

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

**MANIPULAÇÕES DAS VARIÁVEIS DO TREINAMENTO DE FORÇA OU
FATORES BIOLÓGICOS INTRÍNSECOS: O QUE DETERMINA A
MAGNITUDE DA HIPERTROFIA MUSCULAR?**

Vitor Angleri

São Carlos

2022

Vitor Angleri

**MANIPULAÇÕES DAS VARIÁVEIS DO TREINAMENTO DE FORÇA OU
FATORES BIOLÓGICOS INTRÍNSECOS: O QUE DETERMINA A
MAGNITUDE DA HIPERTROFIA MUSCULAR?**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (#2017/05331-6).

São Carlos

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Vitor Angleri, realizada em 29/03/2022.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi (UFSCar)

Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck (UFSCar)

Profa. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo (UFSCar)

Prof. Dr. Valmor Alberto Augusto Tricoli (USP)

Profa. Dra. Patricia Chakur Brum (USP)

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho a todos que direta ou indiretamente, estiveram
comigo e me apoiaram durante todo esse processo.*

AGRADECIMENTOS

A realização do meu doutorado definitivamente foi a experiência mais engrandecedora e desafiadora da minha vida até o momento. Nada do que está descrito nas linhas que seguirão (mas que não se limitam a elas) seria possível sem a participação de pessoas que estarão para sempre no meu coração e espero, sinceramente, que na minha vida também. Meu intuito nesse tópico, é expressar minha gratidão e amor a todas essas pessoas que de alguma forma, me ajudaram a chegar até aqui. Entendo que minhas limitações humanas jamais me permitirão expressar esse sentimento com a magnitude tal qual a sinto, então, de antemão gostaria de me desculpar por isso.

Primeiramente, agradeço a **Deus**, meu único e verdadeiro Senhor e Salvador. Obrigado por me dar mais do que ousar pedir e com certeza, mais do que eu mereço! Agradeço por estar comigo e guiar meus passos durante toda minha vida para que eu pudesse desfrutar desse momento. Muito obrigado por ter me proporcionado momentos de alegria profunda ao lado de pessoas que amo, e obrigado por estar comigo nos momentos de desespero, mesmo quando minhas limitações não me permitiram sentir a sua presença ao meu lado. Obrigado pelo Senhor ter transformado os momentos mais difíceis desse processo em grandes aprendizados. Agradeço por colocar as pessoas certas e nos momentos certos na minha vida. Toda honra e toda glória são para o Senhor!

À minha família, meu maior tesouro. Em especial a minha mãe **Márcia**, meu pai **Altair** e minhas avós **Luiza** e **Ana**. Vocês fizeram e fazem minha caminhada mais fácil, cada um da sua própria maneira, com uma conversa que me tranquiliza, uma correção de rota ou uma oração. Agradeço por estarem sempre ao meu lado e serem meu porto seguro. Obrigado à minha namorada, **Bianca**, por ser minha motivação para me tornar uma pessoa melhor a cada dia! Muito obrigado pelo companheirismo, por ter tanta paciência comigo e por torcer e comemorar cada conquista obtida (às vezes comemorando mais do que eu

mesmo) durante esse processo. Vocês todos são os motivos pelos quais minha vida vale a pena ser vivida!

Agradeço imensamente meu amigo e orientador **Cleitão**. Obrigado por ter se empenhado tanto em me dar uma boa formação, pela paciência que teve comigo, por todas as correções de rotas, por cada conversa que sempre me tranquilizou nos momentos de insegurança, por acreditar na minha capacidade (mais do que eu mesmo acreditei!) e por estar sempre disponível. Além da sua amizade, levarei para o resto da vida uma “caixa de ferramentas” – como você mesmo diz – muito mais rica e versátil, que tive o prazer de construir ao seu lado durante esse processo.

Á todos os meus amigos do MUSCULAB, **Tatáu, Má, Sanmy, Nath, Zero Meia e Parmera**. Sinto-me profundamente honrado e agradecido por ter passado esses anos ao lado de pessoas tão incríveis. Agradeço ao meu amigo **Felipe Damas** por todo o aprendizado e crescimento profissional que me proporcionou. Em especial, agradeço aos FEDERADOS. Ao meu grande amigo e vizinho de quarto **Ramon**. Nunca havíamos visto um ao outro, mas por dividirmos os mesmos sonhos, em pouco tempo passamos a dividir também o apartamento. E quem diria que essa parceria fosse dar tão certo! Ao meu amigo **Deivid**, um dos maiores exemplos de bondade e simplicidade que pude conhecer. Conviver com você me ajudou a enxergar com mais clareza aquilo que realmente importa na vida. Ao meu *rock star* favorito e *holder* nato, **João**. Obrigado por entender meus momentos de “hipertensão”, por me abrigar na sua casa várias vezes e até por não me deixar “trabaiá” de vez em quando hahaha. E por fim ao meu amigo **Soliga**. Muito obrigado por ter tornado essa fase da minha vida mais leve e divertida. Obrigado por cada “Tajara”, risada e conselho. Quero levar a amizade de cada um de vocês para o resto da minha vida.

Parafrazeando Roberto Shinyashiki, tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado. Nesse sentido, gostaria de agradecer às duas primeiras pessoas que acreditaram no meu sonho. Ao meu amigo e professor **Paulo Henrique Canciglieri**, por ter me dado a primeira oportunidade para que eu chegasse até aqui. E ao meu também amigo e professor **Fernando Catanho**, por inspirar e orientado meus primeiros passos rumo a carreira acadêmica.

Quero deixar minha profunda gratidão aos meus amigos e anjos da guarda **Dr. Alceu Soares** e **Dra. Elizabethe Zorzo**. Após ter dividido com vocês o profundo sofrimento de uma das fases mais difíceis da minha vida, seria injusto de minha parte não dividir também esse momento de alegria e eternizar minha gratidão a vocês dois. Tenho certeza de que, se não fosse pela ajuda de vocês, eu não estaria aqui e tampouco teria escrito esse documento.

Agradeço também aos voluntários pelo comprometimento e determinação do início ao final desse projeto.

Agradeço à FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro (Processo nº: 2017/05331-6) e pela utilização de Equipamentos Multiusuários (Processo nº: 2014/50256-4).

*“Talvez meu maior mérito tenha sido saber dividir
meu sonho com outras pessoas melhores do que eu.”*

Guilherme Benchimol

Resumo

Nosso objetivo foi investigar se o aumento da área de secção transversa das fibras musculares (ASTf) e seus mecanismos associados podem ser afetados tanto a nível de grupo quanto individual pela manipulação das variáveis do treinamento de força (TF). Vinte homens jovens e treinados tiveram cada perna aleatoriamente alocada na condição TF padrão (TF-CON: sem manipulações específicas) ou TF variado (TF-VAR: manipulação da intensidade, volume, ação muscular e pausa, em cada sessão de TF). A ASTf, conteúdo de células satélites (CS), mionúcleos e expressão gênica foram medidos antes e após 16 sessões de TF (efeito crônico). Adicionalmente, a expressão foi medida 24h após uma sessão adicional (17ª sessão) de TF (efeito agudo). Os protocolos TF-CON e TF-VAR produziram aumentos na ASTf e domínio mionuclear das fibras do tipo I e II após o treinamento ($P < 0,05$). O conteúdo de CS e mionúcleos não mudou para nenhuma das condições ($P > 0,05$). A expressão de Pax-7, MyoD, MMP-2 e COL3A1 (crônico) e MGF, Pax-7, e MMP-9 (agudo) aumentou similarmente para TF-CON e TF-VAR ($P < 0,05$). O aumento na expressão de MyoG (agudo) foi significativamente maior para TF-VAR comparado a TF-CON ($P < 0,05$). Foi observada uma correlação entre TF-CON e TF-VAR para as mudanças na ASTf ($r = 0,89$). As mudanças na ASTf foram correlacionadas com as mudanças nas CS ($r = 0,42$) e mionúcleos ($r = 0,50$). A análise dos *heatmaps* demonstrou um alinhamento a nível individual entre as mudanças observadas nas respostas da ASTf, CS e mionúcleos, independentemente o protocolo de TF realizado. A alta variabilidade inter-sujeitos e baixa variabilidade intra-sujeitos observadas independentemente do protocolo de TF sugere que os fatores biológicos intrínsecos parecem ser mais importantes para explicar a magnitude de aumento da ASTf em sujeitos treinados.

Palavras-chave: predisposição biológica, células satélites, respostas individuais, responsividade, treinamento de força, variáveis do treinamento.

Abstract

We aimed to investigate whether muscle fiber cross-sectional area (fCSA) and associated molecular processes could be differently affected at the group and individual level by manipulating resistance training (RT) variables. Twenty resistance-trained subjects had each leg randomly allocated to either a standard RT (RT-CON: without specific variables manipulations) or a variable RT (RT-VAR: manipulation of load, volume, muscle action, and rest interval in a randomly session-by-session fashion). Muscle fCSA, satellite cell (SC) pool, myonuclei content, and gene expression were assessed before and after 16 RT sessions (chronic effect). Additionally, gene expression was assessed 24h after the last training session (an additional 17th session) (acute effect). RT-CON and RT-VAR increased fCSA and myonuclei domain in type I and II fibers after training ($P < 0.05$). SC and myonuclei content did not change for both conditions ($P > 0.05$). Pax-7, MyoD, MMP-2 and COL3A1 (chronic) and MGF, Pax-7, and MMP-9 (acute) increased similar for RT-CON and RT-VAR ($P < 0.05$). The increase in acute MyoG (acute) expression was significantly higher for the RT-VAR than RT-CON ($P < 0.05$). It was observed correlation between RT-CON and RT-VAR for the fCSA changes ($r = 0.89$). fCSA changes were correlated with satellite cells ($r = 0.42$) and myonuclei ($r = 0.50$) changes. Heatmap analyses showed coupled changes in fCSA, SC, and myonuclei responses at the individual level, regardless of the RT protocol. The high between and low within-subject variability regardless of RT protocol suggests that the intrinsic biological factors seem to be more important to explain the magnitude of fCSA gains in resistance-trained subjects.

Keywords: biological predisposition, satellite cells, individual responses, responsiveness, resistance exercise, training variables.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1. Desenho experimental. Setas duplas indicam biópsias bilaterais. A seta preta indica a biópsia utilizada para as medidas Pré do design crônico; as setas brancas indicam as biópsias utilizadas para as medidas Pós no design crônico (96h após a 16ª sessão de TF) e para as medidas 0h (imediatamente antes da 17ª sessão de TF) no design agudo; e as setas cinza indicam as biópsias utilizadas no momento 24h após a 17ª sessão de TF no design agudo. TF: treinamento de força; TF-CON: TF controle (4 séries de leg press seguida de 4 séries de cadeira extensora, 9-12RM/2-minutos de pausa); TF-VAR: TF variável; VAR-intensidade: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 25-30RM/2-minutos de pausa; VAR-séries: 6 séries de leg press e cadeira extensora, 9-12RM/2-minutos de pausa; VAR-excêntrico: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 10 contrações excêntricas com 110% da intensidade utilizada na perna TF-CON/2-minutos de pausa; VAR-pausa: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 9-12RM/4-minutos de pausa. _____ 25.

Figura 2. Imagem representativa do método de coloração por imunofluorescência. Laminina e MHC-I (A), DAPI (B), Pax-7 (C), co-localização de Pax-7 e DAPI (D) e Merge (Laminina/MHC-I/DAPI/Pax-7). A seta indica a célula satélite. _____ 29.

Figura 3. Aumentos percentuais na área de secção transversa das fibras musculares do tipo I (A) e II (B) do baseline (Pré) para 8 semanas de treinamento (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR). As barras representam as médias, e os pontos representam as respostas individuais. _____ 33.

Tabela 1. Área de secção transversa (ASTf), proporção, número de células satélites (CS), mionúcleos e tamanho do domínio mionuclear das fibras musculares do tipo I e II no baseline (Pré) e após 8 semanas (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR). _____ 33.

Tabela 2. Expressão gênica crônica relativa no baseline (Pré) e após 8 semanas (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR). _____ 34.

Tabela 3. Expressão gênica aguda relativa no baseline (0h) e após (24h) sessão de treinamento força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR). _____ 35.

Figura 4. Heatmap da magnitude de mudança ($\Delta\%$) para cada variável dependente. (A) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós), $\Delta\%$ da CS total (Pré para Pós), e $\Delta\%$ do número de mionúcleos total (Pré para Pós). (B) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós) e $\Delta\%$ da expressão gênica crônica (Pré para Pós). (C) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós) e $\Delta\%$ da expressão gênica aguda (0h para 24h). A magnitude de mudança para cada variável está indicada pelo gradiente de cor. Os tons mais intensos de vermelho representam as maiores magnitudes de mudança para a variável dependente. Conforme o gradiente de cor se torna mais branco, isso indica que nenhuma mudança na variável dependente foi detectada (i.e., $\Delta\% = 0$). Conforme o gradiente de cor flui do branco para tons mais intensos de azul, isso indica uma diminuição (i.e., $\Delta\%$ negativo) nos valores da variável dependente. As células preenchidas com “X” representam dados faltosos. _____ 38.

Sumário

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	14
2. DESENVOLVIMENTO DO PROJETO	19
3. MANUSCRITO	21
Resumo	21
Introdução	22
Métodos	25
<i>Participantes</i>	25
<i>Desenho experimental</i>	25
<i>Biópsia muscular</i>	27
<i>Treinamento de força</i>	28
<i>Análise imunohistoquímica</i>	28
<i>qRT-PCR</i>	30
<i>Análise estatística</i>	31
Resultados	33
<i>Volume total</i>	33
<i>Expressão gênica (efeitos crônicos do TF)</i>	35
<i>Expressão gênica (efeitos agudos do TF)</i>	35
<i>Análises de correlação</i>	36
<i>Heatmaps</i>	37
Discussão	40
Conclusão	49
Perspectivas	50
4. AVANÇOS CIENTÍFICOS E PERSPECTIVAS FUTURAS	51
5. OUTRAS PRODUÇÕES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO	53
6. REFERENCIAS	57
ANEXO 1. Artigo publicado no periódico <i>Journal of Applied Physiology</i>	64
ANEXO 2. Artigo publicado no periódico <i>Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports</i>	65
ANEXO 3. Artigo publicado no periódico <i>Frontiers in Physiology</i>	66
ANEXO 4. Trabalho premiado com o 1º lugar no VII CONBRAMENE	67
ANEXO 5. Artigo publicado no periódico <i>Muscle</i>	68
ANEXO 6. Artigo publicado no periódico <i>Science & Sports</i>	69
ANEXO 7. Artigo publicado no periódico <i>International Journal of Exercise Science</i>	70
ANEXO 8. Artigo publicado no periódico <i>International Journal of Sports Medicine</i>	71
ANEXO 9. Artigo publicado no periódico <i>Frontiers in Physiology</i>	72
ANEXO 10. Artigo publicado no periódico <i>European Journal of Applied Physiology</i>	73
ANEXO 11. Artigo publicado no periódico <i>Physiology International</i>	74

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O treinamento de força (TF) tem sido recomendado como o principal método para promover o aumento da massa muscular (i.e., hipertrofia muscular) (ACSM, 2009; 2011; KRAEMER; RATAMESS, 2004). Contudo, como a hipertrofia muscular pode ser otimizada/maximizada por meio do TF, ainda não foi completamente elucidado. A manipulação das variáveis do TF como a intensidade (kg), volume (número de séries e repetições), ações musculares (concêntricas, excêntricas e isométricas) e intervalo de descanso, tem sido investigada como estratégia para otimizar/maximizar a hipertrofia muscular (BARCELOS; DAMAS; NOBREGA; UGRINOWITSCH *et al.*, 2018; KRAEMER; RATAMESS, 2004; MITCHELL; CHURCHWARD-VENNE; WEST; BURD *et al.*, 2012; NOBREGA; UGRINOWITSCH; PINTANEL; BARCELOS *et al.*, 2018; SCHOENFELD; OGBORN; KRIEGER, 2015). Além disso, têm sido sugerido que essas manipulações podem potencializar a resposta hipertrófica de tipos específicos de fibras musculares, principalmente em indivíduos com experiência em TF (ACSM, 2009; FLECK; KRAEMER, 2014; FRIEDMANN-BETTE; BAUER; KINSCHERF; VORWALD *et al.*, 2010; FRY, 2004; OGBORN; SCHOENFELD, 2014; SCHOENFELD, 2010; VIKNE; REFSNES; EKMARK; MEDBO *et al.*, 2006). Teoricamente, a manipulação das variáveis do TF poderia potencializar a resposta de fatores biológicos intrínsecos (e.g., aumento do *pool* de células satélites, número de mionúcleos, e expressão gênica), controlando a resposta hipertrófica muscular (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; BAMMAN; ROBERTS; ADAMS, 2018; KOSEK; KIM; PETRELLA; CROSS *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Contudo, a necessidade de se manipular as variáveis do TF tem sido questionada, principalmente quando o TF é realizado até a falha muscular (i.e., impossibilidade de

