–1032, 2016.
- FROYD, C.; MILLET, G. Y.; NOAKES, T. D. The development of peripheral fatigue and short-term recovery during self-paced high-intensity exercise. **J Physiol**, v. 591, n. 5, p. 1339–1346, 2013.
- GANDEVIA, B. Y. S. C.; MCKENZIE, D. K. Activation of human muscles at short muscle lengths during maximal static efforts. **Journal of Physiology**, v. 407, p. 599–613, 1988.
- GANDEVIA, S. C. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiological reviews**, v. 81, n. 4, p. 1725–89, 2001.
- GOSZTYLA, A. E. et al. the Impact of Different Pacing Strategies on Five-Kilometer Running Time Trial Performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 20, n. 4, p. 882–886, 2006.
- HERMENS, H. J. et al. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 10, n. 5, p. 361–374, 2000.
- HETTINGA, F. J. et al. Pacing strategy and the occurrence of fatigue in 4000-m cycling time trials. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 38, n. 8, p. 1484–1491, 2006.
- HETTINGA, F. J. et al. Effect of pacing strategy on energy expenditure during a 1500-m cycling time trial. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 12, p. 2212–2218, 2007.
- HETTINGA, F. J.; DE KONING, J. J.; FOSTER, C. VO₂ response in supramaximal cycling time trial exercise of 750 to 4000 m. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 1, p. 230–236, 2009.
- HILL, C. A. et al. Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. **J Physiol**, v. 531, n. 3, p. 871–878, 2001.
- HOOD, D. A.; TERJUNG, R. L. Amino Acid Metabolism During Exercise and Following Endurance Training. **Sports Medicine**, v. 9, n. 1, p. 23–35, 1990.
- HOPKINS, W. G. Measures of reliability in sports medicine and science. **Sports Medicine**, v. 30, n. 1, p. 1–15, 2000.
- HUREAU, T. J. et al. The “ sensory tolerance limit ”: A hypothetical construct determining exercise performance ? **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–12, 2017.
- HUREAU, T. J.; DUCROCQ, G. P.; BLAIN, G. M. Peripheral and Central Fatigue Development during All-Out Repeated Cycling Sprints. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 48, n. 3, p. 391–401, 2016.
- INGEN SCHENAU, G. J.; DE KONING, J. J.; GROOT, G. The distribution of anaerobic energy in 1000 and 4000 metre cycling bouts. **Int J Sports Med.**, v. 13, n. 6, p. 447–451, 1992.

- JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **British Journal of Nutrition**, v. 40, p. 497–504, 1978.
- JANDHYALA, V. et al. Inference for single and multiple change-points in time series. **Journal of Time Series Analysis**, v. 34, n. 4, p. 423–446, 2013.
- JOHNSON, M. A. et al. Locomotor muscle fatigue is not critically regulated after prior upper body exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 119, p. 840–850, 2015.
- JONES, D. A. High- and low-frequency fatigue revisited. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 156, p. 265–270, 1996.
- KAY, D. et al. Evidence for neuromuscular fatigue during high-intensity cycling in warm, humid conditions. **European Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 1–2, p. 115–121, 2001.
- KELLER, J. B. Optimal Velocity in a Race. **Mathematical Association of America**, v. 81, n. 5, p. 474–480, 1974.
- KENNELLY, A. E. An Approximate Law of Fatigue in the Speeds of Racing Animals. **American of Arts & Science**, v. 42, n. 15, p. 275–331, 1906.
- KILLICK, R. Analysis of changepoint models . In: BARBER, D. (UNIVERSITY C. L.; CEMGIL, A. T.; CHIAPPA, S. (Eds.). . **Bayesian Time Series Models**. First edit ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. p. 205–222.
- KONING, J. J. DE et al. Regulation of Pacing Strategy during Athletic Competition. **PLoS ONE**, v. 6, n. 1, p. 2–7, 2011.
- KUFEL, T. J.; PINEDA, L. A.; JEFFERY MADOR, M. Comparison of potentiated and unpotentiated twitches as an index of muscle fatigue. **Muscle and Nerve**, v. 25, n. 3, p. 438–444, 2002.
- KUIPERS, H. et al. Variability of Aerobic Performance in the Laboratory and its Physiologic Correlates. **International Journal Sports Medicine**, v. 6, p. 197–201, 1985.
- LAMBERT, E. V; ST CLAIR GIBSON, A.; NOAKES, T. D. Complex systems model of fatigue: integrative homeostatic control of peripheral physiological systems during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, v. 39, n. 1, p. 52–62, 2005.
- LANCHA, A. H. J. et al. Effect of Aspartate , Asparagine , and Carnitine Supplementation in the Diet on Metabolism of Skeletal Muscle During a Moderate Exercise. **Physiology & behavior**, v. 57, n. 2, p. 367–371, 1995.
- LAURIN, J. et al. Group III and IV muscle afferents: role on central motor drive and clinical implications. **NEUROSCIENCE**, v. 290, p. 543–551, 2015.
- LAURIN, J.; DOUSSET, E.; DECHERCHI, P. Modulation of the Spinal Excitability by Muscle Metabosensitive Afferent Fibers. **J Neurosci Res**, v. 88, p. 2755–2764, 2010.
- LAURSEN, P. B. et al. Relationship between laboratory-measured variables and heart rate during an ultra-endurance triathlon. **Journal of Sports Sciences**, v. 23, n. 10, p. 1111–1120, 2005.
- LAURSEN, P. B. et al. Reliability of time-to-exhaustion versus time-trial running tests in runners. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 8, p. 1374–1379, 2007.