realizar mais repetições). Nesse sentido, embora a alta intensidade (~80% de uma repetição máxima) tenha sido recomendada para maximizar a hipertrofia muscular (ACSM, 2009; 2011), estudos demonstraram aumentos na taxa de síntese proteica miofibrilar (SPM) (BURD; WEST; STAPLES; ATHERTON *et al.*, 2010), área de secção transversa das fibras (ASTf) tipo I e II (MITCHELL; CHURCHWARD-VENNE; WEST; BURD *et al.*, 2012) e do músculo vasto lateral (NOBREGA; UGRINOWITSCH; PINTANEL; BARCELOS *et al.*, 2018) similares, independente da intensidade utilizada. Para o volume, alguns estudos sugerem que um maior número de séries pode induzir a uma maior SPM (BURD; HOLWERDA; SELBY; WEST *et al.*, 2010) e hipertrofia muscular (RADAELLI; FLECK; LEITE; LEITE *et al.*, 2015; SCHOENFELD; OGBORN; KRIEGER, 2016; SOONESTE; TANIMOTO; KAKIGI; SAGA *et al.*, 2013), contudo, esses resultados não são universais (BOTTARO; VELOSO; WAGNER; GENTIL, 2011; KUMAR; ATHERTON; SELBY; RANKIN *et al.*, 2012; MITCHELL; CHURCHWARD-VENNE; WEST; BURD *et al.*, 2012; OSTROWSKI; WILSON; WEATHERBY; MURPHY *et al.*, 1997). Da mesma forma, apesar de alguns estudos demonstrarem uma SPM mais elevada para as ações musculares excêntricas comparadas às concêntricas (MOORE; PHILLIPS; BABRAJ; SMITH *et al.*, 2005), esses resultados não são um consenso (PHILLIPS; TIPTON; AARSLAND; WOLF *et al.*, 1997), e maiores SPM não garantem maior hipertrofia muscular (MOORE; YOUNG; PHILLIPS, 2012). Por fim, as diretrizes recomendam intervalos entre 1-2' para grupamentos musculares grandes e 2-3' para os pequenos a fim de maximizar a hipertrofia muscular (ACSM, 2009; 2011). Apesar disso, novas evidências demonstraram que intervalos maiores entre séries podem produzir maiores respostas hipertróficas (SCHOENFELD; POPE; BENIK; HESTER *et al.*, 2016), embora esses resultados também não sejam um consenso entre as novas evidências (VILLANUEVA; LANE; SCHROEDER, 2015). Para

avancarmos no conhecimento, no meu mestrado propusemos investigar o efeito dos sistemas de TF *drop-set* (redução na intensidade após uma falha muscular possibilitando a realização de repetições adicionais) e piramidal crescente (aumentos e diminuições na intensidade e repetições, respectivamente, em cada série), estratégias utilizadas por praticantes avançados de TF com o intuito de otimizar/maximizar a hipertrofia muscular (ANGLERI; UGRINOWITSCH; LIBARDI, 2021). Observamos que uma vez realizados até (ou próximos) da falha muscular, os sistemas não resultaram em maior hipertrofia muscular comparados ao TF tradicional, mesmo envolvendo manipulações substanciais nas variáveis de treinamento (ANGLERI; UGRINOWITSCH; LIBARDI, 2017). Embora nenhum consenso tenha se estabelecido, essas evidências nos permitiram hipotetizar que o TF realizado próximo ou até a falha muscular pode de fato ser um estímulo suficiente para otimizar/maximizar a resposta hipertrófica. No entanto, esses estudos realizaram a manipulação de uma ou outra variável específica do TF, enquanto revisões clássicas sugerem que frequentes manipulações em diversas variáveis sejam realizadas a fim de potencializar a hipertrofia muscular (ACSM, 2009; KRAEMER; DESCHENES; FLECK, 1988; KRAEMER; RATAMESS, 2004; TAN, 1999). A esse respeito, ainda não está claro qual o efeito da manipulação frequente de diversas variáveis do TF na hipertrofia muscular em sujeitos treinados. Portanto, uma primeira pergunta a ser respondida é *“Existe alguma importância na manipulação frequente das variáveis do TF para a hipertrofia muscular (i.e., ΔS_{Tm}), mesmo quando o treinamento é realizado até a falha?”*

A literatura tem demonstrado uma grande variabilidade biológica inter-sujeitos na resposta hipertrófica induzida pelo TF (AHTIAINEN; WALKER; PELTONEN; HOLVIALA *et al.*, 2016; BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; CHURCHWARD-VENNE; TIELAND; VERDIJK; LEENDERS *et al.*, 2015; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Nesse sentido, essa variabilidade

individual poderia explicar as diferentes magnitudes da resposta hipertrófica independente da manipulação das variáveis do TF. Dentre os fatores intrínsecos relacionados a hipertrofia muscular, as células satélites (CS) têm recebido grande atenção (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008; ROBERTS; HAUN; MOBLEY; MUMFORD *et al.*, 2018). As CS são células pré-diferenciadas localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal (MAURO, 1961). Tem sido sugerido que uma das funções mais importantes das CS é se fundir e doar seu núcleo a fibras musculares pré-existentes (WANG; RUDNICKI, 2012), aumentando a capacidade transcripcional e dando suporte ao processo de crescimento dessas fibras (KADI; SCHJERLING; ANDERSEN; CHARIFI *et al.*, 2004; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008; SNIJDERS; SMEETS; VAN KRANENBURG; KIES *et al.*, 2016). Esse processo, é coordenado por genes envolvidos no remodelamento da matriz extracelular - na qual as CS se encontram - (metaloproteinases de matriz 2 e 9 [MMPs-2 e 9]), no estímulo mecânico (*mechanogrowth factor* [MGF]), ativação (*paired box 7* [PAX-7]), proliferação (*myoblast determination protein 1* [MyoD]) e diferenciação (*myogenin* [MyoG]) das CS (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; CALDOW; THOMAS; DALE; TOMKINSON *et al.*, 2015; LIU; HEINICHEN; WIRTH; SCHMIDTBLEICHER *et al.*, 2008; NEDERVEEN; JOANISSE; SNIJDERS; THOMAS *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006). Estudos demonstraram que a magnitude de mudança na expressão de alguns desses genes (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007) e na adição de mionúcleos mediada pelas CS (PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008) estão alinhadas com a magnitude de aumento da ASTf induzido por um programa de TF padrão, em indivíduos sem

experiência prévia com TF. Contudo, esses resultados não são universais tanto para iniciantes (MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018) quanto para sujeitos com experiência em TF (HAUN; VANN; MOBLEY; OSBURN *et al.*, 2019). Nesse sentido, ainda não existe um consenso a respeito da variabilidade inter-sujeitos como um fator que explique as diferenças na resposta hipertrófica. Além disso, os estudos mencionados anteriormente não investigaram se a manipulação frequente das variáveis do TF pode diminuir a variabilidade na mudança desses fatores biológicos intrínsecos entre altos e baixos respondedores. Nesse sentido, três importantes questões ainda precisam ser respondidas: *i) A manipulação frequente das variáveis do treinamento (intensidade, volume, ação muscular e pausa) pode modular os fatores biológicos intrínsecos e conseqüentemente potencializar a resposta hipertrófica das fibras musculares (i.e., ASTf)?; ii) A variabilidade intra-sujeito na hipertrofia das fibras musculares e fatores biológicos intrínsecos são moduladas pela manipulação frequente das variáveis do TF? e; iii) Os fatores biológicos intrínsecos são de fato os maiores determinantes das diferenças da magnitude da hipertrofia muscular e explicam a variabilidade da resposta hipertrófica das fibras musculares independente das manipulações do TF?*

Para responder essas perguntas, utilizamos um design intra-sujeitos, em que uma perna realizou um protocolo de TF padrão e progressivo (TF-CON), e a perna contralateral realizou um protocolo de TF modulando as variáveis: intensidade, volume, ação muscular e intervalo entre séries. O design intra-sujeitos possibilita o controle da variabilidade biológica visto que ambas as pernas são afetadas de forma idêntica pela genética, nutrição, nível de treinamento e sono (MACINNIS; MCGLORY; GIBALA; PHILLIPS, 2017). Hipotetizamos que: 1) TF-CON e TF-VAR produziram aumentos similares na SPM e ASTm; 2) TF-CON e TF-VAR induziram a respostas similares nas

CS, adição de mionúcleos e expressão dos genes envolvidos nesse mecanismo e ASTf do tipo I e II; 3) os protocolos de TF produziriam uma baixa variabilidade intra-sujeitos (i.e., comparação entre pernas) e uma alta variabilidade inter-sujeitos (i.e., comparação entre sujeitos) nos aumentos da ASTf e nos fatores biológicos intrínsecos, independentemente do protocolo de TF; e 4) os fatores biológicos intrínsecos explicariam melhor a magnitude da hipertrofia das fibras musculares a nível individual, independentemente do programa de TF.

2. DESENVOLVIMENTO DO PROJETO

O projeto referente a minha tese de doutorado foi parte de um projeto regular financiado pela FAPESP (#2017/04299-1) coordenado pelo meu orientador Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi. Esse projeto investigou não apenas as medidas mencionadas na minha tese, mas também os efeitos da manipulação frequente das variáveis do TF na área de secção transversa do músculo vasto lateral e da taxa de síntese proteica miofibrilar. Pelo fato de a proposta do projeto regular envolver medidas bastante complexas e diferentes perguntas, apesar de estarem em um mesmo contexto, a proposta original foi separada em dois projetos. Um deles foi o projeto de pós-doutorado do Prof. Dr. Felipe Damas e o outro foi o meu projeto de doutorado, ambos apoiados pela FAPESP (#2016/24259-1 e # 2017/05331-6, respectivamente). As perguntas referentes às medidas de hipertrofia a nível de músculo inteiro e taxa de síntese proteica miofibrilar foram parte do projeto de pós-doutorado do Prof. Dr. Felipe Damas. É importante ressaltar que embora o projeto regular do Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi tenha originado dois projetos individuais, o trabalho em equipe entre o Prof. Dr. Felipe Damas e eu ocorreu durante todo desenvolvimento do projeto regular e foi fundamental para a conclusão de cada etapa de ambos os projetos. Considerando que a duração do processo de pós-

doutoramento é menor comparado ao de doutorado, o projeto do Prof. Dr. Felipe Damas envolveu um número menor de medidas, possibilitando que os dados fossem analisados mais rapidamente. Os resultados desse projeto foram publicados no artigo ***“Myofibrillar protein synthesis and muscle hypertrophy individualized responses to systematically changing resistance training variables in trained young men.”*** do qual sou segundo autor, no periódico, *Journal of Applied Physiology* (ANEXO 1 - doi:10.1152/jappphysiol.00350.2019). Nesse estudo, confirmamos nossa hipótese de que tanto a taxa de síntese proteica miofibrilar quanto a hipertrofia do músculo vasto lateral são pouco afetados pela manipulação extrínseca das variáveis do TF. Além disso, a menor variabilidade intra-sujeito na hipertrofia muscular comparado a inter-sujeitos sugere que os fatores biológicos intrínsecos, ao invés de manipulação extrínseca do TF poderiam ter maior impacto nas respostas hipertróficas. Dessa forma, para continuarmos avançando precisávamos responder se: i) *Os fatores biológicos intrínsecos - e quais deles - podem ser modulados pela manipulação extrínseca das variáveis do TF?*; ii) *As respostas hipertróficas observadas a nível do músculo também são observadas nos diferentes tipos de fibras musculares? e;* iii) *Os fatores biológicos intrínsecos ao invés dos extrínsecos, explicam a variabilidade da resposta hipertrófica independente das manipulações do TF?* Esses questionamentos foram respondidos com os resultados do meu projeto de doutorado. Todos os detalhes e resultados obtidos nesse projeto são reportados no manuscrito ***“Resistance training variable manipulations are less relevant than intrinsic biology in affecting muscle fiber hypertrophy.”*** publicado no periódico *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* (ANEXO 2 - doi: 10.1111/sms.14134) apresentado a seguir.

3. MANUSCRITO

Título: A manipulação das variáveis do treinamento de força é menos relevante do que os fatores biológicos intrínsecos na hipertrofia das fibras musculares.

Resumo

Nosso objetivo foi investigar se o aumento da área de secção transversa das fibras musculares (ASTf) e seus mecanismos associados podem ser afetados tanto a nível de grupo quanto individual pela manipulação das variáveis do treinamento de força (TF). Vinte homens jovens e treinados tiveram cada perna aleatoriamente alocada na condição TF padrão (TF-CON: sem manipulações específicas) ou TF variado (TF-VAR: manipulação da intensidade, volume, ação muscular e pausa, em cada sessão de TF). A ASTf, conteúdo de células satélites (CS), mionúcleos e expressão gênica foram medidos antes e após 16 sessões de TF (efeito crônico). Adicionalmente, a expressão foi medida 24h após uma sessão adicional (17ª sessão) de TF (efeito agudo). Os protocolos TF-CON e TF-VAR produziram aumentos na ASTf e domínio mionuclear das fibras do tipo I e II após o treinamento ($P < 0,05$). O conteúdo de CS e mionúcleos não mudou para nenhuma das condições ($P > 0,05$). A expressão de Pax-7, MyoD, MMP-2 e COL3A1 (crônico) e MGF, Pax-7, e MMP-9 (agudo) aumentou similarmente para TF-CON e TF-VAR ($P < 0,05$). O aumento na expressão de MyoG (agudo) foi significativamente maior para TF-VAR comparado a TF-CON ($P < 0,05$). Foi observada uma correlação entre TF-CON e TF-VAR para as mudanças na ASTf ($r = 0,89$). As mudanças na ASTf foram correlacionadas com as mudanças nas CS ($r = 0,42$) e mionúcleos ($r = 0,50$). A análise dos heatmaps demonstrou um alinhamento a nível individual entre as mudanças observadas nas respostas da ASTf, CS e mionúcleos, independentemente o protocolo de TF realizado. A alta variabilidade inter-sujeitos e baixa variabilidade intra-sujeitos observadas independentemente do protocolo de TF sugere que os fatores biológicos intrínsecos parecem ser mais importantes para explicar a magnitude de aumento da ASTf em sujeitos treinados.

Palavras-chave: predisposição biológica, células satélites, respostas individuais, responsividade, treinamento de força, variáveis do treinamento.

Introdução

A massa muscular esquelética tem um papel fundamental na saúde, desempenho esportivo e estética (BAMMAN; ROBERTS; ADAMS, 2018; WOLFE, 2006). O treinamento de força (TF) é o método mais efetivo para promover o aumento da área de secção transversa das fibras musculares (ASTf) (i.e., hipertrofia muscular) (ACSM, 2009; KRAEMER; ADAMS; CAFARELLI; DUDLEY *et al.*, 2002; KRAEMER; RATAMESS, 2004). Tem sido amplamente sugerido que a manipulação frequente das variáveis do TF (e.g., intensidade, volume, ação muscular e pausa) pode potencializar o aumento da ASTf de tipos específicos de fibras musculares, quando comparado com um programa de TF padrão, especialmente em sujeitos considerados treinados em força (ACSM, 2009; FLECK; KRAEMER, 2014; FRIEDMANN-BETTE; BAUER; KINSCHERF; VORWALD *et al.*, 2010; FRY, 2004; OGBORN; SCHOENFELD, 2014; SCHOENFELD, 2010; VIKNE; REFSNES; EKMARK; MEDBO *et al.*, 2006). Teoricamente, a manipulação das variáveis do TF potencializariam a resposta de fatores biológicos intrínsecos (e.g., aumento do *pool* de células satélites [CS], conteúdo de mionúcleos e expressão gênica) controlando a resposta hipertrófica do tecido muscular esquelético (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; BAMMAN; ROBERTS; ADAMS, 2018; HAUN; VANN; MOBLEY; OSBURN *et al.*, 2019; KOSEK; KIM; PETRELLA; CROSS *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Contudo, recentemente nosso grupo demonstrou respostas hipertróficas similares do músculo vasto lateral entre um protocolo de TF que realizou a manipulação frequente das variáveis do TF quando comparado a um protocolo de TF padrão com progressão linear, ao menos quando ambos os protocolos são realizados até (ou próximos) a falha muscular concêntrica (DAMAS; ANGLERI; PHILLIPS; WITARD *et al.*, 2019). Contudo, os

efeitos da manipulação das variáveis do TF a nível das fibras musculares e nos fatores biológicos intrínsecos mencionados anteriormente ainda permanecem obscuros em sujeitos treinados em força.

A literatura tem reportado uma grande variabilidade inter-sujeitos nos aumentos da ASTf induzidos pelo TF quando diferentes protocolos são comparados (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; CHURCHWARD-VENNE; TIELAND; VERDIJK; LEENDERS *et al.*, 2015; HAUN; VANN; OSBURN; MUMFORD *et al.*, 2019; MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Nesse sentido, por meio de um design intra-sujeitos (i.e., cada perna realiza um protocolo de TF), nós demonstramos uma maior variabilidade a nível inter-sujeitos quando comparada a variabilidade intra-sujeitos tanto na taxa de síntese proteica miofibrilar quanto na hipertrofia muscular, independente do protocolo de TF realizado (DAMAS; ANGLERI; PHILLIPS; WITARD *et al.*, 2019). Esses achados sugerem que os fatores biológicos intrínsecos, ao invés dos extrínsecos (e.g., manipulação das variáveis do TF), são os principais mediadores da magnitude da resposta hipertrófica entre altos e baixos respondedores. Dentre os fatores intrínsecos relacionados à hipertrofia, as CS têm recebido uma atenção particular (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008; ROBERTS; HAUN; MOBLEY; MUMFORD *et al.*, 2018), visto que elas doam seus mionúcleos às fibras musculares existentes para dar suporte a maior demanda por síntese proteica do volume citoplasmático em expansão (KADI; SCHJERLING; ANDERSEN; CHARIFI *et al.*, 2004; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008; SNIJDERS; SMEETS; VAN KRANENBURG;

KIES *et al.*, 2016). Esse processo é coordenado pela expressão aumentada de genes envolvidos no ciclo das CS bem como no seu nicho (e.g., metaloproteinases de matriz [MMP-2 e MMP-9], *mechanogrowth factor* [MGF], *paired box protein 7* [Pax-7], *myoblast determination protein 1* [MyoD], e miogenina [MyoG]) induzida tanto por uma única sessão de TF quanto por várias sessões (efeitos agudo e crônico) (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; CALDOW; THOMAS; DALE; TOMKINSON *et al.*, 2015; LIU; HEINICHEN; WIRTH; SCHMIDTBLEICHER *et al.*, 2008; NEDERVEEN; JOANISSE; SNIJDERS; THOMAS *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006). Importaneamente, foi demonstrado que a magnitude de mudança na expressão de alguns desses genes (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007) e na adição de mionúcleos mediada pelas CS (PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008) estavam alinhados com a magnitude de aumento na ASTf induzida por um programa padrão de TF, em sujeitos sem experiência previa em TF. Embora esses achados sugiram que a variabilidade inter-sujeitos possa explicar a diferença na resposta adaptativa, esses estudos não permitem determinar se a manipulação frequente das variáveis do TF podem diminuir a variabilidade nas respostas desses fatores biológicos intrínsecos (i.e., entre altos e baixos respondedores para a hipertrofia muscular).