- LEPERS, R. et al. Neuromuscular fatigue during a long-duration cycling exercise. **Journal of applied physiology**, v. 92, n. 4, p. 1487–1493, 2002.
- LEWIS, G. D. et al. Metabolic signatures of exercise in human plasma. **Sci Transl Med**, v. 2, n. 33, 2010.
- LIMA-SILVA, A. E. et al. Effect of performance level on pacing strategy during a 10-km running race. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 5, p. 1045–1053, 2010.
- LIMA-SILVA, A. E. et al. Listening to music in the first, but not the last 1.5 km of a 5-km running trial alters pacing strategy and improves performance. **Int J Sports Med**, v. 33, p. 813–818, 2012.
- LIMA-SILVA, A. E. et al. Prior Exercise Reduces Fast-Start Duration and End-Spurt Magnitude during Cycling Time-Trial. **International Journal of Sports Medicine**, v. 34, n. 8, p. 736–741, 2013.
- MARCORA, S. M.; STAIANO, W. The limit to exercise tolerance in humans: Mind over muscle? **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 4, p. 763–770, 2010.
- MARCORA, S. M.; STAIANO, W.; MANNING, V. Mental fatigue impairs physical performance in humans. **Journal of applied physiology**, v. 106, n. 3, p. 857–864, 2009.
- MARQUEZI, M. L. et al. Effect of Aspartate and Asparagine Supplementation on Fatigue Determinants in Intense Exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, n. 12, p. 65–75, 2003.
- MATTERN, C. O. et al. Impact of starting strategy on cycling performance. / Impact de la strategie de depart sur les performances en cyclisme. **International Journal of Sports Medicine**, v. 22, p. 350–355, 2001.
- MAUGER, A. R.; JONES, A. M.; WILLIAMS, C. A. Influence of feedback and prior experience on pacing during a 4-km cycle time trial. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 2, p. 451–458, 2009.
- MELLO, R. G. T. et al. Detection of ventilatory threshold by an automatic parabolic model. **Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference**, v. 2008, p. 1064–1067, 2008.
- MERTON, P. Voluntary strength and fatigue. **J. Physiol**, v. 123, n. Rca 5734, p. 553–564, 1954.
- MILLET, G. Y. et al. Alteration of neuromuscular function after a prolonged road cycling race. **International Journal of Sports Medicine**, v. 24, n. 3, p. 190–194, 2003.
- MILLET, G. Y. Can Neuromuscular Fatigue Explain Running Strategies and Performance in Ultra-Marathons? **Sports Medicine**, v. 41, n. 6, p. 489–506, 2011.
- MILLET, G. Y. et al. Electrical stimulation for testing neuromuscular function: From sport to pathology. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 10, p. 2489–2500, 2011.
- NEYROUD, D. et al. The effect of muscle fatigue on stimulus intensity requirements for central and peripheral fatigue quantification. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 1, p. 205–215, 2014.
- NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C. Systems biology: Metabonomics. **Nature**, v. 455, n. 7216, p. 1054–1056, out. 2008.
- NIEMAN, D. C. et al. Serum metabolic signatures induced by a three-day intensified exercise period persist after 14 h of recovery in runners. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 10, p. 4577–4584, 2013.
- NIEMAN, D. C. et al. Metabolomics approach to assessing plasma 13- and 9-hydroxy-octadecadienoic acid

and linoleic acid metabolite responses to 75-km cycling. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 307, n. 1, p. R68-74, 2014.

NOAKES, T. D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 10, n. 3, p. 123–145, 2000.

NOAKES, T. D. Fatigue is a brain-derived emotion that regulates the exercise behavior to ensure the protection of whole body homeostasis. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 1–13, 2012.

NOAKES, T. D.; MYBURGH, K. H.; SCHALL, R. Peak treadmill running velocity during the VO 2 max test predicts running performance. **Journal of Sports Sciences**, v. 8, n. 1, p. 35–45, 1990.

NOAKES, T. D.; PELTONEN, J. E.; RUSKO, H. K. Evidence that a central governor regulates exercise performance during acute hypoxia and hyperoxia. **The Journal of experimental biology**, v. 204, n. Pt 18, p. 3225–34, 2001.

NOAKES, T. D.; ST CLAIR GIBSON, A.; LAMBERT, E. V. From catastrophe to complexity: a novel model of integrative central neural regulation of effort and fatigue during exercise in humans: summary and conclusions. **Br J Sports Med**, v. 39, n. 2, p. 120–124, 2005.

PADILLA, S. et al. Scientific approach to the 1-h cycling world record : a case study. **J Appl Physiol**, v. 89, p. 1522–1527, 2000.

PAGEAUX, B. The psychobiological model of endurance performance: an effort-based decision-making theory to explain self-paced endurance performance. **Sports Medicine**, v. 44, n. 9, p. 1319–1320, 2014.

PAGEAUX, B. et al. Mental fatigue induced by prolonged self-regulation does not exacerbate central fatigue during subsequent whole-body endurance exercise. **Frontiers in human neuroscience**, v. 9, n. 67, 2015.

PAUW, K. et al. Guidelines to Classify Subject Groups in Sport-Science Research. **International Journal of Sports Physiology & Performance**, v. 8, n. July 2015, p. 111–122, 2013.

PECHLIVANIS, A. et al. Monitoring the response of the human urinary metabolome to brief maximal exercise by a combination of RP-UPLC-MS and 1 H NMR Spectroscopy. **Journal of Proteome Research**, v. 14, p. 4610–4622, 2015.

PENRY, J. T.; MANORE, M. M. Choline : An Important Micronutrient for Maximal Endurance-Exercise Performance ? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 18, p. 191–203, 2008.