Esse estudo teve o objetivo de investigar se os fatores biológicos intrínsecos (i.e., resposta das CS, adição de mionúcleos e expressão gênica) poderiam ser modulados pela manipulação frequente das variáveis do TF e potencializar os ganhos na ASTf em homens jovens treinados em força. Nós também investigamos se a variabilidade intra-sujeitos na ASTf e nos fatores biológicos intrínsecos poderiam ser modulados pelas manipulações nas variáveis do TF e se esses fatores intrínsecos estariam relacionados com a magnitude de aumento da ASTf. Para isso, nós utilizamos um programa de TF unilateral, no qual

uma perna realizou o programa de TF padrão (TF-CON), e a perna contralateral realizou um programa de TF variável (TF-VAR) modulando variáveis chave, como: intensidade, volume, ação muscular e intervalo entre séries. Nós hipotetizamos que: 1) os protocolos TF-CON e TF-VAR aumentariam similarmente a ASTf das fibras musculares do tipo I e II; 2) ambos os protocolos induziriam a respostas similares das CS, adição de mionúcleos e expressão dos genes envolvidos nesse mecanismo; 3) os protocolos de TF produziriam uma baixa variabilidade a nível intra-sujeitos e uma alta variabilidade inter-sujeitos nos aumentos da ASTf e nos fatores biológicos intrínsecos independentemente do programa de TF; e 4) os fatores biológicos intrínsecos explicariam melhor a magnitude da hipertrofia a nível individual, independentemente das manipulações do TF.

Métodos

Participantes

Homens jovens treinados em força (n = 20, idade: 26 ± 3 anos, índice de massa corporal: $25,6 \pm 2,1$ kg/m², experiência em TF: $2,5 \pm 1,1$ anos) se voluntariaram para participar do estudo. Todos os sujeitos reportaram estarem livres de problemas musculares e do uso de esteroides anabolizantes. Os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki, e com o Comitê Local de Ética em Pesquisa com Humanos (# 2.226.596).

Desenho experimental

Nós utilizamos um design intra-sujeitos a partir do qual, análises crônicas e agudas foram realizadas (Figura 1). Cada perna de cada sujeito foi aleatorizada de forma balanceada de acordo com a dominância nas condições: 1) TF padrão e progressivo (TF-CON, 10 pernas dominantes e 10 não dominantes) ou; 2) TF variável (TF-VAR, 10 pernas

dominantes e 10 não dominantes), que manipulou as variáveis do TF (descrição completa apresentada abaixo). Os sujeitos se abstiveram de exercícios físicos por pelo menos 72h antes da primeira sessão de TF. Uma biópsia no músculo vasto lateral foi realizada em uma das pernas de forma aleatória imediatamente antes da primeira sessão de TF (Pré). Os sujeitos realizaram 2 sessões de TF semanais durante 8 semanas (totalizando 16 sessões de TF), nas quais ambos os protocolos foram realizados. Biópsias bilaterais foram realizadas 96h após a última sessão de TF (Pós). Em seguida, os sujeitos realizaram uma sessão de TF adicional (i.e., 17ª sessão de TF), e biópsias musculares do vasto lateral foram coletadas de cada perna 24h após essa sessão de TF. As biópsias dos momentos Pré e Pós foram utilizadas para analisar as alterações crônicas na ASTf, conteúdo de CS e mionúcleos e expressão gênica. O efeito agudo da 17ª sessão de TF foi determinado pelas biópsias dos momentos Pós (chamadas de 0h para essas análises) e 24h. Na sessão de TF aguda, os sujeitos realizaram o protocolo TF-CON com a mesma perna que habitualmente realizava a condição TF-CON (n = 20), e a perna contralateral foi aleatorizada em uma das 4 condições do TF-VAR (n = 20; n = 5 por condição). Apesar de os sujeitos já serem experientes em TF, a sessão aguda foi realizada apenas no final do programa de TF para minimizar algum viés produzido pelo estímulo do exercício não acostumado. Os sujeitos consumiram 30g de proteína isolada do soro do leite fornecida pelo pesquisador após cada sessão de TF, incluindo a sessão aguda (i.e., 17ª sessão de TF).

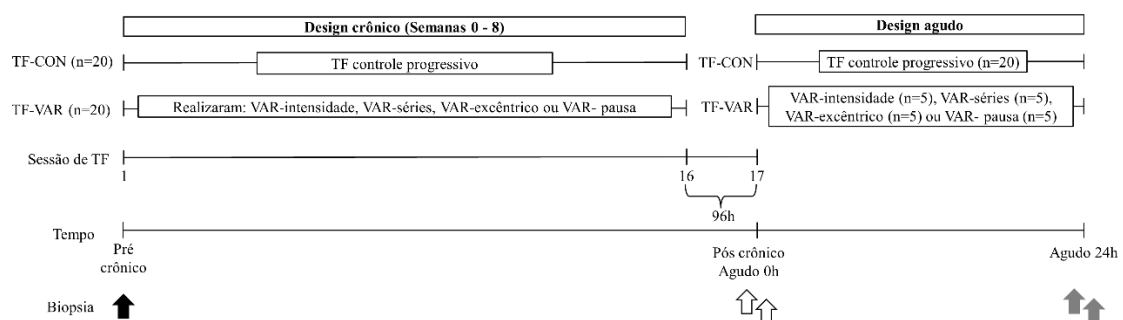


Figura 1. Desenho experimental. A seta única indica biópsia unilateral. Setas duplas indicam biópsias bilaterais. A seta preta indica a biópsia utilizada para as medidas Pré do design crônico; as setas brancas indicam as biópsias utilizadas para as medidas Pós no design crônico (96h após a 16ª sessão de TF) e para as medidas 0h (imediatamente após a 17ª sessão de TF) no design agudo; e as setas cinza indicam as biópsias utilizadas no momento 24h após a 17ª sessão de TF no design agudo. TF: treinamento de força; TF-CON: TF controle (4 séries de leg press seguida de 4 séries de cadeira extensora, 9-12RM/2-minutos de pausa); TF-VAR: TF variável; VAR-intensidade: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 25-30RM/2-minutos de pausa; VAR-séries: 6 séries de leg press e cadeira extensora, 9-12RM/2-minutos de pausa; VAR-excêntrico: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 10 contrações excêntricas com 110% da intensidade utilizada na perna TF-CON/2-minutos de pausa; VAR-pausa: 4 séries de leg press e cadeira extensora, 9-12RM/4-minutos de pausa.

Biópsia muscular

As biópsias do músculo vasto lateral foram realizadas por meio de agulhas de biópsia percutânea com sucção manual e anestesia local (2-3mL de xilocaína 1%). Uma porção de 20-30 mg de tecido foi estocada em composto para temperatura ótima de corte (Tissue-Tek® O.C.T.) com as fibras orientadas perpendicularmente à superfície horizontal e congeladas em isopentano resfriado por nitrogênio líquido para realizar as análises de ASTf, conteúdo de CS e mionúcleos e domínio mionuclear para as fibras do tipo I e II. Aproximadamente 50 mg de tecido muscular foi separado para as análises de expressão gênica. Todas as amostras foram estocadas a -80°C até o momento das análises.

Treinamento de força

Ambos os protocolos foram realizados até (ou próximos) a falha muscular concêntrica. O protocolo TF-CON realizou 8 séries (4 séries no leg press seguidas de 4 séries na cadeira extensora) de 9-12 repetições máximas (RM), com ações musculares dinâmicas (concêntricas e excêntricas) e 2 minutos de intervalo entre séries e exercícios. A intensidade foi aumentada e diminuída para manter a zona alvo de repetições máximas estipulada, como descrito anteriormente (DAMAS; ANGLERI; PHILLIPS; WITARD *et al.*, 2019). No protocolo TF-VAR, uma das seguintes manipulações do TF foi realizada: 1) intensidade: 4 séries no leg press e na cadeira extensora de 25-30RM com 2 minutos de pausa; 2) volume: 6 séries no leg press e na cadeira extensora de 9-12RM com 2 minutos de pausa; 3) ação muscular excêntrica: 4 séries no leg press e na cadeira extensora de 10 contrações excêntricas com 110% da intensidade utilizada na condição TF-CON com 2 minutos de pausa e; 4) pausa: 4 séries no leg press e na cadeira extensora de 9-12RM com 4 minutos de pausa. Como 16 sessões de TF foram realizadas durante as 8 semanas, essas configurações do TF-VAR foram repetidas 4 vezes por cada participante em ordem aleatória e balanceada.

Análise imunohistoquímica

As amostras de tecido muscular congelado foram seccionadas em um criostato (Leica CM 1860) a -25°C. As lâminas contendo as secções musculares (6 µm) foram mantidas em temperatura ambiente por ~20 minutos para estabilização. As amostras foram encubadas com os anticorpos primários a 37°C por 45 minutos. Em seguida, as amostras foram lavadas 3 vezes em salina tamponada com fosfato (PBS) por 5 minutos, e então foram encubadas com os anticorpos secundários a 37°C por 45 minutos. Após passarem por mais 3 lavagens de 5 minutos, as lâminas foram montadas com FluorQuest

contendo DAPI. As imagens foram obtidas pelo equipamento ImageXpress Micro XLS com aumento de 20X. Uma imagem representativa está ilustrada na Figura 2. As análises foram realizadas por meio do software ImagJ. Devido a um problema na aquisição das imagens de uma amostra, os procedimentos a seguir foram conduzidos com as amostras de 19 sujeitos. A ASTf foi determinada por planimetria computadorizada para cada tipo de fibra muscular. Para garantir que apenas as fibras seccionadas transversalmente foram analisadas, as fibras com circularidade abaixo de 0,60 foram excluídas da análise (KOSEK; KIM; PETRELLA; CROSS *et al.*, 2006; VERDIJK; GLEESON; JONKERS; MEIJER *et al.*, 2009). Para a ASTf das fibras do tipo I foram analisadas 48 ± 6 no Pré, 44 ± 12 no Pós (TF-CON) e 47 ± 7 no Pós (TR-VAR). Com relação a ASTf das fibras tipo II, o número de fibras analisadas foi 50 ± 0 no Pré, 47 ± 9 no Pós (TF-CON) e 50 ± 1 no Pós (TR-VAR). O erro típico (ET) entre duas medidas realizadas com 72h de intervalo foi $116,8 \mu\text{m}^2$; $219,0 \mu\text{m}^2$ e $175,9 \mu\text{m}^2$ para a ASTf das fibras musculares do tipo I, II e total (ASTf I + ASTf II), respectivamente. O número de mionúcleos para cada tipo de fibra foi contado e normalizado pelo número de fibras analisadas. O ET entre duas medidas realizadas com 72h de intervalo foi 0,15 mionúcleos/fibra, 0,13 mionúcleos/fibra, e 0,17 mionúcleos/fibra para as fibras tipo I, II e total (tipo I + tipo II), respectivamente. O domínio mionuclear foi definido como a razão entre a ASTf e o número de mionúcleos normalizados para cada tipo de fibra. O número de CS para os tipos específicos de fibras foi determinado pela co-localização de DAPI e Pax-7. As CS específicas de cada tipo de fibra muscular foi normalizado pelo número de fibras musculares específicas. O ET entre duas medidas realizadas com 72h de intervalo foi 0,02 CS/fibra para as CS das fibras do tipo I, II e total (tipo I + tipo II). O número de fibras do tipo I analisadas para quantificar as CS e mionúcleos foi 97 ± 49 no Pré, 95 ± 55 no Pós (TF-CON) e 128 ± 88 no Pós (TR-VAR). Finalmente, o número de fibras do tipo II

analisadas para quantificar as CS e mionúcleos foi 144 ± 85 no Pré, 136 ± 86 no Pós (TF-CON) e 160 ± 97 no Pós (TR-VAR).

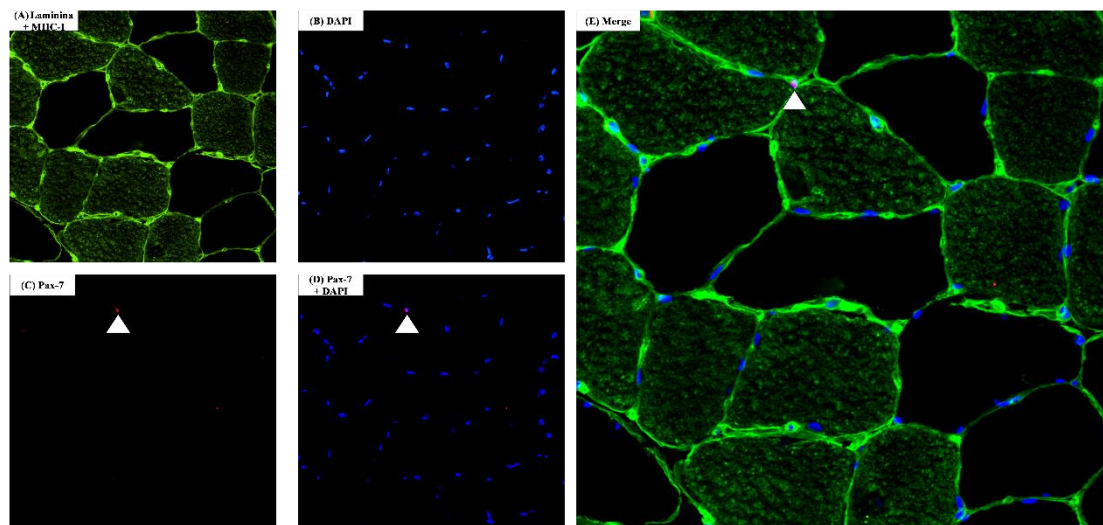


Figura 2. Imagem representativa do método de coloração por imunofluorescência. Laminina e MHC-I (A), DAPI (B), Pax-7 (C), co-localização de Pax-7 e DAPI (D) e Merge (Laminina/MHC-I/DAPI/Pax-7) (E). As setas indicam a célula satélite.

qRT-PCR

O RNA foi isolado através da incubação e homogeneização de ~ 15 mg de tecido muscular no reagente Trizol (Invitrogen Corporation, California, USA), conforme as instruções do fabricante. A concentração e a razão pureza/concentração do RNA foram determinadas pela medida de absorvância (NanoDrop 2000) de cada amostra a 260/230 e 260/280 nm, respectivamente. A integridade do RNA de todas as amostras foi certificada por eletroforese em gel de agarose a 1% com um padrão de RNA ribossômico 28S e 18S. As amostras foram tratadas com DNase I (Invitrogen Corporation California, USA) para remover qualquer tipo de contaminação por DNA genômico. O RNA ($1 \mu\text{g}$) foi utilizado para a realização da transcrição reversa pelo kit GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega Corporation, Madison, WI, USA). A PCR em tempo real (CFX 96 real-time

PCR–Bio-Rad, San Francisco, USA) foi realizada com 20 ng de cDNA e 0,5µM de cada primer foi utilizado em um mix com volume de 25 µl contendo SoFast™ Eva Green (BioRad, San Francisco, USA). As amostras foram analisadas em duplicata. A ciclagem térmica foi de 95°C por 10 minutos, 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 54,4 - 63,3° C por 30 segundos e 72° C por 30 segundos, respectivamente. Para garantir que apenas um produto de PCR foi amplificado por reação, a curva de *melting* foi concluída após a PCR. As mudanças relativas na expressão gênica foram calculadas pelo método de delta-delta Ct (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001). Nós testamos 4 genes (RPLP0, RPL13A, TFRC e GAPDH) como constitutivos e utilizamos o GAPDH para normalizar os valores de Ct (delta-Cts [Δ Ct]). Em seguida, os valores foram utilizados para normalizar os valores de Δ Ct (delta-delta Cts [$\Delta\Delta$ Ct]). Os valores foram transformados em escala logarítmica pela equação: *fold change* = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

Análise estatística

Os efeitos crônicos dos protocolos TF-CON e TF-VAR na ASTf, conteúdo de CS e mionúcleos e expressão gênica foram analisados em duas etapas. Como as análises do momento Pré foram realizadas por meio de tecido muscular coletado de apenas uma perna, nós utilizamos uma ANOVA one-way para determinar se as variáveis dependentes (ASTf, conteúdo de CS e mionúcleos e expressão gênica crônica) no Pós (TF-CON e TF-VAR) foram diferentes com relação ao Pré. Em caso de valor de *F* significativa, um pós-hoc de Dunnett foi realizado tendo o Pré como condição controle. As mesmas variáveis dependentes foram comparadas entre as condições TF-CON e TF-VAR no Pós por meio de um teste t pareado. As mudanças agudas na expressão gênica foram analisadas por modelo misto assumindo o tempo (0h e 24h) e o protocolo (TF-CON e TF-VAR) como fatores fixos e os sujeitos como fator randômico. Em caso de valor de *F* significativa, um

pós-hoc de Tukey foi realizado. Realizamos correlações de Pearson para a ASTf, CS e mionúcleos totais e expressão gênica aguda e crônica entre as pernas para investigar se os protocolos de TF afetam a resposta adaptativa a nível intra-sujeitos. Visto que uma alta correlação ($r = 0,89$) foi encontrada para as mudanças na ASTf total entre as pernas TF-CON e TF-VAR ($n = 38$), nós utilizamos os dados de ambas as pernas para realizar as correlações subsequentes. Desse modo, nós realizamos correlações de Pearson entre as mudanças na ASTf total e *i*) a mudança no conteúdo total de CS; *ii*) mudanças no conteúdo total de mionúcleos; *iii*) expressão gênica crônica e; *iv*) expressão gênica aguda. O valor de significância adotado foi de $P < 0,05$. Os heatmaps foram utilizados para explorar o alinhamento entre a hipertrofia das fibras musculares e os fatores biológicos intrínsecos. Para construção dos heatmaps, a ASTf total (AST das fibras tipo I + AST das fibras tipo II) de cada sujeito foi ranqueada de acordo com o valor de mudança ($\Delta\%$) médio das duas pernas ($[TF-CON + TF-VAR] \div 2$). Em seguida, o $\Delta\%$ das outras variáveis dependentes (i.e., CS total [número de CS das fibras tipo I + tipo II], mionúcleos total [mionúcleos das fibras tipo I + tipo II], expressão gênica crônica [Pré para Pós] e aguda [0h para 24h]) por sujeito foi ranqueado de acordo com o $\Delta\%$ da ASTf total. O Δ de mudança de cada coluna do heatmap foi normalizado individualmente. Para a ASTf, CS e mionúcleos totais, os valores basais dos heatmaps foram definidos como 0. O heatmap da expressão gênica crônica teve o valor de baseline definido como o valor médio da expressão gênica no Pré, enquanto a expressão gênica aguda teve os valores de baseline definidos como a média da expressão gênica das condições TF-CON e TF-VAR no momento 0h. Mudanças acima e abaixo dos valores de baseline foram respectivamente demarcadas em vermelho e azul, onde tons mais intensos de vermelho indicam maior $\Delta\%$ e tons mais intensos de azul indicando uma diminuição na variável dependente. Tons próximos ao branco indicam ausência de mudança. Por fim, 3 heatmaps foram

construídos comparando: 1- $\Delta\%$ da ASTf total, $\Delta\%$ das CS totais e $\Delta\%$ dos mionúcleos totais; 2- $\Delta\%$ da ASTf total e $\Delta\%$ da expressão gênica crônica e; 3- $\Delta\%$ da ASTf total e $\Delta\%$ da expressão aguda. Essas análises nos permitiram explorar visualmente se as respostas dos sujeitos altos ou baixos respondedores para a ASTf estavam alinhadas com as maiores e menores mudanças nos fatores biológicos intrínsecos e se o programa de TF poderia modular essas respostas.