PIRES, F. O. et al. The influence of peripheral afferent signals on the rating of perceived exertion and time to exhaustion during exercise at different intensities. **Psychophysiology**, v. 48, p. 1284–1290, 2011.

PLACE, N. et al. Time Course of Neuromuscular Alterations during a Prolonged Running Exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 36, n. 8, p. 1347–1356, 2004.

POLLAK, K. A. et al. Exogenously applied muscle metabolites synergistically evoke sensations of muscle fatigue and pain in human subjects. **Experimental physiology**, v. 99, n. 2, p. 368–80, 2014.

RAUCH, H. G. L. et al. A signalling role for muscle glycogen in the regulation of pace during prolonged exercise. **British journal of sports medicine**, v. 39, p. 34–38, 2005.

RIBEIRO, J. P. Limiares Metabólicos e Ventilatórios durante o exercício: aspectos fisiológicos, metodológicos e clínicos. v. 25, n. 3, p. 107–115, 2005.

- ROBINSON, S. et al. Influence of fatigue on the efficiency of men during exhausting runs. **J Appl Physiol**, v. 12, n. 2, p. 197–201, 1958.
- SANTOS, E. L.; GIANNELLA-NETO, A. Comparison of computerized methods for detecting the ventilatory thresholds. **European Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 3, p. 315–324, 2004.
- SAUNDERS, P. U. et al. Factors Affecting Running Economy in Trained Distance Runners. **Sports medicine**, v. 34, n. 7, p. 465–485, 2004.
- SILVA, R. A. S. et al. Acute prior heavy strength exercise bouts improve the 20-km cycling time trial performance. **Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 28, n. 9, p. 2513–2520, 2014.
- SOCIETY, P. Rebuttal from Marcora. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 2, p. 457–457, 2010.
- ST CLAIR GIBSON, A. et al. The role of information processing between the brain and peripheral physiological systems in pacing and perception of effort. **Sports Medicine**, v. 36, n. 8, p. 705–722, 2006.
- ST CLAIR GIBSON, A.; LAMBERT, M. I.; NOAKES, T. D. Neural Control of Force Output During Maximal and Submaximal Exercise. **Sports Medicine**, v. 31, n. 9, p. 637–650, 2001.
- STONE, M. R. et al. Consistency of perceptual and metabolic responses to a laboratory-based simulated 4,000-m cycling time trial. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 8, p. 1807–1813, 2011.
- STROJNIK et al. Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. **J Appl Physiol**, v. 84, n. 1, p. 344–350, 1998.
- TAYLOR, H.; HENSCHER, A.; BUSKIRK, E. Maximal Oxygen Intake as an Objective measure of cardio-respiratory performance. **Journal of applied physiology**, p. 73–80, 1955.
- TAYLOR, J. L. et al. Neuro contributions to muscle fatigue: from the brain to the muscle and back again. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 2016.
- TEMESI, J. et al. Central fatigue assessed by transcranial magnetic stimulation in ultratrail running. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 46, n. 6, p. 1166–1175, 2014.
- THIEL, C. et al. Pacing in Olympic track races: Competitive tactics versus best performance strategy. **Journal of Sports Sciences**, v. 30, n. 11, p. 1107–1115, 2012.
- THOMAS, K. et al. Central and peripheral fatigue in male cyclists after 4-, 20-, and 40-km time trials. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 47, n. 3, p. 537–546, 2015.
- THOMAS, K. et al. Intensity-Dependent Contribution of Neuromuscular Fatigue after Constant-Load Cycling. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 48, n. 9, p. 1751–1760, 2016.
- TOMAZINI, F. et al. Head-to-head running race simulation alters pacing strategy, performance, and mood state. **Physiology and Behavior**, v. 149, p. 39–44, 2015.
- TUCKER, R. et al. Impaired exercise performance in the heat is associated with an anticipatory reduction in skeletal muscle recruitment. **European journal of physiology**, v. 448, n. 4, p. 422–30, 2004.
- TUCKER, R.; LAMBERT, M. I.; NOAKES, T. D. An Analysis of Pacing Strategies During Mens World-Record Performances in Track Athletics. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 1, p. 233–245, 2006.

ULMER, H. V. Concept of an extracellular regulation of muscular metabolic rate during heavy exercise in humans by psychophysiological feedback. **Experientia**, v. 52, n. 5, p. 416–420, 1996.

VANHATALO, A. et al. The mechanistic bases of the power – time relationship : muscle metabolic responses and relationships to muscle fibre type. **J Physiol**, v. 15, p. 4407–4423, 2016.

VERGES, S. et al. Comparison of electrical and magnetic stimulations to assess quadriceps muscle function. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 2, p. 701–710, 2009.

WASSERMAN, K. The Anaerobic Threshold Measurement to Evaluate Exercise Performance ^{1, 2}. **American Review of Respiratory Disease**, v. 129, n. 2P2, p. S35–S40, 1984.

WESTERBLAD, H. et al. Functional significance of Ca²⁺ in long-lasting fatigue of skeletal muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v. 83, n. 2–3, p. 166–174, 2000.

ZAFEIRIDIS, A. et al. Global Metabolic Stress of Isoeffort Continuous and High Intensity Interval Aerobic Exercise : A Comparative 1 H NMR Metabonomic Study. **Journal of Proteome Research**, v. 15, n. 12, p. 4452–4463, 2016.

ZHANG, A. Q.; MITCHELL, S. C.; SMITH, R. L. Dimethylamine in human urine. **Clinica Chimica Acta**, v. 233, p. 81–88, 1995.

ZHANG, A. Q.; MITCHELL, S. C.; SMITH, R. L. Dimethylamine Formation in the Rat from Various Related Amine Precursors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 923–927, 1998.