Resultados

Volume total

Encontramos um maior volume total acumulado (series x repetições x intensidade [kg]) para o protocolo TF-VAR (217.613 ± 43.834 kg) comparado ao TF-CON (193.259 ± 39.731 kg) (12,6% de diferença entre pernas; $P < 0.001$; resultados não apresentados em figuras).

Área de secção transversa, número de células satélites e mionúcleos, tamanho do domínio mionuclear e proporção das fibras musculares do tipo I e II

Houve um aumento significativo na ASTf das fibras do tipo I para TF-CON (13,0% [$P = 0,01$]) e TF-VAR (12,3% [$P = 0,02$]) (Figura 3 A e Tabela 1). A ASTf das fibras do tipo II também aumentou para TF-CON (12,7% [$P = 0,02$]) e TF-VAR (12,2% [$P = 0,03$]) (Figura 3 B e Tabela 1). O domínio mionuclear das fibras musculares do tipo I aumentou significativamente para TF-CON (15,4% [$P = 0,0001$]) e TF-VAR (19,9% [$P = 0,0013$]) (Tabela 1). Houve um aumento significativo no domínio mionuclear das fibras do tipo II para TF-CON (23,1% [$P = 0,0002$]) e TF-VAR (24,2% [$P = 0,004$]) (Tabela 1). Nenhuma mudança na proporção dos tipos de fibras, conteúdo de mionúcleos e CS foi encontrado para TF-CON e TF-VAR para ambos os tipos de fibra ($P > 0,05$) (Tabela 1).

Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre TF-CON e TF-VAR para nenhuma variável dependente no momento Pós ($P > 0,05$) (Figura 3A, Figura 3B e Tabela 1).

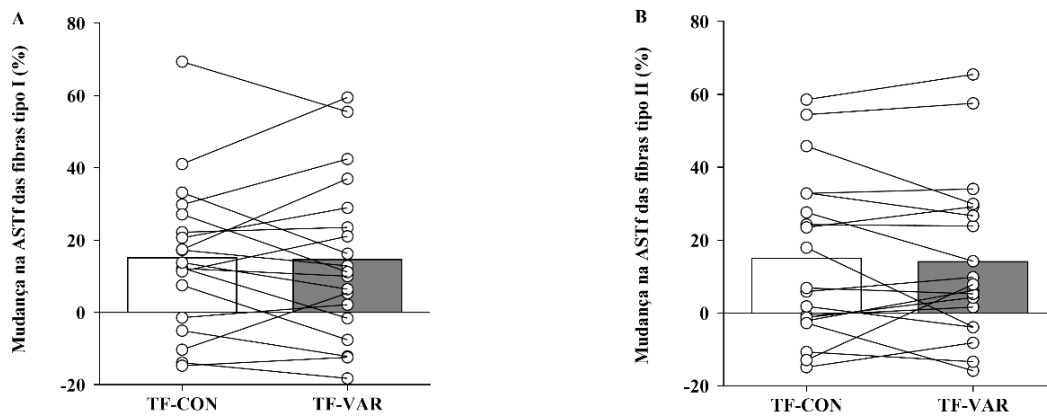


Figura 3. Aumentos percentuais na área de secção transversa das fibras musculares do tipo I (A) e II (B) do baseline (Pré) para 8 semanas de treinamento (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR). As barras representam as médias, e os pontos representam as respostas individuais.

Tabela 1. Área de secção transversa, número de células satélites e mionúcleos, tamanho do domínio mionuclear e proporção das fibras musculares do tipo I e II no baseline (Pré) e após 8 semanas (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR).

Variáveis	Tipo de Fibra	Pré	Pós	
			TF-CON	TF-VAR
ASTf por fibra (μm^2)	I	5617,62 \pm 1111,88	6348,71 \pm 972,21*	6311,07 \pm 1035,77*
	II	6323,63 \pm 1291,28	7124,91 \pm 1367,20*	7094,78 \pm 1427,28*
Células satélites por fibra (n)	I	0,08 \pm 0,03	0,07 \pm 0,04	0,08 \pm 0,03
	II	0,07 \pm 0,03	0,06 \pm 0,05	0,07 \pm 0,04
Mionúcleos por fibra (n)	I	4,78 \pm 0,97	4,65 \pm 0,72	4,47 \pm 0,72
	II	4,03 \pm 0,89	3,65 \pm 0,76	3,67 \pm 0,90
Domínio mionuclear por fibra (μm^2)	I	1195,80 \pm 214,96	1380,06 \pm 206,16*	1434,22 \pm 265,97*
	II	1607,84 \pm 341,17	1978,92 \pm 325,57*	1997,51 \pm 460,16*
Proporção dos tipos de fibra (%)	I	41,1 \pm 11,3	42,8 \pm 12,8	42,0 \pm 14,1
	II	58,9 \pm 11,3	57,2 \pm 12,8	58,0 \pm 14,1

Valores expressos em média \pm DP. *Significativamente diferente do Pré ($P < 0,05$).

Expressão gênica (efeitos crônicos do TF)

Os resultados demonstraram mudanças significativas na expressão gênica para Pax-7 (TF-CON: $P = 0,0151$; TF-VAR: $P = 0,0032$), MyoD (TF-CON: $P = 0,0181$; TF-VAR: $P = 0,0107$), MMP-2 (TF-CON: $P = 0,0363$; TF-VAR: $P = 0,0318$) e COL3A1 (TF-CON: $P = 0,0030$; TF-VAR: $P < 0,0002$) (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas na expressão de MGF, MyoG e MMP-9 ($P > 0,05$) (Tabela 2). Nenhuma diferença significativa entre TF-CON e TF-VAR foi observada entre os genes alvos ($P > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Expressão gênica crônica relativa no baseline (Pré) e após 8 semanas (Pós) para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR).

Gene	Pré	Pós	
		TF-CON	TF-VAR
MGF	1,14 ± 0,65	1,23 ± 0,86	1,61 ± 1,12
Pax-7	0,98 ± 0,50	1,65 ± 0,83*	2,17 ± 1,11*
MyoD	1,70 ± 0,78	4,13 ± 3,48*	3,86 ± 3,06*
MyoG	1,08 ± 0,55	0,90 ± 0,24	0,81 ± 0,37
MMP-2	1,10 ± 0,59	1,57 ± 0,70*	1,88 ± 1,16*
MMP-9	1,00 ± 0,57	1,35 ± 1,52	1,37 ± 1,50
COL3A1	1,12 ± 0,56	3,42 ± 2,61*	3,82 ± 2,16*

Valores expressos em média ± DP. *Significativamente diferente do Pré ($P < 0,05$).

Expressão gênica (efeitos agudos do TF)

Nenhuma diferença significativa na expressão gênica foi detectada entre TF-CON e TF-VAR no baseline (0h) para todos os genes alvo ($P > 0,05$) (Tabela 3). Os protocolos TF-CON e TF-VAR aumentaram significativamente a expressão de MGF (efeito principal de tempo; $P = 0,0060$), Pax-7 (efeito principal de tempo, $P < 0,0001$) e MMP-9 (efeito principal de tempo; $P = 0,0199$) de 0h para 24h (i.e., agudo). Nenhuma mudança

significativa foi encontrada entre TF-CON e TF-VAR no momento 24h para MGF, Pax-7 e MMP-9 ($P > 0,05$). Para MyoG, apenas o protocolo TF-VAR apresentou aumento significativo do momento 0h para 24h (interação tempo vs. protocolo; $P < 0,0001$). Adicionalmente, o protocolo TF-VAR foi significativamente diferente do TF-CON no momento 24h (interação tempo vs. protocolo; $P < 0,0261$). A expressão de MyoD, MMP-2 e COL3A1 não mudou do momento 0h para o 24h ($P > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Expressão gênica aguda relativa no baseline (0h) e após (24h) sessão de treinamento para o treinamento de força controle (TF-CON) e treinamento de força variável (TF-VAR).

Gene	TF-CON		TF-VAR	
	0h	24h	0h	24h
MGF	1,24 ± 0,88	1,96 ± 1,36*	1,23 ± 0,85	2,46 ± 1,77*
Pax-7	1,17 ± 0,62	2,12 ± 1,00*	1,22 ± 0,62	1,88 ± 0,91*
MyoD	0,91 ± 0,77	1,10 ± 1,05	0,84 ± 0,67	0,96 ± 0,62
MyoG	1,03 ± 0,28	2,12 ± 1,20	1,03 ± 0,27	4,25 ± 3,03*†
MMP-2	1,12 ± 0,52	0,93 ± 0,33	1,01 ± 0,63	1,09 ± 1,06
MMP-9	1,50 ± 1,68	2,24 ± 2,48*	1,30 ± 1,39	3,37 ± 3,76*
COL3A1	1,35 ± 1,04	1,43 ± 0,86	1,23 ± 0,74	1,79 ± 1,52

Valores expressos em média ± DP. *Significativamente diferente de 0h ($P < 0,05$). †Significativamente diferente do TF-CON no momento 24h ($P < 0,0261$).

Análises de correlação

Uma correlação significativa entre as pernas TF-CON e TF-VAR foi encontrada para a mudança na ASTf total ($P < 0,0001$; $r = 0,89$), CS total ($P < 0,0001$; $r = 0,82$) e uma forte tendência para mionúcleos totais ($P < 0,07$; $r = 0,42$). Contudo, nenhuma correlação foi observada entre as pernas TF-CON e TF-VAR ($P > 0,05$) para a expressão gênica aguda e crônica, exceto para a expressão crônica de MyoD ($P < 0,0001$; $r = 0,87$).

As análises com os grupos colapsados (TF-CON + TF-VAR) também demonstraram uma correlação significativa entre a mudança na ASTf total e as mudanças nas CS totais ($P < 0,01$; $r = 0,42$) e mionúcleos totais ($P < 0,001$; $r = 0,50$). No entanto, nenhuma correlação foi observada entre a mudança na ASTf total e a expressão gênica (crônica e aguda) ($P > 0,05$), exceto para a expressão crônica ($P < 0,001$; $r = 0,56$) e aguda ($P < 0,02$; $r = 0,43$) de MyoD.

Heatmaps

Os Heatmaps demonstraram uma resposta alinhada entre a magnitude de aumento na ASTf com a resposta das CS e mionúcleos ($\Delta\%$). Nesse sentido, os sujeitos que estavam dentro dos quartis correspondentes aos maiores e menores respondedores para a ASTf total também apresentaram as maiores e menores respostas para as CS e mionúcleos (Figura 4A). Adicionalmente, os heatmaps demonstraram que ambas as pernas de cada sujeito apresentavam tons de cor similares, indicando que a magnitude da resposta individual para a ASTf, CS e mionúcleos não foram substancialmente moduladas por um protocolo específico (TF-CON ou TF-VAR) (Figura 4A). Por outro lado, nós demonstramos um baixo alinhamento entre a magnitude de aumento da ASTf com o aumento da expressão gênica crônica (Figura 4B) e aguda (Figura 4C). Nesse sentido, os sujeitos que estavam no quartil correspondente aos maiores respondedores para a ASTf total apresentaram as menores respostas para a expressão gênica crônica e/ou aguda. Em contraste, alguns dos sujeitos que estavam no quartil correspondente aos menores respondedores para a ASTf total apresentaram as maiores mudanças na expressão gênica crônica e/ou aguda (Figura 4B e 4C). Adicionalmente, enquanto a expressão gênica não foi diferentemente afetada pelo protocolo de TF para alguns sujeitos (e.g., sujeitos 4 e 19 [expressão crônica de MyoD] – Figura 4B; sujeitos 3 e 16 [expressão aguda de COL3A1]

Figura 4C), outros apresentaram a maior resposta para um protocolo específico (e.g., perna TF-CON) e a menor resposta para o outro protocolo (e.g., perna TF-VAR) nos heatmaps (e.g., sujeitos 2 e 5 [expressão crônica de Pax-7] – Figura 4B; sujeito 18 [expressão aguda de Pax-7] Figura 4C).

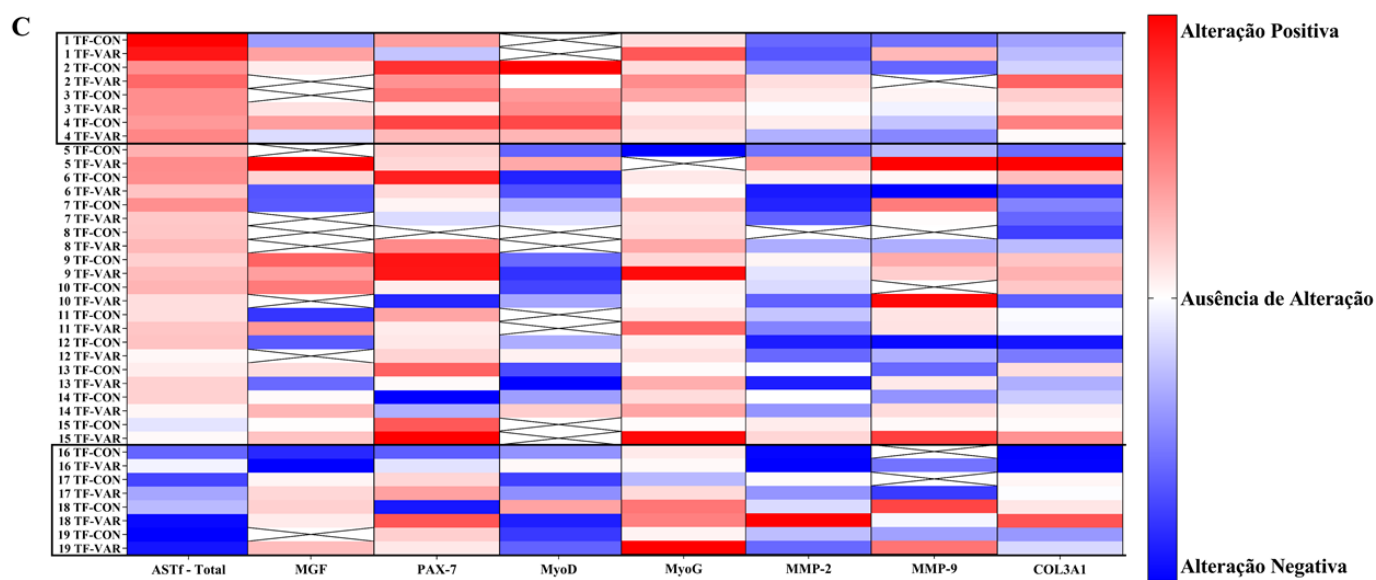
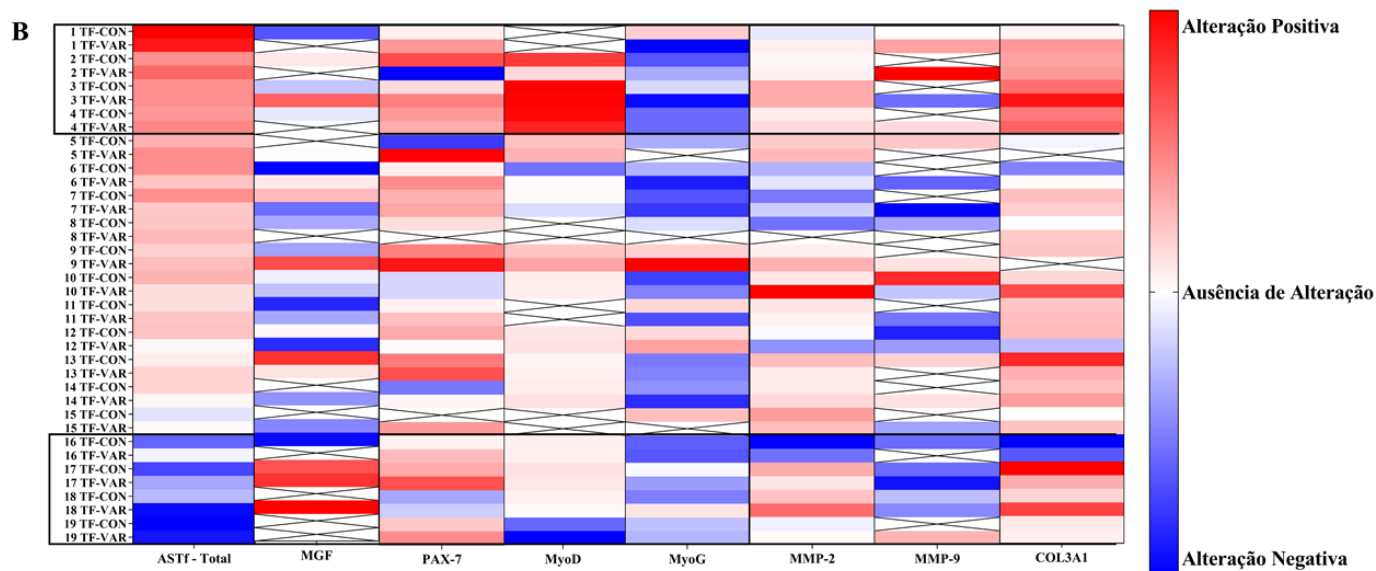
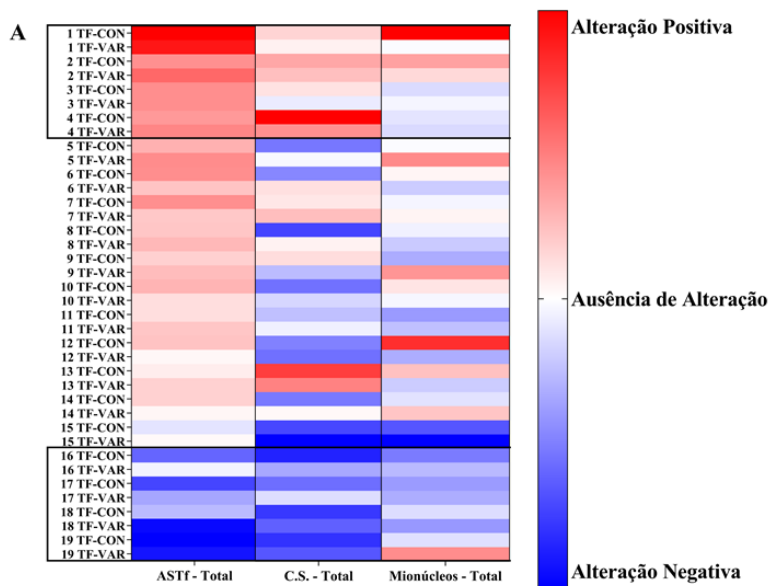