Methodological approaches to determine the “U”-pacing strategy in cycling time trial

Rafael Azevedo^a, Ramon Cruz^a, Marcos Silva-Cavalcante^b, Renata Silva^a, Carlos Correia-Oliveira^c, Patrícia Couto^a, Adriano Lima-Silva^b and Romulo Bertuzzi^a

^aendurance Performance research Group, school of Physical education and sport (GeDae-USP), university of São Paulo, São Paulo, Brazil; ^bsports science research Group, academic center of Vitória, federal university of Pernambuco, Recife, Brazil; ^cDepartment of Physical education, cesmac university center, Maceió, Brazil

ABSTRACT

The present study proposed two models (visual and mathematical) to determine the three phases of “U”-pacing profile during a cycling time trial. The reliability of visual model was tested and models were compared. Fifteen cyclists performed a maximal incremental test and two 4-km TT. For the visual model, four experienced evaluators analysed twice the pacing, seven days apart. The mathematical model consisted on the mean of power output during phase 2 (1- until 3 km) plus two standard deviations, to distinguish phase 2 change points between phases 1 (CP1) and 3 (CP2). The CP1 occurred at 419 ± 186 and 415 ± 178 m for visual and mathematical model and CP2 occurred at 3646 ± 228 and 3809 ± 213 m, respectively. There was no difference between models for both CP ($p > 0.05$). The within- evaluator visual model reliability for CP1 was ICC > 0.87 and CP2 was ICC > 0.96 ($p < 0.05$), and between-evaluator reliability was ICC > 0.89 ($p < 0.05$). Bland-Altman plots showed agreement between models, most the difference was $< 5\%$. The visual and mathematical models are reliable and produce similar values for determining main phases of the “U”-pacing profile during a cycling TT.

ARTICLE HISTORY

received 1 May 2017

accepted 29 October 2017

KEYWORDS

endurance performance; power output; visual model; mathematical model; performance analysis

1. Introduction

Pacing strategy has been defined as the way in which athletes distribute their exercise intensity during a time trial (Abbiss & Laursen, 2008). Most cycling events, such as a 4-km time trial, show a well-established pacing profile, so-called “U”-pacing profile (Abbiss & Laursen, 2008). Previous studies have demonstrated that the “U”-pacing profile is also adopted spontaneously during world records and by top elite athletes in different sports, such as cycling, running, and ice speed skating (Abbiss & Laursen, 2008; Foster, Schrager, Snyder, & Thompson, 1994; Lima-Silva et al., 2010). The “U”-pacing profile is composed by three distinct phases (Abbiss & Laursen, 2008; Amann et al., 2006). Phase 1 is characterised by an unsustainable high power output at the beginning of the time trial, which is followed by a decline until its stabilisation, where the last part represents the beginning of phase 2.

Phase 2 is the longest phase and represents a stable power output that is maintained until the beginning of phase 3, which is characterised by a final sprint, i.e. a progressive increase in exercise intensity until the end of the time trial (Abbiss & Laursen, 2008; Atkinson, Peacock, & Tucker, 2007).

The precise identification of each phase of the “U”-pacing profile appears to be relevant since it is influenced by different physiological mechanisms, which in turn could affect directly the overall performance. It has been shown that phase 1 is related to acceleration of on-kinetic of oxygen consumption, which would increase the aerobic contribution and spare the anaerobic reserve (Bishop, Bonetti, & Dawson, 2002). The phase 2 reveals a relative stable exercise intensity during most part because variations are more energy demanding, especially for anaerobic resources (de Koning, Bobbert, & Foster, 1999; Foster et al., 2004). In phase 3, there is an increase in energy demand in order to perform the final sprint and to maximise overall performance (Foster et al., 2004; Hettinga, De Koning, Broersen, Van Geffen, & Foster, 2006; St Clair Gibson et al., 2006). Although these three phases appear to be relevant to endurance performance (Abbiss & Laursen, 2008), the pacing profile is currently determined by non-standardised methods. For example, Bishop et al. (2002) and Aisbett, Lerossignol, McConell, Abbiss, and Snow (2009) considered arbitrarily 18 and 20% of the trial as, respectively, representing the phase 1. Hettinga et al. (2006) adopted 50% of trial length as a reference for phase 1, while Amann et al. (2006) divided a 5-km cycling time trial in phase 1 (from 0 until 1.5 km), phase 2 (from 1.5- until 4.5-km) and phase 3 (from 4.5- until 5-km). This is especially important since that previous studies have analysed the influence of some interventions in pacing strategy, such as caffeine consumption (Silva-Cavalcante et al., 2013) and physical training (Damasceno et al., 2015), without precisely determining which phases were affected by these interventions. Unfortunately, this lack of standard and validated methods to identify the “U”-pacing profile may lead to imprecise conclusions and difficult comparisons between studies.

Therefore, while the physiological determinants of each phase of the “U”-pacing profile appear to be well established, no study has proposed reliable and valid methods to objectively determine these phases. It is interesting to observe that some factors related to endurance performance, such as metabolic thresholds (Chen et al., 1992; Santos & Giannella-Neto, 2004) has been successfully identified by visual inspection and mathematical methods. Thus, it is possible to suppose that these methodological approaches could be also used for determination of the “U”-pacing strategy in cycling time trial. Therefore, the aim of the present study was to develop two models (visual and mathematical model) to identify the three main phases of the “U”-pacing profile. In addition, the reliability of visual model was tested and both models were compared. It was hypothesised that both models would be valid to detect the different phases and would have a great agreement between them.