Figura 4. Heatmap da magnitude de mudança ($\Delta\%$) para cada variável dependente. (A) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós), $\Delta\%$ da CS total (Pré para Pós), e $\Delta\%$ do número de mionúcleos total (Pré para Pós). (B) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós) e $\Delta\%$ da expressão gênica crônica (Pré para Pós). (C) $\Delta\%$ da ASTf total (Pré para Pós) e $\Delta\%$ da expressão gênica aguda (0h para 24h). A magnitude de mudança para cada variável está indicada pelo gradiente de cor. Os tons mais intensos de vermelho representam as maiores magnitudes de mudança para a variável dependente. Conforme o gradiente de cor se torna mais branco, isso indica que nenhuma mudança na variável dependente foi detectada (i.e., $\Delta\% = 0$). Conforme o gradiente de cor flui do branco para tons mais intensos de azul, isso indica uma diminuição (i.e., $\Delta\%$ negativo) nos valores da variável dependente. As células preenchidas com “X” representam dados faltosos.

Discussão

Nós demonstramos que a manipulação frequente das variáveis do TF não aumentou os ganhos na ASTf comparado ao programa de TF padrão utilizando um design intra-sujeitos em indivíduos treinados em força. Adicionalmente, nós não encontramos aumentos no conteúdo de CS e mionúcleos para TF-CON e TF-VAR, com os dados de expressão gênica sugerindo um processo de *self-renewal* das CS para ambos os protocolos. As análises individuais demonstraram um alinhamento entre as respostas das ASTf, CS e mionúcleos (i.e., sujeitos que tiveram maior hipertrofia das fibras musculares também tiveram uma maior resposta das CS e mionúcleos, e o oposto é verdadeiro), independentemente do protocolo de TF. Esses resultados foram confirmados pela correlação entre as alterações na ASTf e conteúdo de CS ($r = 0,42$) e mionúcleos ($r = 0,50$). Adicionalmente, não encontramos alinhamento entre as mudanças crônicas e agudas na expressão gênica e as mudanças na ASTf, o que foi confirmado pela falta de

correlação entre essas variáveis (exceto para MyoD). Por fim, nossas análises histológicas sugerem que as respostas individuais das CS e mionúcleos exercem um efeito mais pronunciado nos aumentos da ASTf comparado a manipulação das variáveis do TF.

Efeitos da manipulação das variáveis do treinamento de força a nível de grupo

Para otimizar/maximizar a hipertrofia muscular e potencializar a hipertrofia de tipos específicos de fibras musculares, especialmente em sujeitos treinados, importantes diretrizes recomendam a manipulação frequente das variáveis do TF (ACSM, 2009; 2011; FLECK; KRAEMER, 2014; KRAEMER; RATAMESS, 2004). Contudo, nós encontramos aumentos similares na ASTf para as fibras do tipo I e II entre os protocolos, independentemente de um volume total ligeiramente maior para o protocolo TF-VAR, confirmando nossa hipótese. Outros autores também demonstraram aumentos similares em ambos os tipos de fibra muscular independentemente da manipulação da intensidade de treinamento (baixa vs. alta intensidade) ou diferenças no volume total (HEASELGRAVE; BLACKER; SMEUNINX; MCKENDRY *et al.*, 2019; SANTANIELO; NÓBREGA; SCARPELLI; ALVAREZ *et al.*, 2020) quando ambos os protocolos foram realizados até a falha muscular (MORTON; OIKAWA; WAVELL; MAZARA *et al.*, 2016). Adicionalmente, esses resultados corroboram nossos resultados prévios que demonstraram aumentos similares na área de secção transversa do músculo vasto lateral para os protocolos TF-CON e TF-VAR nesses mesmos indivíduos (DAMAS; ANGLERI; PHILLIPS; WITARD *et al.*, 2019). Nesse sentido, expandimos nossos resultados prévios demonstrando que a manipulação frequente das variáveis do TF (i.e., intensidade, volume, ação muscular e pausa) não aumentam a resposta hipertrófica a nível das fibras musculares, ao menos quando o TF é realizado até, ou próximo da falha muscular concêntrica.

A resposta das CS é um mecanismo intrínseco ao qual tem sido atribuído um papel fundamental na hipertrofia muscular induzida pelo TF (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Tem sido sugerido que esse mecanismo é importante durante o crescimento da ASTf (CONCEIÇÃO; VECHIN; LIXANDRÃO; DAMAS *et al.*, 2018; KADI; SCHJERLING; ANDERSEN; CHARIFI *et al.*, 2004; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Contudo, o aumento da ASTf reportado por nós não foi acompanhado por aumentos crônicos (i.e., mudanças do pré para o pós) no número das CS e mionúcleos após as 16 sessões de TF. Apesar da falta de estudos investigando as respostas crônicas das CS em sujeitos previamente treinados em força, evidências demonstram que em praticantes novatos em TF, aumentos expressivos na ASTf nas fases iniciais do TF induzem uma proliferação no *pool* de CS para dar suporte a doação de mionúcleos às fibras musculares que estão passando por uma expansão no volume sarcoplasmático (KADI; SCHJERLING; ANDERSEN; CHARIFI *et al.*, 2004; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Contudo, nós não demonstramos aumentos no conteúdo de CS e mionúcleos. Nossa recente metanálise demonstrou que adições substanciais de mionúcleos induzida pelas CS são observados quando a ASTf aumenta em $\geq 22\%$, enquanto nossos sujeitos apresentaram um aumento de $\sim 12\%$ na ASTf (CONCEIÇÃO; VECHIN; LIXANDRÃO; DAMAS *et al.*, 2018). É possível que nossos sujeitos treinados em força já tenham experienciado adição de mionúcleos, portanto, o número de mionúcleos pré-existentes foram suficientes para sustentar o aumento no volume sarcoplasmático (i.e., nossos sujeitos não necessitaram de nova adição de mionúcleos mediada pelas CS). Essa hipótese parece ser sustentada por

estudos que demonstraram um número de ~2,5 mionúcleos por fibra em praticantes novatos de TF (DAMAS; LIBARDI; UGRINOWITSCH; VECHIN *et al.*, 2018; PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008), enquanto nós demonstramos ~4,0 mionúcleos por fibra em sujeitos treinados em força. Embora ambos os protocolos não tenham aumentado o conteúdo de CS, esses protocolos podem ter estimulado o processo de *self-renewal* para manter o *pool* das CS. Essa hipótese pode ser sustentada pelos aumentos crônicos na expressão de Pax-7 e MyoD sem aumentos na MyoG, sugerindo uma ativação e proliferação do *pool* de CS sem diferenciação subsequente (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018; CALDOW; THOMAS; DALE; TOMKINSON *et al.*, 2015; KUANG; GILLESPIE; RUDNICKI, 2008; KUANG; KURODA; LE GRAND; RUDNICKI, 2007; ZAMMIT; GOLDING; NAGATA; HUDON *et al.*, 2004). Adicionalmente, tem sido demonstrado que o *self-renewal* das CS e manutenção do *pool* são influenciados pela ativação das MMPs que induzem o remodelamento da matriz extracelular (DUMONT; BENTZINGER; SINCENNES; RUDNICKI, 2015; RAYAGIRI; RANALDI; RAVEN; MOHAMAD AZHAR *et al.*, 2018). Nesse sentido, nós demonstramos aumentos crônicos na expressão de MMP-2 e agudos na expressão de MMP-9, que estão associados a um aumento crônico na expressão de COL3A1 (um marcador de remodelamento da matriz extracelular). Esses resultados expandem nossos achados prévios (DAMAS; UGRINOWITSCH; LIBARDI; JANNIG *et al.*, 2018), sugerindo que mesmo sujeitos com anos de experiência em TF apresentam um remodelamento contínuo da matriz extracelular. Com relação à expressão gênica aguda, está bem estabelecido que uma sessão única de TF produz aumentos na expressão de MGF, Pax-7, MyoG e MMP-9 (BAMMAN; PETRELLA; KIM; MAYHEW *et al.*, 2007; CALDOW; THOMAS; DALE; TOMKINSON *et al.*, 2015; URSO; PIERCE; ALEMANY; HARMAN *et al.*, 2009). Para a maioria dos genes

medidos agudamente, ambos os protocolos induziram aumentos similares na expressão gênica. Esses resultados sugerem que a manipulação das variáveis do TF estimula os genes envolvidos na miogênese e remodelamento da matriz extracelular similarmente ao TF realizado de forma constante e progressiva. Apenas para MyoG, o protocolo TF-VAR induziu um maior aumento na expressão gênica comparado a TF-CON, sugerindo um maior nível de diferenciação terminal de mioblastos para TF-VAR (KUANG; GILLESPIE; RUDNICKI, 2008; KUANG; KURODA; LE GRAND; RUDNICKI, 2007). Contudo, nós não encontramos maiores aumentos no conteúdo de CS com subsequente adição de mionúcleos para TF-VAR. Esses resultados nos permitem hipotetizar que embora a expressão aguda de MyoG seja responsiva a manipulação das variáveis do TF (BURD; WEST; STAPLES; ATHERTON *et al.*, 2010), esses resultados não são acompanhados por diferenças na hipertrofia das fibras musculares.

Efeitos da manipulação das variáveis do treinamento de força a nível individual

Com relação à resposta a nível individual, nós encontramos uma maior variabilidade inter-sujeitos na ASTf, corroborando nossos resultados prévios a nível do músculo (DAMAS; ANGLERI; PHILLIPS; WITARD *et al.*, 2019). Adicionalmente, a ampla e similar variabilidade inter-sujeitos na hipertrofia das fibras musculares entre TF-CON (-14.7% a 69.4% para ASTf das fibras tipo I e -14.9% a 58.5% para ASTf das fibras tipo II) e TF-VAR (-18.2% a 59.5% para ASTf das fibras tipo I e -15.8% a 65.5% para ASTf das fibras tipo II) expande nossos resultados prévios sugerindo que a frequente manipulação das variáveis do TF não impacta a alta variabilidade inter-sujeitos também ao nível das fibras musculares. De acordo, os heatmaps demonstraram que a hipertrofia individual induzida pelo TF (i.e., entre pernas) também não foi afetada pelo programa de TF, i.e., nem a manipulação frequente das variáveis do TF (TF-VAR) nem o programa

padrão de TF (TF-CON) foram capazes de modular a resposta individual substancialmente. Nesse sentido, nossos heatmaps demonstraram que nenhum sujeito apresentou diferenças substanciais no gradiente de cores entre condições; contudo, alguns sujeitos apresentaram uma pequena variação entre condições com o gradiente de cores variando do branco para o azul ou do branco para o vermelho. Em outras palavras, a baixa variabilidade da resposta hipertrófica a nível intra-sujeitos (i.e., entre pernas) ilustra que os sujeitos não tiveram benefícios adicionais nas adaptações hipertróficas independentemente do protocolo de TF. Isso é suportado pela alta correlação ($P < 0,0001$; $r = 0,89$) entre TF-CON e TF-VAR para as mudanças na ASTf total. Em conjunto, esses resultados sugerem que a influência da manipulação das variáveis do TF (TF-VAR) a nível intra-sujeitos (i.e., entre pernas) é substancialmente menor que o efeito da responsividade individual (i.e., entre sujeitos) na hipertrofia das fibras musculares. Portanto, nós sugerimos que a capacidade intrínseca individual de responder a um programa de TF pode ser um fator determinante da hipertrofia induzida pelo treinamento, ao invés da manipulação extrínseca das variáveis.

Com relação ao papel das CS nas adaptações musculares individuais, vários estudos têm investigado a adição de mionúcleos mediada pelas CS como um potencial regulador da resposta hipertrófica individual induzida pelo TF (PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008). Alguns estudos demonstraram uma relação entre a magnitude de aumento na ASTf com a resposta das CS e adição de mionúcleos (PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008), enquanto outros demonstraram respostas similares das CS (MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018) e adição de mionúcleos (PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008), independentemente

da magnitude da hipertrofia muscular. Nesses estudos, nota-se que os *clusters* foram compostos por sujeitos jovens e idosos de ambos os sexos, sem experiência previa com o TF (PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.*, 2006; PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.*, 2008), ou por jovens novatos em TF (MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018). Nossos resultados sugerem que para sujeitos jovens e treinados em força, as repostas das CS e mionúcleos induzidas pelo TF estão alinhadas com a magnitude do aumento da ASTf. Nossos heatmaps demonstraram que o quartil com os sujeitos que mais responderam para os ganhos na ASTf também apresentou algumas das maiores repostas para as CS e mionúcleos. Em contraste, o quartil com as menores repostas hipertróficas demonstrou as menores repostas para as CS e mionúcleos. Adicionalmente, os heatmaps ilustraram que nenhum dos sujeitos que apresentou os maiores aumentos na ASTf total apresentou uma das menores repostas para as CS e mionúcleos, e o oposto é verdadeiro. Esses resultados também estão de acordo com a correlação significativa entre as mudanças na ASTf total com as mudanças no conteúdo de CS totais ($P < 0,001$; $r = 0,42$) e mionúcleos totais ($P < 0,001$; $r = 0,50$). Assim como para os resultados de ASTf, as repostas das CS e mionúcleos também parecem ser pouco afetadas pela manipulação frequente das variáveis do TF (i.e., sem diferenças intra-sujeitos), ao menos quando ambos os protocolos são realizados com elevado nível de fadiga. Nós demonstramos uma alta variabilidade inter-sujeitos com o gradiente de cores dos heatmaps partindo de tons mais intensos de azul para tons mais intensos de vermelho para as repostas das CS e mionúcleos. Por outro lado, os heatmaps demonstraram uma baixa variabilidade intra-sujeitos (entre pernas), com a maioria das pernas dos sujeitos dentro de um mesmo de gradiente de cores e apenas alguns sujeitos apresentando uma pequena variação entre o gradiente de cores para as repostas das CS e mionúcleos. Esses resultados estão alinhados com a correlação ($P < 0,0001$; $r = 0,82$) entre TF-CON e TF-

VAR para as mudanças no conteúdo de CS e uma forte tendência para o conteúdo de mionúcleos ($P < 0,07$; $r = 0,42$). Isso sugere que as respostas das CS e mionúcleos ao TF crônico são determinantes da hipertrofia das fibras musculares a nível individual e não foram modulados pela manipulação do TF.