2. Methods

2.1. Experimental design

The study design consisted of 3 visits to the laboratory on separate occasions over a 2-week period. Each experimental test was performed at least 48 h apart and at the same period of day. During the first visit, participants performed a maximal incremental test, anthropometric measurements, and a 4-km cycling time trial familiarisation. During the second and third visits, participants performed a 4-km cycling time trial. The data obtained from the last 4-km time trial were analysed by the visual and mathematical model.

2.2. Subjects

Fifteen recreationally trained male cyclists (age 32 ± 5 years, body mass 77.5 ± 9.4 kg, height

1.81 ± 0.09 m, maximal heart rate 180 ± 12 beats $\cdot$ min⁻¹, peak power output 372 ± 43 W and maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\max}$) 54.2 ± 5.9 mL $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ min⁻¹) participated in the study. They were classified as recreationally trained cyclists in accordance with their $\dot{V}O_{2\max}$ and peak power output (Pauw et al., 2013). Participants were instructed to avoid strenuous exercise and alcohol consumption for 24 h before the tests, to consume their last meal at least 2 h before, and to avoid caffeinated beverages on the day of the time trials. All study procedures, as well as protocol, benefits, and risks were explained and participants gave their written informed consent. This study was approved by the Local Ethics Committee for Human Studies in accordance with Declaration of Helsinki.

2.3. Maximal incremental test

The maximal cycling incremental test was performed on the participant's own bicycle attached to a Computrainer (RacerMate®, Computrainer™, Seattle, Washington, U.S.A.), which was calibrated before each test in accordance with the manufacturer's recommendations. The reliability of Computrainer has been previously demonstrated (Peveler, 2013). The maximal incremental test started with a 5-min warm up at 150 W. The power output increased stepwise by 30 W $\cdot$ min⁻¹, with the participants instructed to maintain a pedal frequency between 80 and 90 rpm. The end of the test was considered as the inability to maintain the pedal frequency above 80 rpm, despite verbal encouragement. Gas exchange was measured breath-by-breath using a gas analyzer (Cortex Metalyzer 3B, Cortex Biophysik, Leipzig, Germany) and was subsequently averaged over 30 s intervals throughout the test. Before

each test, the gas analyzer was calibrated according to the recommendations of the manufacturer. Individual $\text{VO}_{2\text{max}}$ was determined when there was an increase equal to or lower than $2.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ despite an increase in power output (Taylor, Henschel, & Buskirk, [1955](#)).

2.4. 4-km cycling time trials

The 4-km cycling time trials were conducted on the same Computrainer and bicycle used for the maximal incremental test. The initial gear was standardised during the familiarisation visit and maintained for all subsequent visits. Before the time trial, there was a 5-min warm up performed at 150 W (90 rpm) followed by a 5-min rest. The participants were instructed to finish the 4-km time trial as fast as possible and they were free to change gears and cadence after the time trial had begun. The distance covered was the only feedback provided during the time trial and was visually available to the participants. The performance time was revealed to participants only after the conclusion of all tests.

2.5. Pacing analysis

The third 4-km performance was taken for analyses to minimise possible power output (W) variation related to learning effects. The power output (W) was recorded with a sample rate of 1 Hz from the Computrainer software and analysed offline. The Computrainer is programmed to simulate inertial momentum, as in real road cycling, and this may influence the pacing analysis (Hettinga, De Koning, Meijer, Teunissen, & Foster, 2007; Hettinga et al., 2006). In addition, it has a high sampling frequency and the first metres might not reflect the actual power output production, thus influencing the pacing analysis. Thus, the initial peak power output observed during the first seconds of a 4-km time trial was removed from analyses. Mean power output for each 200 m was plotted against distance (Figure 1) and the three phases of the “U”-pacing profile were visually and mathematically determined. The 200 m split was chosen because previous pilots at our lab and data from literature (Thiel, Foster, Banzer, & De Koning, 2012) have shown better smooth of the pacing and less appearance of artifacts.

For the visual approach, four evaluators, who had at least three years of experience in scientific pacing research, identified the change points. They received verbal and written information, as follows: (1) Identify the exact change point representing the transition between phase 1 and 2, considering the first point of power output stabilisation after the fast start (change point 1, CP1); (2) Identify the exact change point representing the transition between phase 2 and 3, which consisted of the last point at which power output remained stable before a progressive increase until the end of the time trial (change point 2, CP2). The visual analysis was carried out on two different days, seven days apart, to determine within-evaluator reliability. Both CP1 and CP2 were expressed in metres.

Figure 1. Pacing analyses for visual and mathematical models.

notes: Panel represents an example of the visual and mathematical models to identify both change points. the horizontal dotted line is the criteria value for the mathematical model, which consists of average of power output from 25 to 75% of the trial (1–3 km) plus two standard deviations. the circles represent the two change points according to the criteria value.

A simple mathematical model was developed to determine the same change points (CP1 and CP2). The mathematical model was constructed based on the concept of change point analysis of a time-series data. The change point analysis of time series data is based on abrupt changes in structure and identification of the specific points which divide into distinct homogeneous segments (Jandhyala, Fotopoulos, MacNeill, & Liu, 2013; Killick, 2011). The mathematical model was a simplified form of change point analysis which used the “U” phase characteristics, and the stable power output during phase 3. The stable power output was determined using the average of power output from 1 to 3-km. This preliminary determination was based on previous studies which demonstrated that the stabilisation occurs approximately between 25 and 75% of the total distance covered (Abbiss & Laursen, 2008; Lima-Silva et al., 2010). Standard deviation was also calculated, and CP1 and CP2 were identified in the moment before and after the stable phase, in which power output was two-standard deviation higher than the average. The two standard deviation criteria was chosen because it's a common threshold adopted for physiological signals (Santos & Giannella-Neto, 2004; Taylore et al., 1955) and shows a suitable ratio between less artefacts appearance and rigorous criteria. Figure 1 shows an example of both models using real power output data from one participant involved in the study.