Em contraste, nós observamos uma falta de alinhamento entre a hipertrofia das fibras musculares e a expressão da maioria dos genes investigados tanto crônica quanto agudamente. A correlação observada entre a hipertrofia das fibras musculares e a expressão gênica crônica e aguda apenas para MyoD, sugere que a expressão da maioria dos genes envolvidos com a hipertrofia pode não ser um bom preditor das adaptações fenotípicas. Outros estudos demonstraram uma falta de alinhamento entre as adaptações musculares e as mudanças agudas (DAMAS; UGRINOWITSCH; LIBARDI; JANNIG *et al.*, 2018; MALLINSON; TAYLOR; CONSTANTIN-TEODOSIU; BILLETER-CLARK *et al.*, 2020) e crônicas (DAMAS; UGRINOWITSCH; LIBARDI; JANNIG *et al.*, 2018; MOBLEY; HAUN; ROBERSON; MUMFORD *et al.*, 2018) na expressão gênica. Contudo, pouco se sabe sobre as mudanças individuais induzidas pelo TF na expressão gênica aguda e crônica de sujeitos treinados em força. Nossos heatmaps demonstraram que vários sujeitos que apresentaram os maiores aumentos na ASTf apresentaram uma das expressões gênicas mais baixas para vários genes alvos, enquanto sujeitos com alterações negativas na ASTf apresentaram níveis robustos de expressão gênica. Adicionalmente, alguns sujeitos apresentaram a expressão gênica mais elevada em uma das pernas enquanto a perna contralateral apresentou a expressão gênica mais baixa, o que está de acordo com a falta de correlação entre pernas para a expressão gênica crônica e aguda, exceto para MyoD. Em conjunto, esses resultados sugerem uma desconexão entre a expressão da maioria dos genes investigados e a adaptação fenotípica induzida pelo TF. Buccitelli e Selbach (2020) sugeriram que embora a expressão gênica

forneça informações importantes sobre os sistemas biológicos, diversos fatores (e.g., tradução diferencial, degradação de proteínas, fatores de confusão contextuais e tamponamento generalizado ao nível de proteína) dificultam afirmar que proteínas estão de fato sendo sintetizadas ou que as mudanças fenotípicas estão respondendo proporcionalmente à expressão gênica. Nesse sentido, a expressão gênica não deve ser interpretada como a resposta final da adaptação fenotípica. Desse modo, a aquisição e integração de dados provenientes de tecnologias “multi-ômicas” fornecem um melhor entendimento do fluxo de informação partindo do nível genômico, passando pelo proteômico e por fim, chegando à adaptação fenotípica (BUCCITELLI; SELBACH, 2020; JOANISSE; LIM; MCKENDRY; MCLEOD *et al.*, 2020). Adicionalmente, é possível sugerir que o baixo alinhamento entre a hipertrofia das fibras musculares com a expressão gênica crônica e aguda ocorra pelo fato de os sujeitos apresentarem diferentes *time points* individuais para aumentar a expressão gênica. Nesse sentido, Nederveen et al. (2018) alocaram sujeitos em clusters de acordo com a densidade capilar (mecanismo que pode estar associado a resposta das CS e hipertrofia) e demonstraram que a expressão dos genes miogênicos aumentou significativamente em diferentes *time points* (i.e., 6h vs. 24h vs. 72h vs. 96h após uma sessão de TF) em cada cluster. Embora esse estudo tenha medido a expressão dos genes miogênicos em diversos momentos, os autores não investigaram as respostas desses genes a nível individual. Por outro lado, Mallinson et al. (2020) demonstraram diferentes níveis de expressão gênica a nível individual ao longo de um programa de TF (i.e., 24h após a 1ª sessão vs. 7 dias vs. 28 dias vs. 84 dias após um programa de TF) para 93 genes envolvidos na regulação do músculo esquelético. Portanto, é possível que alguns sujeitos caracterizados como baixo ou alto respondedores para a expressão gênica possam apresentar diferentes níveis de responsividade se analisados em outros momentos. Por fim, a falta de alinhamento pode estar relacionada a

variabilidade biológica aleatória. Islam et al. (2019) investigaram a repetibilidade do método de RT-PCR todo (desde a biópsia muscular até a amplificação do gene), submetendo o mesmo sujeito a duas sessões idênticas de exercícios. Apesar da expressão gênica similar a nível de grupo e uma repetibilidade variando entre boa a excelente em cada etapa da RT-PCR, houve uma falta de repetibilidade a nível individual tanto no estado basal quanto entre as sessões de exercícios. Esses resultados sugerem que embora inferências baseadas nas respostas transcricionais induzidas pelo exercício pareçam ser válidas a nível de grupo, elas podem não ser um biomarcador sensível para inferir sobre o potencial adaptativo e/ou um indicador de responsividade individual a um protocolo de exercício. Desse modo, nós sugerimos que futuros estudos devem incluir diferentes *time points*, usar técnicas que englobem processos biológicos além da expressão gênica (e.g., análises “multi-ômicas”) a nível individual, e tenham cautela ao atribuir apenas aos genes o papel de mecanismos envolvidos nas respostas fenotípicas, principalmente a nível individual.

Nosso estudo não está isento de limitações. Para minimizar o número de procedimentos invasivos, nós realizamos biópsias unilaterais no *baseline*. As biópsias do *baseline* coletadas em apenas uma perna pode ser uma limitação no nosso design visto que uma variabilidade entre pernas possa existir, embora não tenham sido demonstrado diferenças para a ASTf, conteúdo de mionúcleos e expressão gênica entre pernas num design intra-sujeitos (HORWATH; ENVALL; RÖJA; EMANUELSSON *et al.*, 2021; TARNOPOLSKY; PHILLIPS; PARISE; VARBANOV *et al.*, 2007).

Conclusão

Manipulações frequentes nas variáveis do treinamento de força promoveram respostas similares na hipertrofia das fibras musculares do tipo I e II, conteúdo de células

satélites e mionúcleos e expressão gênica, quando comparado a um programa de treinamento de força padrão em sujeitos treinados em força. Adicionalmente, ambos os protocolos produziram variabilidades intra-sujeitos e inter-sujeitos similares. Por fim, as análises individuais demonstraram que a hipertrofia das fibras musculares está alinhada com a resposta das células satélites e mionúcleos, mas não com a expressão gênica crônica e aguda, independentemente do programa de TF.

Perspectivas

O presente estudo trouxe novas informações a respeito dos efeitos da manipulação frequente das variáveis do TF nos aumentos da ASTf e fatores biológicos intrínsecos relacionados. Nosso estudo demonstrou que as respostas da ASTf, CS, mionúcleos e expressão gênica parecem não ser moduladas pela manipulação das variáveis do TF. Adicionalmente, a menor variabilidade intra-sujeitos comparada a inter-sujeitos sugere uma maior contribuição dos fatores biológicos intrínsecos nos aumentos da ASTf comparado a manipulação das variáveis do TF. Nosso trabalho sugere que embora a manipulação frequente das variáveis do TF possa ser realizada por praticantes que apreciam essa estratégia (e.g., para tornar o programa de TF menos monótono e/ou se sentirem mais motivados), aqueles que não toleram bem essas manipulações não terão prejuízos nas adaptações se optarem por realizar um programa de TF progressivo padrão. Futuros estudos devem investigar os efeitos de outras estratégias de TF (e.g., modelos de periodização e restrição do fluxo sanguíneo) e fatores biológicos intrínsecos (e.g., biogênese ribossomal, microRNAs, e densidade capilar) nas respostas intra e inter-sujeitos do tecido muscular.

4. AVANÇOS CIENTÍFICOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os avanços científicos alcançados graças a esse projeto permitiram que o Laboratório de Adaptações Neuromusculares ao Treinamento de Força – MUSCULAB pudesse avançar em técnicas de biologia molecular (e.g., qRT-PCR) e imunofluorescência antes não dominadas por nós. Além disso, pudemos aumentar nossa experiência em técnicas bastante robustas, como mensuração da taxa de síntese proteica miofibrilar por meio de espectrometria de massa antes dependentes de parcerias com colaboradores internacionais (DAMAS; PHILLIPS; LIBARDI; VECHIN *et al.*, 2016). Adicionalmente, os recursos provenientes do projeto regular FAPESP coordenado pelo Prof. Libardi, do qual essa tese faz parte, permitiram o custeio de todas as análises e aquisição de equipamentos como autoclave e agulhas para biópsias, e ainda avançar para a solicitação de outro auxílio regular envolvendo mecanismos moleculares (#2018/12150-0), o qual possibilitou a aquisição de um freezer -80 e um Criostato. Esses equipamentos foram fundamentais para o desenvolvimento do projeto e deram ao nosso grupo alguma autonomia nessa linha de pesquisa.

O sucesso que alcançamos nos projetos mencionados anteriormente permitiu ao nosso grupo atacar outros problemas da nossa área. Graças a qualidade das amostras de tecido muscular obtidas no procedimento de biópsia realizado no meu doutorado, foi possível conduzir todas as análises propostas inicialmente utilizando apenas uma porção do tecido coletado. Ainda durante as etapas finais da realização do meu projeto, entramos em contato com o Dr. Michael Roberts da Universidade de Auburn – USA, e mencionamos que ainda tínhamos algumas amostras estocadas a -80°C. A partir desse momento, meu orientador e o Dr. Roberts estabeleceram uma parceria a fim de investigar os efeitos dos nossos protocolos TF-VAR e TF-CON no conteúdo sarcoplasmático e miofibrilar visando a melhor compreensão da “hipertrofia sarcoplasmática”. A hipertrofia

sarcoplasmática é um grande paradigma da área e tem sido investigado durante anos tanto pelo grupo do Dr. Roberts quanto por outros grupos, mas ainda sem completa elucidação. Tem sido sugerido que protocolos realizados com elevado volume de TF e que geram estímulos não acostumados (novos estímulos a cada sessão) podem induzir uma grande expansão do sarcoplasma mesmo em sujeitos com anos de experiência em TF, de modo que essa expansão pode ser um pré-requisito para que esses sujeitos continuem a hipertrofiar com o TF. Contudo, ainda não existiam estudos que comparassem os efeitos de um protocolo realizado com alto volume e com variação de estímulos em cada sessão, com um protocolo de TF realizado de maneira constante e menor volume na hipertrofia sarcoplasmática. Nesse sentido, nosso design parece ser ideal para estudar esse paradigma e expandir os achados existentes, pois temos um protocolo realizado com alto volume e variação dos estímulos em cada sessão (TF-VAR) e outro protocolo realizado de maneira constante e com volume menor (TF-CON). Minha participação na preparação das lâminas (para coloração com Faloidina) e dos tecidos (para realização de Western-blot) enviados para Universidade de Auburn – USA foi fundamental para o enfrentamento desse novo desafio. Adicionalmente, colaborei na elaboração de uma nova proposta submetida à FAPESP e concedida em forma de uma Bolsa de Pesquisa do Exterior (BPE) com duração de 12 meses, que possibilitou ao Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi aprender e realizar essas análises na Universidade de Auburn – USA sob supervisão do Dr. Michael Roberts. Como fruto dessa parceria, recentemente publicamos o artigo “*Frequent Manipulation of Resistance Training Variables Promotes Myofibrillar Spacing Changes in Resistance-Trained Individuals*” do qual sou quarto autor, no periódico *Frontiers in Physiology* (ANEXO 3 - doi: 10.3389/fphys.2021.773995). Graças ao sucesso desse primeiro trabalho em colaboração, o Dr. Michael Roberts abriu a possibilidade para que meu orientador e eu participássemos de um novo estudo do laboratório envolvendo

análises do proteoma do sarcolema, visando compreender melhor a hipertrofia sarcoplasmática. Atualmente, as análises estão sendo realizadas e em breve teremos os resultados em mãos para iniciarmos a escrita de um novo artigo. Além desses frutos, essa parceria possibilitará que nosso grupo aprenda técnicas ainda não dominadas, nos dando ainda mais autonomia para a realização de projetos futuros.

5. OUTRAS PRODUÇÕES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO

Parte dos dados referentes a minha tese foram enviados ao Congresso Brasileiro de Metabolismo, Nutrição e Exercício – CONBRAMENE de 2021 no qual fomos selecionados para concorrer a um prêmio de destaque científico. Como resultado, o resumo apresentado por mim, o qual está relacionado ao artigo principal dessa tese foi contemplado com a **1ª Colocação do Prêmio de Destaque Científico Dr. Victor Keihan Rodrigues Matsudo** conferido pelo VIII CONBRAMENE (ANEXO 4).

Este projeto de doutorado gerou outros frutos além dos apresentados no principal artigo da tese. Um deles foi o convite para publicação de um artigo no periódico *Muscle*. Esse convite possibilitou a publicação do artigo ***“GPR56 Expression is Modulated by Acute and Chronic Training Variable Manipulations in Resistance-Trained Men”*** (ANEXO 5 - <https://doi.org/10.3390/muscles1010002>), do qual sou primeiro autor. Nesse artigo, analisamos os efeitos das manipulações das variáveis do TF na expressão aguda e crônica do gene GPR56. Esse gene tem sido apontado como um novo alvo molecular que pode estar relacionado com processo de mecanotransdução e hipertrofia muscular.

Durante o meu doutorado, também atuei em frentes não relacionadas a minha tese. Em uma delas, dei continuidade na linha de pesquisa iniciada no meu mestrado onde estudamos os efeitos dos sistemas avançados de TF em diferentes perspectivas. No doutorado, busquei expandir essa linha de pesquisa de diversas formas. Inicialmente, a

partir da análise dos artigos publicados sobre essa temática, notamos que devido a diversos aspectos metodológicos, as evidências existentes não permitiam determinar se os sistemas de TF poderiam otimizar/maximizar a hipertrofia muscular quando comparados ao TF tradicional. Essa análise dos estudos a respeito desse tema resultou na escrita e publicação da revisão crítica ***“Are resistance training systems necessary to avoid a stagnation and maximize the gains muscle strength and hypertrophy?”*** como primeiro autor no periódico *Science & Sports* (ANEXO 6 - doi:10.1016/j.scispo.2018.12.013). Também realizamos estudos com o objetivo de entender como os sistemas de TF afetam o estresse metabólico e o recrutamento de unidades motoras, mecanismos aos quais tem sido atribuído um papel fundamental na hipertrofia muscular. Nossos resultados demonstraram que embora o sistema *drop-set* tenha induzido a um maior nível de desoxigenação tecidual (indicador de estresse metabólico) os níveis de ativação muscular foram similares entre o *drop-set* e os protocolos piramidal crescente e tradicional. Esses achados resultaram na publicação do artigo ***“Effects of Drop-Set and Pyramidal Resistance Training Systems on Microvascular Oxygenation: A Near-Infrared Spectroscopy Approach.”*** como primeiro autor, no periódico *International Journal of Exercise Science* (ANEXO 7 - <https://digitalcommons.wku.edu/ijes/vol13/iss2/28>). Por fim, realizamos um estudo com o objetivo de analisar as respostas individuais de sujeitos submetidos ao TF tradicional e *drop-set*, ou TF tradicional e piramidal crescente nos ganhos de força e massa muscular. Observamos que embora os aumentos na força muscular sejam maiores para os protocolos realizados com maiores intensidades, a hipertrofia muscular a nível individual parece não ser afetada pela realização dos sistemas de TF. Esse estudo resultou na publicação do artigo ***“Individual Muscle Adaptations in different Resistance Training Systems in***

Well-Trained Men.” no periódico *International Journal of Sports Medicine* (ANEXO 8 - doi: 10.1055/a-1493-3121), também como primeiro autor.

Além dos trabalhos publicados referentes a linha de pesquisa iniciada no meu mestrado, também me engajei em outras linhas de pesquisa do nosso laboratório durante o meu doutorado. Uma dessas linhas investiga os efeitos do treinamento em diversos desfechos afetados pelo envelhecimento. Nessa linha de pesquisa, propus a utilização do treinamento suspenso como uma alternativa que seria capaz de aumentar os níveis de força, massa muscular e desempenho funcional de idosos. Um dos frutos dessa proposta, foi o artigo de opinião ***“Suspension Training: A New Approach to Improve Muscle Strength, Mass, and Functional Performances in Older Adults?”*** que publiquei como primeiro autor no periódico *Frontiers in Physiology* (ANEXO 9 - doi:10.3389/fphys.2019.01576). Nesse artigo, apresento a racional fisiológica e as recomendações para a prescrição do treinamento suspenso com objetivo de aumentar a força, massa muscular e desempenho funcional de idosos. Essa temática também foi tema da dissertação de mestrado do meu colega de laboratório Samuel Soligon, que posteriormente realizou um ensaio clínico controlado e randomizado para testar a proposta apresentada pelo meu artigo de opinião. Os resultados desse ensaio clínico demonstraram que o treinamento suspenso foi tão eficiente quanto o TF tradicional na melhora dos níveis de força, massa muscular e desempenho funcional. Pelo fato do treinamento suspenso poder ser realizado apenas com faixas de suspensão, esse método poder ser realizado não apenas em academias/centros de treinamento, mas também em clínicas, hospitais e até mesmo na residência dos idosos. Esse estudo originou a publicação do artigo ***“Suspension training vs. traditional resistance training: effects on muscle mass, strength and functional performance in older adults.”*** do qual sou quarto

autor e foi publicado no periódico *European Journal of Applied Physiology* (ANEXO 10 - doi: 10.1007/s00421-020-04446-x).

Outro fruto de parcerias feitas com colegas do próprio laboratório, foi a publicação do artigo ***“Lower occlusion pressure during resistance exercise with blood-flow restriction promotes lower pain and perception of exercise compared to higher occlusion pressure when the total training volume is equalized”*** como quarto autor, no periódico *Physiology International* (ANEXO 11 - doi: 10.1556/2060.105.2018.3.18). Esse trabalho foi fruto da iniciação científica também do Samuel Soligon. Nesse artigo, verificamos que percepção subjetiva de dor e esforço são afetadas por diferentes pressões de oclusão vascular.

Por fim, também participei na construção de uma ferramenta utilizada para automatizar um dos processos da análise da área de secção transversa do vasto lateral por meio de ultrassonografia. Nossa ferramenta é baseada em métodos de inteligência artificial, foi recentemente validada pelo nosso grupo e faz parte da dissertação de mestrado do meu colega Deivid Silva. O artigo referente a sua dissertação encontra-se em fase final de elaboração.

6. REFERENCIAS

ACSM. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, 41, n. 3, p. 687-708, Mar 2009.

ACSM. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc**, 43, n. 7, p. 1334-1359, Jul 2011.

AHTIAINEN, J. P.; WALKER, S.; PELTONEN, H.; HOLVIALA, J. *et al.* Heterogeneity in resistance training-induced muscle strength and mass responses in men and women of different ages. **Age (Dordr)**, 38, n. 1, p. 10, Feb 2016.

ANGLERI, V.; UGRINOWITSCH, C.; LIBARDI, C. A. Crescent pyramid and drop-set systems do not promote greater strength gains, muscle hypertrophy, and changes on muscle architecture compared with traditional resistance training in well-trained men. **Eur J Appl Physiol**, 117, n. 2, p. 359-369, Feb 2017.

ANGLERI, V.; UGRINOWITSCH, C.; LIBARDI, C. A. Individual Muscle Adaptations in different Resistance Training Systems in Well-Trained Men. **Int J Sports Med**, Jun 7 2021.

ASFOUR, H. A.; ALLOUH, M. Z.; SAID, R. S. Myogenic regulatory factors: The orchestrators of myogenesis after 30 years of discovery. **Exp Biol Med (Maywood)**, 243, n. 2, p. 118-128, Jan 2018.

BAMMAN, M. M.; PETRELLA, J. K.; KIM, J. S.; MAYHEW, D. L. *et al.* Cluster analysis tests the importance of myogenic gene expression during myofiber hypertrophy in humans. **J Appl Physiol (1985)**, 102, n. 6, p. 2232-2239, Jun 2007.

BAMMAN, M. M.; ROBERTS, B. M.; ADAMS, G. R. Molecular Regulation of Exercise-Induced Muscle Fiber Hypertrophy. **Cold Spring Harb Perspect Med**, 8, n. 6, p. a029751, Jun 1 2018.

BARCELOS, C.; DAMAS, F.; NOBREGA, S. R.; UGRINOWITSCH, C. *et al.* High-frequency resistance training does not promote greater muscular adaptations compared to low frequencies in young untrained men. **Eur J Sport Sci**, 18, n. 8, p. 1077-1082, Sep 2018.

BOTTARO, M.; VELOSO, J.; WAGNER, D.; GENTIL, P. Resistance training for strength and muscle thickness: Effect of number of sets and muscle group trained. **Science & Sports**, 26, n. 5, p. 259-264, 2011/11/01/ 2011.

BUCCITELLI, C.; SELBACH, M. mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control. **Nat Rev Genet**, 21, n. 10, p. 630-644, Oct 2020.

BURD, N. A.; HOLWERDA, A. M.; SELBY, K. C.; WEST, D. W. *et al.* Resistance exercise volume affects myofibrillar protein synthesis and anabolic signalling molecule phosphorylation in young men. **J Physiol**, 588, n. Pt 16, p. 3119-3130, Aug 15 2010.

BURD, N. A.; WEST, D. W.; STAPLES, A. W.; ATHERTON, P. J. *et al.* Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. **PLoS One**, 5, n. 8, p. e12033, Aug 9 2010.

CALDOW, M. K.; THOMAS, E. E.; DALE, M. J.; TOMKINSON, G. R. *et al.* Early myogenic responses to acute exercise before and after resistance training in young men. **Physiological reports**, 3, n. 9, p. e12511, 2015.

CHURCHWARD-VENNE, T. A.; TIELAND, M.; VERDIJK, L. B.; LEENDERS, M. *et al.* There Are No Nonresponders to Resistance-Type Exercise Training in Older Men and Women. **J Am Med Dir Assoc**, 16, n. 5, p. 400-411, May 1 2015.

CONCEIÇÃO, M. S.; VECHIN, F. C.; LIXANDRÃO, M.; DAMAS, F. *et al.* Muscle Fiber Hypertrophy and Myonuclei Addition: A Systematic Review and Meta-analysis. **Med Sci Sports Exerc**, 50, n. 7, p. 1385-1393, Jul 2018.

DAMAS, F.; ANGLERI, V.; PHILLIPS, S. M.; WITARD, O. C. *et al.* Myofibrillar protein synthesis and muscle hypertrophy individualised responses to systematically changing resistance training variables in trained young men. **J Appl Physiol (1985)**, 127, n. 3, p. 806-815, Jul 3 2019.

DAMAS, F.; LIBARDI, C. A.; UGRINOWITSCH, C.; VECHIN, F. C. *et al.* Early- and later-phases satellite cell responses and myonuclear content with resistance training in young men. **PLoS One**, 13, n. 1, p. e0191039, 2018.

DAMAS, F.; PHILLIPS, S. M.; LIBARDI, C. A.; VECHIN, F. C. *et al.* Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. **J Physiol**, 594, n. 18, p. 5209-5222, Sep 15 2016.

DAMAS, F.; UGRINOWITSCH, C.; LIBARDI, C. A.; JANNIG, P. R. *et al.* Resistance training in young men induces muscle transcriptome-wide changes associated with muscle structure and metabolism refining the response to exercise-induced stress. **Eur J Appl Physiol**, 118, n. 12, p. 2607-2616, Dec 2018.

DUMONT, N. A.; BENTZINGER, C. F.; SINCENNES, M. C.; RUDNICKI, M. A. Satellite Cells and Skeletal Muscle Regeneration. **Compr Physiol**, 5, n. 3, p. 1027-1059, Jul 1 2015.

FLECK; KRAEMER, W. **Designing Resistance Training Programs-4th Edition.** Human Kinetics, 2014. 9781450477604.

FRIEDMANN-BETTE, B.; BAUER, T.; KINSCHERF, R.; VORWALD, S. *et al.* Effects of strength training with eccentric overload on muscle adaptation in male athletes. **Eur J Appl Physiol**, 108, n. 4, p. 821-836, Mar 2010.

FRY, A. C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. **Sports Med**, 34, n. 10, p. 663-679, 2004.

HAUN, C. T.; VANN, C. G.; MOBLEY, C. B.; OSBURN, S. C. *et al.* Pre-training Skeletal Muscle Fiber Size and Predominant Fiber Type Best Predict Hypertrophic Responses to 6 Weeks of Resistance Training in Previously Trained Young Men. **Front Physiol**, 10, p. 297, 2019.

HAUN, C. T.; VANN, C. G.; OSBURN, S. C.; MUMFORD, P. W. *et al.* Muscle fiber hypertrophy in response to 6 weeks of high-volume resistance training in trained young men is largely attributed to sarcoplasmic hypertrophy. **PLoS One**, 14, n. 6, p. e0215267, 2019.

HEASELGRAVE, S. R.; BLACKER, J.; SMEUNINX, B.; MCKENDRY, J. *et al.* Dose-Response Relationship of Weekly Resistance-Training Volume and Frequency on Muscular Adaptations in Trained Men. **Int J Sports Physiol Perform**, 14, n. 3, p. 360-368, Mar 1 2019.

HORWATH, O.; ENVALL, H.; RÖJA, J.; EMANUELSSON, E. B. *et al.* Variability in vastus lateralis fiber type distribution, fiber size, and myonuclear content along and between the legs. 131, n. 1, p. 158-173, 2021.

ISLAM, H.; EDGETT, B. A.; BONAFIGLIA, J. T.; SHULMAN, T. *et al.* Repeatability of exercise-induced changes in mRNA expression and technical considerations for qPCR analysis in human skeletal muscle. **Exp Physiol**, 104, n. 3, p. 407-420, Mar 2019.

JOANISSE, S.; LIM, C.; MCKENDRY, J.; MCLEOD, J. C. *et al.* Recent advances in understanding resistance exercise training-induced skeletal muscle hypertrophy in humans. **F1000Res**, 9, p. 141, 2020.

KADI, F.; SCHJERLING, P.; ANDERSEN, L. L.; CHARIFI, N. *et al.* The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. **J Physiol**, 558, n. Pt 3, p. 1005-1012, Aug 01 2004.

KOSEK, D. J.; KIM, J. S.; PETRELLA, J. K.; CROSS, J. M. *et al.* Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. **J Appl Physiol (1985)**, 101, n. 2, p. 531-544, Aug 2006.

KRAEMER, W. J.; ADAMS, K.; CAFARELLI, E.; DUDLEY, G. A. *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, 34, n. 2, p. 364-380, Feb 2002.

KRAEMER, W. J.; DESCHENES, M. R.; FLECK, S. J. Physiological adaptations to resistance exercise. Implications for athletic conditioning. **Sports Med**, 6, n. 4, p. 246-256, Oct 1988.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. **Med Sci Sports Exerc**, 36, n. 4, p. 674-688, Apr 2004.

KUANG, S.; GILLESPIE, M. A.; RUDNICKI, M. A. Niche regulation of muscle satellite cell self-renewal and differentiation. **Cell Stem Cell**, 2, n. 1, p. 22-31, Jan 10 2008.

KUANG, S.; KURODA, K.; LE GRAND, F.; RUDNICKI, M. A. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. **Cell**, 129, n. 5, p. 999-1010, Jun 1 2007.

KUMAR, V.; ATHERTON, P. J.; SELBY, A.; RANKIN, D. *et al.* Muscle protein synthetic responses to exercise: effects of age, volume, and intensity. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 67, n. 11, p. 1170-1177, Nov 2012.

LIU, Y.; HEINICHEN, M.; WIRTH, K.; SCHMIDTBLEICHER, D. *et al.* Response of growth and myogenic factors in human skeletal muscle to strength training. **Br J Sports Med**, 42, n. 12, p. 989-993, Dec 2008.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, 25, n. 4, p. 402-408, Dec 2001.

MACINNIS, M. J.; MCGLORY, C.; GIBALA, M. J.; PHILLIPS, S. M. Investigating human skeletal muscle physiology with unilateral exercise models: when one limb is more powerful than two. **Appl Physiol Nutr Metab**, 42, n. 6, p. 563-570, Jun 2017.

MALLINSON, J. E.; TAYLOR, T.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; BILLETER-CLARK, R. *et al.* Longitudinal hypertrophic and transcriptional responses to high-load eccentric-concentric vs concentric training in males. **Scand J Med Sci Sports**, 30, n. 11, p. 2101-2115, Nov 2020.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **J Biophys Biochem Cytol**, 9, n. 2, p. 493-495, Feb 1961.

MITCHELL, C. J.; CHURCHWARD-VENNE, T. A.; WEST, D. W.; BURD, N. A. *et al.* Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men. **J Appl Physiol** (1985), 113, n. 1, p. 71-77, Jul 2012.

MOBLEY, C. B.; HAUN, C. T.; ROBERSON, P. A.; MUMFORD, P. W. *et al.* Biomarkers associated with low, moderate, and high vastus lateralis muscle hypertrophy following 12 weeks of resistance training. **PLoS One**, 13, n. 4, p. e0195203, 2018.

MOORE, D. R.; PHILLIPS, S. M.; BABRAJ, J. A.; SMITH, K. *et al.* Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 288, n. 6, p. E1153-1159, Jun 2005.

MOORE, D. R.; YOUNG, M.; PHILLIPS, S. M. Similar increases in muscle size and strength in young men after training with maximal shortening or lengthening contractions when matched for total work. **Eur J Appl Physiol**, 112, n. 4, p. 1587-1592, Apr 2012.

MORTON, R. W.; OIKAWA, S. Y.; WAVELL, C. G.; MAZARA, N. *et al.* Neither load nor systemic hormones determine resistance training-mediated hypertrophy or strength

gains in resistance-trained young men. **Journal of Applied Physiology**, 121, n. 1, p. 129-138, 2016-05-12 10:40:19 2016.

NEDERVEEN, J. P.; JOANISSE, S.; SNIJDERS, T.; THOMAS, A. C. Q. *et al.* The influence of capillarization on satellite cell pool expansion and activation following exercise-induced muscle damage in healthy young men. **J Physiol**, 596, n. 6, p. 1063-1078, Mar 15 2018.

NOBREGA, S. R.; UGRINOWITSCH, C.; PINTANEL, L.; BARCELOS, C. *et al.* Effect of Resistance Training to Muscle Failure vs. Volitional Interruption at High- and Low-Intensities on Muscle Mass and Strength. **J Strength Cond Res**, 32, n. 1, p. 162-169, Jan 2018.

OGBORN, D.; SCHOENFELD, B. J. The Role of Fiber Types in Muscle Hypertrophy: Implications for Loading Strategies. **Strength & Conditioning Journal**, 36, n. 2, p. 20-25, 2014.

OSTROWSKI, K. J.; WILSON, G. J.; WEATHERBY, R.; MURPHY, P. W. *et al.* The Effect of Weight Training Volume on Hormonal Output and Muscular Size and Function. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 11, n. 3, 1997.

PETRELLA, J. K.; KIM, J. S.; CROSS, J. M.; KOSEK, D. J. *et al.* Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 291, n. 5, p. 937-946, Nov 2006.

PETRELLA, J. K.; KIM, J. S.; MAYHEW, D. L.; CROSS, J. M. *et al.* Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **J Appl Physiol (1985)**, 104, n. 6, p. 1736-1742, Jun 2008.

PHILLIPS, S. M.; TIPTON, K. D.; AARSLAND, A.; WOLF, S. E. *et al.* Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. **Am J Physiol**, 273, n. 1 Pt 1, p. E99-107, Jul 1997.

RADAELLI, R.; FLECK, S. J.; LEITE, T.; LEITE, R. D. *et al.* Dose-response of 1, 3, and 5 sets of resistance exercise on strength, local muscular endurance, and hypertrophy. **J Strength Cond Res**, 29, n. 5, p. 1349-1358, May 2015.

RAYAGIRI, S. S.; RANALDI, D.; RAVEN, A.; MOHAMAD AZHAR, N. I. F. *et al.* Basal lamina remodeling at the skeletal muscle stem cell niche mediates stem cell self-renewal. **Nat Commun**, 9, n. 1, p. 1075, Mar 14 2018.

ROBERTS, M. D.; HAUN, C. T.; MOBLEY, C. B.; MUMFORD, P. W. *et al.* Physiological Differences Between Low Versus High Skeletal Muscle Hypertrophic Responders to Resistance Exercise Training: Current Perspectives and Future Research Directions. **Front Physiol**, 9:, p. 834, 2018.

SANTANIELO, N.; NÓBREGA, S. R.; SCARPELLI, M. C.; ALVAREZ, I. F. *et al.* Effect of resistance training to muscle failure vs non-failure on strength, hypertrophy and muscle architecture in trained individuals. **Biology of sport**, 37, n. 4, p. 333-341, 2020.

SCHOENFELD, B. J. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. **J Strength Cond Res**, 24, n. 10, p. 2857-2872, Oct 2010.

SCHOENFELD, B. J.; OGBORN, D.; KRIEGER, J. W. Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. **J Sports Sci**, p. 1-10, Jul 19 2016.

SCHOENFELD, B. J.; OGBORN, D. I.; KRIEGER, J. W. Effect of repetition duration during resistance training on muscle hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. **Sports Med**, 45, n. 4, p. 577-585, Apr 2015.

SCHOENFELD, B. J.; POPE, Z. K.; BENIK, F. M.; HESTER, G. M. *et al.* Longer Interset Rest Periods Enhance Muscle Strength and Hypertrophy in Resistance-Trained Men. **J Strength Cond Res**, 30, n. 7, p. 1805-1812, Jul 2016.

SNIJDERS, T.; SMEETS, J. S.; VAN KRANENBURG, J.; KIES, A. K. *et al.* Changes in myonuclear domain size do not precede muscle hypertrophy during prolonged resistance-type exercise training. **Acta Physiol (Oxf)**, 216, n. 2, p. 231-239, Feb 2016.

SOONESTE, H.; TANIMOTO, M.; KAKIGI, R.; SAGA, N. *et al.* Effects of training volume on strength and hypertrophy in young men. **J Strength Cond Res**, 27, n. 1, p. 8-13, Jan 2013.

TAN, B. Manipulating Resistance Training Program Variables to Optimize Maximum Strength in Men: A Review. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 13, n. 3, 1999.

TARNOPOLSKY, M.; PHILLIPS, S.; PARISE, G.; VARBANOV, A. *et al.* Gene expression, fiber type, and strength are similar between left and right legs in older adults. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 62, n. 10, p. 1088-1095, Oct 2007.

URSO, M. L.; PIERCE, J. R.; ALEMANY, J. A.; HARMAN, E. A. *et al.* Effects of exercise training on the matrix metalloprotease response to acute exercise. **Eur J Appl Physiol**, 106, n. 5, p. 655-663, Jul 2009.

VERDIJK, L. B.; GLEESON, B. G.; JONKERS, R. A.; MEIJER, K. *et al.* Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 64, n. 3, p. 332-339, Mar 2009.

VIKNE, H.; REFSNES, P. E.; EKMARK, M.; MEDBO, J. I. *et al.* Muscular performance after concentric and eccentric exercise in trained men. **Med Sci Sports Exerc**, 38, n. 10, p. 1770-1781, Oct 2006.

VILLANUEVA, M. G.; LANE, C. J.; SCHROEDER, E. T. Short rest interval lengths between sets optimally enhance body composition and performance with 8 weeks of

strength resistance training in older men. **Eur J Appl Physiol**, 115, n. 2, p. 295-308, Feb 2015.

WANG, Y. X.; RUDNICKI, M. A. Satellite cells, the engines of muscle repair. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 13, n. 2, p. 127-133, 2012/02/01 2012.

WOLFE, R. R. The underappreciated role of muscle in health and disease. **Am J Clin Nutr**, 84, n. 3, p. 475-482, Sep 2006.

ZAMMIT, P. S.; GOLDING, J. P.; NAGATA, Y.; HUDON, V. *et al.* Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? **J Cell Biol**, 166, n. 3, p. 347-357, Aug 2 2004.

ANEXO 1. Artigo publicado no periódico *Journal of Applied Physiology*

J Appl Physiol 127: 806–815, 2019.
First published July 3, 2019; doi:10.1152/jappphysiol.00350.2019.

RESEARCH ARTICLE | *Translational Control of Muscle Mass*

Myofibrillar protein synthesis and muscle hypertrophy individualized responses to systematically changing resistance training variables in trained young men

Felipe Damas,¹ Vitor Angleri,¹ Stuart M. Phillips,² Oliver C. Witard,³ Carlos Ugrinowitsch,⁴ Natalia Santanielo,¹ Samuel D. Soligon,¹ Luiz A. R. Costa,⁴ Manoel E. Lixandrão,⁴ Miguel S. Conceição,⁴ and Cleiton A. Libardi¹

¹MUSCULAB—Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil; ²Department of Kinesiology, McMaster University, Hamilton, ON, Canada; ³Centre for Human and Applied Physiological Sciences, School of Basic and Medical Biosciences, Faculty of Life Sciences and Medicine, King's College London, London, United Kingdom; and ⁴School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Submitted 22 May 2019; accepted in final form 28 June 2019

Damas F, Angleri V, Phillips SM, Witard OC, Ugrinowitsch C, Santanielo N, Soligon SD, Costa LA, Lixandrão ME, Conceição MS, Libardi CA. Myofibrillar protein synthesis and muscle hypertrophy individualized responses to systematically changing resistance training variables in trained young men. *J Appl Physiol* 127: 806–815, 2019. First published July 3, 2019; doi:10.1152/jappphysiol.00350.2019.—The manipulation of resistance training (RT) variables is used among athletes, recreational exercisers, and compromised populations (e.g., elderly) attempting to potentiate muscle hypertrophy. However, it is unknown whether an individual's inherent predisposition dictates the RT-induced muscle hypertrophic response. Resistance-trained young [26 (3) y] men ($n = 20$) performed 8 wk unilateral RT (2 times/wk), with 1 leg randomly assigned to a standard progressive RT [control (CON)] and the contralateral leg to a variable RT (VAR; modulating exercise load, volume, contraction type, and intersit rest interval). The VAR leg completed all 4 RT variations every 2 wk. Bilateral vastus lateralis cross-sectional area (CSA) was measured, pre- and post-RT and acute integrated myofibrillar protein synthesis (MyoPS) rates were assessed at rest and over 48 h following the final RT session. Muscle CSA increase was similar between CON and VAR ($P > 0.05$), despite higher total training volume (TTV) in VAR ($P < 0.05$). The 0–48-h integrated MyoPS increase postexercise was slightly greater for VAR than CON ($P < 0.05$). All participants were considered “responders” to RT, although none benefited to a greater extent from a specific protocol. Between-subjects variability (MyoPS, 3.30%; CSA, 37.8%) was 40-fold greater than the intrasubject (between legs) variability (MyoPS, 0.08%; CSA, 0.9%). The higher TTV and greater MyoPS response in VAR did not translate to a greater muscle hypertrophic response. Manipulating common RT variables elicited similar muscle hypertrophy than a standard progressive RT program in trained young men. Intrinsic individual factors are key determinants of the MyoPS and change in muscle CSA compared with extrinsic manipulation of common RT variables.