2.6. Statistical analysis

Data normality was assessed using the Shapiro–Wilk test, which demonstrated a normal distribution for all variables. The within and between-evaluator reliability for visual analysis was examined using interclass coefficient correlation proposed by Hopkins (2000), wherein <0.10 (trivial), 0.10–0.30 (small), 0.31–0.50 (moderate), 0.51–0.70 (large), 0.71–0.90 (very large), 0.91–0.99 (nearly perfect) and 1 (perfect). A one-way repeated measures ANOVA was used to compare the change points among the four evaluators. The differences between the visual analysis and mathematical model were examined using one-way ANOVA with 5 levels (four evaluators and the mathematical model) and Bland–Altman plots (Bland & Altman, 1986; Carkeet & Goh, 2016). Significance was accepted when $p \leq 0.05$. Values are reported as means $\pm$ SD, unless otherwise stated. All statistical analyses were conducted using the SPSS statistical package (SPSS, version 13.0).

3. Results

3.1. 4-km cycling time trial performance

Time to complete the 4-km time trial on visits two and three were 375 ± 17 and 372 ± 16 s, respectively. The ICC performance between these trials was very high (0.97; $p < 0.05$; $n = 15$), demonstrating very consistent reproducibility.

3.2. Identification of pacing phases

One participant did not present a clear CP1, and could not be identified visually or mathematically. For the visual model, all evaluators could identify CP1 in all remaining participants ($n = 14$). On average, CP1 was identified visually at $\sim 11 \pm 6\%$ of total distance. The CP2 was identified in 14 participants by evaluator 1 and 4, in 11 participants by evaluator 2

and in 13 participants by evaluator 3. On average, CP2 was identified visually at $\sim 91 \pm 6\%$ of total distance. The mathematical model identified CP1 and CP2 in 14 participants, which occurred at 431 ± 211 m ($\sim 11 \pm 5\%$ of total distance) and 3694 ± 231 m ($\sim 91 \pm 5\%$ of total distance), respectively.

3.3. Visual model reliability

The one-way repeated measures ANOVA revealed no significant differences between evaluators ($p > 0.05, n = 4$) for either change points ($p = 0.748$ and $p = 0.265$ for CP1 and CP2). The within-evaluator reliability and mean values of the visual model are shown in Table 1, which showed high values, ranging from very large to perfect. The between-evaluator reliability values from moment 1 and 2 showed a very large and nearly perfect ICC for CP 1 and 2 (i.e. $ICC \geq 0.87$ and $0.96, p < 0.05, n = 14$ and 11).

3.4. Agreement between models

There was no difference between the four evaluators and the mathematical model for CP1 and CP2 ($p > 0.05, n = 14$ and 11 , respectively). When Bland–Altman plots were analysed for CP1, all comparisons showed 70% of values had a difference of less than 5% between models (Figure 2), with the limits of agreement being $\pm 38\%$ (confidence interval of ± 28 and $\pm 63\%$). The CP2 Bland–Altman plots showed 73% of the values had a difference lower than 5% between models (Figure 3), with the limits of agreement being $\pm 15\%$ (confidence interval of ± 11 and $\pm 25\%$).

4. Discussion

The main objective of the current study was to compare two methods to identify the main phases of “U”-pacing profile during a cycling time trial. The main results showed that the visual model is reliable and produces similar values to the mathematical model. These findings suggest that both models have similar ability to detect the three phases of the “U”-pacing profile during a cycling time trial.

Our results revealed that 14 out of 15 subjects showed three distinct phases during the 4-km time trial. This is in agreement with previous studies that reported that in cycling events, such as a 4-km time trial, athletes frequently adopt a “U”-pacing profile (Abbiss &

Table 1. Descriptive values and reliability for change points 1 and 2 from visual analysis performed by four evaluators.

Evaluators	Change point 1 (m)			Change point 2 (m)				
	First analysis	Second analysis	ICC	First analysis	Second analysis	ICC		
1	403 ± 221	445 ± 232	0.96* nearly perfect	3628 ± 274	3548 ± 95	0.89* Very large		
2	503 ± 206	415 ± 234	0.89* Very large	3601 ± 251	3646 ± 277	0.93* nearly perfect		
3	460 ± 210	460 ± 210	1.00* Perfect	3564 ± 284	3598 ± 272	0.90* Very large		
4	460 ± 210	517 ± 192	0.93* nearly perfect	3698 ± 178	3712 ± 156	0.78* Very large		

notes: * $p < 0.01$

Figure 2. Bland–altman plots for tP1 differences between models.

notes: Panel a: differences for evaluator 1 and mathematical model; B: differences for evaluator 2 and mathematical model; Panel c: differences for evaluator 3 and mathematical model; Panel D: differences for evaluator 4 and mathematical model. the *central horizontal line* represents the mean of the differences and the *top and bottom lines* express 95% of the limit of agreement and the two standard deviation range.

Laursen, [2008](#); de Koning et al., [1999](#); Hettinga et al., [2006](#)). It is interesting to note that phase 1 identification showed a greater variation when both models were compared using Bland–Altman plots (i.e. $\pm 38\%$ compared to $\pm 15\%$ for phase 1 and 3). The mechanisms responsible for this greater variation are not clear, but they appear to be related to variable determinants of phase 1. It has been demonstrated that both physiological (Bishop et al., [2002](#)) and psychological (Bertuzzi, Lima-Silva, et al., [2014](#)) factors could influence this phase. As an example, previous works have seen a great influence of different warm up routines and greater power output at the phase 1 during a cycling time trial (Silva et al., [2014](#)). As a result, the CP1 might be more difficult to identify using the visual model, since power output variation is greater during this phase. Indeed, the Bland–Altman plots for CP1 showed 6 values outside of the limits of agreement and only 3 values for CP2. In this context, the literature has adopted different methods to investigate phase 1 variation. For example, Aisbett et al. ([2009](#)) considered phase 1 to be a fixed length of 5% of 5-min, while Ansley et al. ([2004](#)) used 5% of the 4-km time trials, because power output was significantly higher during this part. In contrast, Hettinga et al. ([2006](#)) and Gosztyla et al. ([2006](#)) considered almost the half of the time trial length to be phase 1 during a 4-km cycling and 5-km running time trial. It is difficult to compare the results of the aforementioned studies because of the different criteria for determining phase 1.

Figure 3. Bland–altman plots for tP2 differences between models.

notes: Panel a: differences for evaluator 1 and mathematical model; B: differences for evaluator 2 and mathematical model; Panel c: differences for evaluator 3 and mathematical model; Panel D: differences for evaluator 4 and mathematical model. the *central horizontal line* represents the mean of the differences and the *top and bottom lines* express 95% of the limit of agreement and the two standard deviation range.

It has frequently been reported that several physiological and performance variables can be determined by visual and mathematical models (Cheng et al., [1992](#); Santos & Giannella-Neto, [2004](#); Taylor et al., [1955](#)). Visual analysis has an advantage considering the low cost and simple methods required. To the best of our knowledge, this is the first study to analyse two different methods proposed to determine the phases of the “U”-pacing profile during a 4-km cycling time trial, including a visual model. For this model, our results demonstrate that the evaluators identified that CP1 occurred following $\sim 11 \pm 6\%$ of the time trial, while CP2 occurred following $\sim 91 \pm 6\%$ of the trial. Furthermore, our results also showed high reliability for the evaluators in the visual model who showed an ICC of very large to perfect between the two distinct evaluations for CP1 (ICC range of 0.89–1.00) and CP2 (ICC range of 0.78–0.93). Considering that visual methods have been successfully used as a methodological approach in the sport science field (Santos & Giannella-Neto, [2004](#)), and high reliability was shown in the present study, our results suggest that a visual analysis is an appropriate method to determine the different phases of the “U”-pacing profile during cycling time trials. It is relevant to note that both models of analysis were made with specific criteria and set up. The 200 m split for the graphs and the two standard deviation threshold for the mathematical model were chosen based on previous lab pilots and studies concerning pacing strategy variables (Thiel et al., [2012](#)).

Although the visual model can be considered a reliable and less time-consuming method, it may be a somewhat disadvantageous, since a specialised researcher is required. Thus, a simple mathematical method was proposed to determine the distinct phases of the “U”-pacing profile during the 4-km cycling time trial. The findings of the current study revealed that both models produced similar values regarding identification of CP1 and CP2 throughout the time trial. The visual and mathematical models determined CP1 following $\sim 11 \pm 5\%$ of the time trial, while CP2 occurred following $\sim 91 \pm 5\%$. Bland–Altman plots confirmed the accordance between models, since at least 70% of the values showed less than 5% difference between models. Nonetheless, determination of CP2 between models appeared to be more consistent, as the limits of agreement range of Bland–Altman plots was almost half that compared to CP1 (~ 15 vs. $\sim 38\%$, Figures 2 and 3). Other studies that compared visual and mathematical methods have presented similar results (Mello, Jesus, Buarque, Oliveira, & Nadal, 2008; Santos & Giannella-Neto, 2004). For example, Santos and Giannella-Neto (2004) used Bland–Altman to compare visual and mathematical models for ventilatory threshold identification and found similar variation (i.e. $\sim 4 \pm 0.3\%$ between models). Altogether, these findings suggest that both models have similar ability to identify the different phases of a pacing profile, but the mathematical model has the main advantage that it does not require specialised human resources.

5. Conclusions

In conclusion, the results of the present study demonstrated that a visual model is a reliable method to identify the main phases of a “U”-pacing profile during a cycling time trial. The agreement between the visual and mathematical model methods was considerably high, since most of the values showed less than a 5% difference. This finding indicates that the mathematical model may be used as an alternative method without the need of researchers with expertise in pacing strategy. This seems particularly relevant because many research groups and team sports might have limited human resources.

Acknowledgement

The author wish to thank Dr. Bryan Saunders for the manuscript review and relevant suggestions.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Abbiss, C. R., & Laursen, P. B. (2008). Describing and understanding pacing strategies during athletic competition. *Sports Medicine*, 38(3), 239–252.
- Aisbett, B., Lerossignol, P., McConell, G. K., Abbiss, C. R., & Snow, R. (2009). Influence of all-out and fast start on 5-min cycling time trial performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(10), 1965–1971.
- Amann, M., Eldridge, M. W., Lovering, A. T., Stickland, M. K., Pegelow, D. F., & Dempsey, J. A. (2006). Arterial oxygenation influences central motor output and exercise performance via effects on peripheral locomotor muscle fatigue in humans. *The Journal of Physiology*, 575(3), 937–952.

- Ansley, L., Schabert, E., St Clair Gibson, A., Lambert, M. I., Noakes, T. D., & Noakes, Timothy D. (2004). Regulation of pacing strategies during successive 4-km time trials. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(10), 1819–1825.
- Atkinson, G., Peacock, O., St Clair Gibson, A., & Tucker, R. (2007). Distribution of power output during cycling. *Sports Medicine*, 37(8), 647–667.
- Bertuzzi, R. C., Lima-Silva, A. E., Pires, F. O., Damasceno, M. V., Bueno, S., Pasqua, L. A., & Bishop, D. J. (2014). Pacing strategy determinants during a 10-km running time trial: Contributions of perceived effort, physiological and muscular parameters. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 28(6), 1688–1696.
- Bishop, D., Bonetti, D., & Dawson, B. (2002). The influence of pacing strategy on VO₂ and supramaximal kayak performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34(6), 1041–1047.
- Bland, J. M., & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The Lancet*, 327, 307–310.
- Carkeet, A., & Goh, Y. T. (2016). Confidence and coverage for bland-altman limits of agreement and their approximate confidence intervals. *Statistical Methods in Medical Research*, 0962280216665419 Cheng, B., Kuipers, H., Snyder, A. C., Keizer, H. A., Jeukendrup, A., & Hesselink, M. (1992). A new approach for the determination of ventilatory and lactate thresholds. *International Journal of Sports Medicine*, 13(7), 518–522.
- Damasceno, M. V., Lima-Silva, A. E., Pasqua, L. A., Tricoli, V., Duarte, M., Bishop, D. J., & Bertuzzi, R. (2015). Effects of resistance training on neuromuscular characteristics and pacing during 10-km running time trial. *European Journal of Applied Physiology*, 115(7), 1513–1522.
- de Koning, J. J., Bobbert, M. F., & Foster, C. (1999). Determination of optimal pacing strategy in track cycling with an energy flow model. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 2(3), 266–277. Foster, C., Hettinga, F., Lampen, J., Dodge, C., Bobbert, M., & Porcari, J. P. (2004). Effect of competitive distance on energy expenditure during simulated competition. *International Journal of Sports Medicine*, 25(3), 198–204.
- Foster, C., Schrager, M., Snyder, A. C., & Thompson, N. N. (1994). Pacing strategy and athletic performance. *Sports Medicine: An International Journal of Applied Medicine and Science in Sport and Exercise*, 17(2), 77–85.
- Gosztyla, A. E., Edwards, D. G., Quinn, T. J., & Kenefick, R. W. (2006). The impact of different pacing strategies on five-kilometer running time trial performance. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 20(4), 882–886.
- Hettinga, F. J., De Koning, J. J., Broersen, F. T., Van Geffen, P., & Foster, C. (2006). Pacing strategy and the occurrence of fatigue in 4000-m cycling time trials. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(8), 1484–1491.
- Hettinga, F. J., De Koning, J. J., Meijer, E., Teunissen, L., & Foster, C. (2007). Effect of pacing strategy on energy expenditure during a 1500-m cycling time trial. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(12), 2212–2218.
- Hopkins, W. G. (2000). Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Medicine*, 30(1), 1–15.
- Jandhyala, V., Fotopoulos, S., MacNeill, I., & Liu, P. (2013). Inference for single and multiple change-points in time series. *Journal of Time Series Analysis*, 34(4), 423–446.
- Killick, R. (2011). Analysis of changepoint models. In University C. L., D. Barber, A. T. Cemgil & S. Chiappa (Eds.), *Bayesian time series models* (pp. 205–222). Cambridge: Cambridge University Press. Lima-Silva, A. E., Bertuzzi, R. C., Pires, F. O., Barros, R. V., Gagliardi, J. F., Hammond, J., ... Bishop, D. J. (2010). Effect of performance level on pacing strategy during a 10-km running race. *European Journal of Applied Physiology*, 108(5), 1045–1053.
- Mello, R. G. T., Jesus, I. R. T., Buarque, R. F., Oliveira, L. F., & Nadal, J. (2008). Detection of ventilatory threshold by an automatic parabolic model. *Conference Proceedings: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference, 2008*, 1064–1067.
- Pauw, K., Roelands, B., Cheung, S. S., De Geus, B., Rietjens, G., & Meeusen, R. (2013). Guidelines to classify subject groups in sport-science research. *International Journal of Sports Physiology & Performance*, 8(July 2015), 111–122.

- Peveler, W. W. (2013). The accuracy of simulated indoor time trials utilizing a CompuTrainer and GPS data. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 27(10), 2823–2827.
- Santos, E. L., & Giannella-Neto, A. (2004). Comparison of computerized methods for detecting the ventilatory thresholds. *European Journal of Applied Physiology*, 93(3), 315–324.
- Silva, R. A., Silva-Júnior, F. L., Pinheiro, F. A., Souza, P. F., Boullosa, D. A., & Pires, F. O. (2014). Acute prior heavy strength exercise bouts improve the 20-km cycling time trial performance. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 28(9), 2513–2520.
- Silva-Cavalcante, M. D., Correia-Oliveira, C. R., Santos, R. A., Lopes-Silva, J. P., Lima, H. M., Bertuzzi, R., ... Lima-Silva, A. E. (2013). Caffeine increases anaerobic work and restores cycling performance following a protocol designed to lower endogenous carbohydrate availability. *PLoS One*, 8(8), e72025.
- St Clair Gibson, A., Lambert, E. V., Rauch, L. H., Tucker, R., Baden, D. A., Foster, C., & Noakes, T. D. (2006). The role of information processing between the brain and peripheral physiological systems in pacing and perception of effort. *Sports Medicine*, 36(8), 705–722.
- Taylor, H. L., Henschel, A., & Buskirk, E. (1955). Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *Journal of Applied Physiology*, 8(1), 73–80.
- Thiel, C., Foster, C., Banzer, W., & De Koning, J. (2012). Pacing in olympic track races: Competitive tactics versus best performance strategy. *Journal of Sports Sciences*, 30(11), 1107–1115.