NEW & NOTEWORTHY Systematically manipulating resistance training (RT) variables during RT augments the stimulation of myo-

fibrillar protein synthesis (MyoPS) and training volume but fails to potentiate muscle hypertrophy compared with a standard progressive RT. Any modest further MyoPS increase and higher training volumes do not reflect in a greater hypertrophic response. Between-subject variability was 40-fold greater than the variability promoted by extrinsic manipulation of RT variables, indicating that individual intrinsic factors are stronger determinants of the hypertrophic response.

biological predisposition; individual responses; muscle protein synthesis; resistance exercise; training protocol

INTRODUCTION

Skeletal muscle tissue plays an important role in maintaining metabolic health, reducing disease risk, and improving athletic performance (7, 44). A crucial nonpharmacological stimulus for maintaining or increasing muscle mass is the practice of resistance training (RT). In this regard, an acute bout of resistance exercise is well established to promote the stimulation of myofibrillar protein synthesis (MyoPS), which if practiced over time, results in the accretion of muscle protein and increase in muscle cross-sectional area (CSA) (18). To potentiate the muscle hypertrophic response, reputable strength and conditioning guidelines advise periodic changes in RT composition to avoid a plateau in skeletal muscle adaptations, especially in a more trained state (1, 21). These changes involve the manipulation of common RT variables such as exercise load, training volume, muscle contraction type (e.g., isolated eccentric or concentric contractions), intersit rest interval, etc. However, it is unknown whether such training-specific manipulations are effective in potentiating MyoPS and muscle hypertrophy in resistance-trained men.

A large body of literature demonstrates that manipulating one single RT variable at a time results in a similar acute postexercise stimulation of MyoPS and muscle hypertrophic response to RT when each exercise set is performed until, or close to, concentric failure (3, 8, 30–33, 36, 38, 40). Exercising up to, or close to, concentric failure seems to promote a substantial increase in MyoPS and muscle hypertrophy (11, 12,

Address for reprint requests and other correspondence: C. A. Libardi, MUSCULAB—Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Dept. of Physical Education, Federal Univ. of São Carlos, UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235 – SP 310, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brazil (e-mail: c.libardi@ufscar.br).

ANEXO 2. Artigo publicado no periódico *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*



Received: 13 August 2021 | Revised: 21 December 2021 | Accepted: 22 January 2022

DOI: 10.1111/sms.14134

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

Resistance training variable manipulations are less relevant than intrinsic biology in affecting muscle fiber hypertrophy

Vitor Angleri¹ | Felipe Damas¹ | Stuart M. Phillips² |
 Heloisa Sobreiro Selistre-de-Araujo³ | Anabelle Silva Cornachione⁴ |
 Uliana Sbeguen Stotzer³ | Natalia Santanielo¹ | Samuel Domingos Soligon¹ |
 Luiz Augusto Riani Costa⁵ | Manoel Emílio Lixandrão⁵ | Miguel Soares Conceição⁵  |
 Felipe Cassaro Vechin⁵ | Carlos Ugrinowitsch⁵ | Cleiton Augusto Libardi¹ 

¹MUSCULAB – Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil

²Department of Kinesiology, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada

³LBBM – Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil

⁴Muscle Physiology and Biophysics Laboratory, Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil

⁵School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Correspondence

Cleiton Augusto Libardi,
 MUSCULAB - Laboratory of
 Neuromuscular Adaptations to
 Resistance Training / Department
 of Physical Education / Federal
 University of São Carlos - UFSCar Rod.
 Washington Luiz, km 235 – SP 310,
 CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.
 Email: c.libardi@ufscar.br

Funding information

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); The São Paulo Research Foundation (FAPESP), Grant/Award Number: 2017/05331-6, 2016/24259-1, 2018/13064-0, 2013/00789-2, 2013/07104-6, 2016/22635-6 and 2017/04299-1

We aimed to investigate whether muscle fiber cross-sectional area (fCSA) and associated molecular processes could be differently affected at the group and individual level by manipulating resistance training (RT) variables. Twenty resistance-trained subjects had each leg randomly allocated to either a standard RT (RT-CON: without specific variables manipulations) or a variable RT (RT-VAR: manipulation of load, volume, muscle action, and rest interval at each RT session). Muscle fCSA, satellite cell (SC) pool, myonuclei content, and gene expression were assessed before and after training (chronic effect). Gene expression was assessed 24 h after the last training session (acute effect). RT-CON and RT-VAR increased fCSA and myonuclei domain in type I and II fibers after training ($p < 0.05$). SC and myonuclei content did not change for both conditions ($p > 0.05$). Pax-7, MyoD, MMP-2 and COL3A1 (chronic) and MGF, Pax-7, and MMP-9 (acute) increased similar for RT-CON and RT-VAR ($p < 0.05$). The increase in acute MyoG expression was significantly higher for the RT-VAR than RT-CON ($p < 0.05$). We found significant correlation between RT-CON and RT-VAR for the fCSA changes ($r = 0.89$). fCSA changes were also correlated to satellite cells ($r = 0.42$) and myonuclei ($r = 0.50$) changes. Heatmap analyses showed coupled changes in fCSA, SC, and myonuclei responses at the individual level, regardless of the RT protocol. The high between and low within-subject variability regardless of RT protocol suggests that the intrinsic biological factors seem to be more important to explain the magnitude of fCSA gains in resistance-trained subjects.

KEYWORDS

biological predisposition, individual responses, resistance exercise, responsiveness, satellite cells, training variables

© 2022 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Scand J Med Sci Sports. 2022;00:1–12.

wileyonlinelibrary.com/journal/sms | 1

ANEXO 3. Artigo publicado no periódico *Frontiers in Physiology*

Frequent Manipulation of Resistance Training Variables Promotes Myofibrillar Spacing Changes in Resistance-Trained Individuals

Carlton D. Fox¹, Paulo H. C. Mesquita¹, Joshua S. Godwin¹, Vitor Angleri², Felipe Damas², Bradley A. Ruple¹, Casey L. Sexton¹, Michael D. Brown¹, Andreas N. Kavazis¹, Kaelin C. Young^{1,3}, Carlos Ugrinowitsch⁴, Cleiton A. Libardi^{2*} and Michael D. Roberts^{1,3*}

¹School of Kinesiology, Auburn University, Auburn, AL, United States, ²MUSCULAB, Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil, ³Department of Cell Biology and Physiology, Edward Via College of Osteopathic Medicine – Auburn Campus, Auburn, AL, United States, ⁴School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Vandre Casagrande Figueiredo,
University of Kentucky, United States

Reviewed by:

Tommy R. Lundberg,
Karolinska Institutet (KJ), Sweden
Martino V. Franchi,
University of Padua, Italy

*Correspondence:

Cleiton A. Libardi
c.libardi@ufscar.br
Michael D. Roberts
mdr0024@auburn.edu

Specialty section:

This article was submitted to
Exercise Physiology,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 10 September 2021

Accepted: 17 November 2021

Published: 15 December 2021

Citation:

Fox CD, Mesquita PHC, Godwin JS, Angleri V, Damas F, Ruple BA, Sexton CL, Brown MD, Kavazis AN, Young KC, Ugrinowitsch C, Libardi CA and Roberts MD (2021) Frequent Manipulation of Resistance Training Variables Promotes Myofibrillar Spacing Changes in Resistance-Trained Individuals. *Front. Physiol.* 12:773995. doi: 10.3389/fphys.2021.773995

We sought to determine if manipulating resistance training (RT) variables differentially altered the expression of select sarcoplasmic and myofibril proteins as well as myofibrillar spacing in myofibers. Resistance-trained men ($n=20$; 26 ± 3 years old) trained for 8 weeks where a randomized leg performed either a standard (CON) or variable RT protocol (VAR: manipulation of load, volume, muscle action, and rest intervals at each RT session). A pre-training (PRE) vastus lateralis biopsy was obtained from a randomized single leg, and biopsies were obtained from both legs 96h following the last training bout. The sarcoplasmic protein pool was assayed for proteins involved in energy metabolism, and the myofibril protein pool was assayed for relative myosin heavy chain (MHC) and actin protein abundances. Sections were also histologically analyzed to obtain myofibril spacing characteristics. VAR resulted in $\sim 12\%$ greater volume load (VL) compared to CON ($p<0.001$). The mean fiber cross-sectional area increased following both RT protocols [CON: 14.6% ($775.5\mu\text{m}^2$), $p=0.006$; VAR: 13.9% ($743.2\mu\text{m}^2$), $p=0.01$ vs. PRE for both], but without significant differences between protocols ($p=0.79$). Neither RT protocol affected a majority of assayed proteins related to energy metabolism, but both training protocols increased hexokinase 2 protein levels and decreased a mitochondrial beta-oxidation marker (VLCAD protein; $p<0.05$). Citrate synthase activity levels increased with CON RT ($p<0.05$), but not VAR RT. The relative abundance of MHC (summed isoforms) decreased with both training protocols ($p<0.05$). However, the relative abundance of actin protein (summed isoforms) decreased with VAR only (13.5 and 9.0% , respectively; $p<0.05$). A decrease in percent area occupied by myofibrils was observed from PRE to VAR (-4.87% ; $p=0.048$), but not for the CON (4.53% ; $p=0.979$). In contrast, there was an increase in percent area occupied by non-contractile space from PRE to VAR (10.14% ; $p=0.048$), but not PRE to CON (0.72% ; $p=0.979$). In conclusion, while both RT protocols increased muscle fiber hypertrophy, a higher volume-load where RT variables were frequently manipulated increased non-contractile spacing in resistance-trained individuals.

Keywords: myofibrils, myosin, actin, sarcoplasm, muscle fiber

ANEXO 4. Trabalho premiado com o 1º lugar no VII CONBRAMENE

VIII CONBRAMENE
24 a 27 de NOVEMBRO de 2021

VIII Congresso Brasileiro de Metabolismo, Nutrição e Exercício

1º LUGAR | R\$ 5.000,00

PRÊMIO

PROF. DR. VICTOR KEIHAN RODRIGUES MATSUDO

DESTAQUE CIENTÍFICO

PRÊMIO NA QUANTIA DE: *cinco mil reais*

GPEMENE

RESISTANCE TRAINING VARIABLES MANIPULATIONS OR INTRINSIC BIOLOGICAL FACTORS: WHAT DETERMINES THE MUSCLE HYPERTROPHY MAGNITUDE?

Autores: Vitor Angleri 1; Felipe Damas 1; Stuart Phillips 2; Heloisa Selistre-de-Araujo 1; Carlos Ugrinowitsch 3; Luiz Riani 3; Anabelle Cornachione 1; Cleiton Augusto Libardi 1



Article

GPR56 mRNA Expression Is Modulated by Acute and Chronic Training Variable Manipulations in Resistance-Trained Men

Vitor Angleri ¹, Felipe Damas ¹, Uliana Sbeguen Stotzer ², Heloisa Sobreiro Selistre-de-Araujo ², Natalia Santanielo ¹, Samuel Domingos Soligon ¹, Luiz Augusto Riani Costa ³, Manoel Emílio Lixandrão ³, Miguel Soares Conceição ³, Felipe Cassaro Vechin ³, Michael D. Roberts ⁴, Carlos Ugrinowitsch ³ and Cleiton Augusto Libardi ^{1,*}

- ¹ MUSCULAB—Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, São Carlos 13565-905, Brazil; vitorangleri@yahoo.com.br (V.A.); felipedamasfl@gmail.com (F.D.); nataliasantanielo@gmail.com (N.S.); samuelsoligon@gmail.com (S.D.S.)
² LBBM—Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos 13565-905, Brazil; ulianass@hotmail.com (U.S.S.); hsaraujo@ufscar.br (H.S.S.-d.-A.)
³ School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, São Paulo 05508-030, Brazil; luga.riani@gmail.com (L.A.R.C.); manoel.lixandao@gmail.com (M.E.L.); conceicao.miguel0106@gmail.com (M.S.C.); felipe.cassaro@yahoo.com.br (F.C.V.); ugrinowi@usp.br (C.U.)
⁴ School of Kinesiology, Auburn University, Auburn, AL 36849, USA; mdr0024@auburn.edu
 * Correspondence: c.libardi@ufscar.br; Tel.: +55-16-3351-8767



Citation: Angleri, V.; Damas, F.; Stotzer, U.S.; Selistre-de-Araujo, H.S.; Santanielo, N.; Soligon, S.D.; Riani Costa, L.A.; Lixandrão, M.E.; Conceição, M.S.; Vechin, F.C.; et al. GPR56 mRNA Expression Is Modulated by Acute and Chronic Training Variable Manipulations in Resistance-Trained Men. *Muscles* **2022**, *1*, 16–25. <https://doi.org/10.3390/muscles1010002>

Academic Editor: Gerasimos Terzis

Received: 21 December 2021

Accepted: 27 January 2022

Published: 30 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Skeletal muscle adaptations are affected by resistance training (RT)-induced acute and chronic transcriptional responses. An under-explored gene target involved in mechanotransduction is the expression of the G protein-coupled receptor 56 (GPR56). However, studies investigating the acute and chronic effects of RT manipulations on GPR56 mRNA are scarce. Methods: Twenty subjects had each leg randomly assigned to a standard ((CON) no specific manipulation) or a variable RT (manipulations in load, volume, muscle action, and pause in a session-by-session fashion (VAR)). GPR56 mRNA expression was assessed before and after 16 training sessions (chronic effect) and 24 h after a 17th session (acute effect). Results: Acute GPR56 mRNA expression increased at 24 h ($p < 0.01$) without differences between CON and VAR ($p > 0.05$). No differences were found in GPR56 mRNA expression when comparing each VAR condition (load vs. sets vs. eccentric actions vs. pause) nor with CON at 24 h ($p > 0.05$). Chronic GPR56 mRNA expression increased at Post compared with Pre ($p < 0.02$) for VAR only, with a tendency ($p = 0.058$) toward higher expression for VAR as compared with CON. Conclusion: GPR56 mRNA expression is acutely and chronically modulated by RT. Additionally, chronic GPR56 mRNA expression is modulated by RT variable manipulations.

Keywords: mechanotransduction; training variables; molecular mechanisms; skeletal muscle responses; transcriptional responses

1. Introduction

Resistance training (RT) induces acute (after a single bout) and chronic (after several bouts) transcriptional changes, which are suggested to affect skeletal muscle adaptations [1–4]. In recent years, several studies have explored novel transcriptional targets that could be modulated by RT [5–8]. More recently, the mechanisms involved in mechanotransduction have garnered interest in the field. In the mechanotransduction process, membrane proteins translate RT-induced mechanical tension in the cell membrane into chemical signaling, activating protein synthesis pathways [9,10]. Although the upstream regulators of mechanotransduction are currently unclear, the adhesion G protein-coupled receptor family (GPCR) may be a candidate activator of anabolic signaling pathways [11,12]. The expression of the G protein-coupled receptor 56 ((GPR56) a family member of the GPCR, characterized by a

ANEXO 6. Artigo publicado no periódico *Science & Sports*

+Model
SCISPO 3344 1–16

ARTICLE IN PRESS

Science & Sports (2019) xxx, xxx.e1–xxx.e16



Disponível em linha sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



BASIC STUDY

Are resistance training systems necessary to avoid a stagnation and maximize the gains muscle strength and hypertrophy?

Les dispositifs d'entraînement en résistance sont-ils nécessaires pour éviter une stagnation et maximiser la force et l'hypertrophie musculaire?

V. Angleri^a, C. Ugrinowitsch^b, C.A. Libardi^{a,*}

^a MUSCULAB, Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos (UFSCar), Rod, Washington Luiz, km 235 SP 310, 13565-905 São Carlos, SP, Brazil

^b School of Physical Education and Sport, University of São Paulo, USP, 65, Av. Prof. Mello de Moraes, 05508-03 São Paulo, SP, Brazil

Received 9 April 2018; accepted 13 December 2018

KEYWORDS

Strength training;
Specialized training techniques;
Well-trained;
Muscle mass;
Muscle cross-sectional area

Summary To optimize/maximize increases on muscle strength and mass in well resistance-trained individuals, the use of resistance training (RT) systems have been widely recommended by powerlifters, bodybuilders and coaches. These systems may be characterized as advanced techniques that manipulate specific RT variables emphasizing physiologic mechanisms. However, there is a lack of evidence on literature supporting the advantages of RT systems on muscle strength and mass increases compared with traditional RT performed with constant sets, repetitions and load. It is possible that these equivocal findings are associated with methodological limitations that preclude the correct interpretation of the results. Therefore, the purpose of the present review article was to critically analyze studies and draw conclusions on the effects of RT systems on muscle strength and mass enhancements. The evidence available so far does not allow the determination of whether RT systems can optimize/maximize increases in muscle strength and mass when compared to traditional RT.

© 2019 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: c.libardi@ufscar.br (C.A. Libardi).

<https://doi.org/10.1016/j.scispo.2018.12.013>

0765-1597/© 2019 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Angleri V, et al. Are resistance training systems necessary to avoid a stagnation and maximize the gains muscle strength and hypertrophy? *Sci sports* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2018.12.013>

ANEXO 7. Artigo publicado no periódico *International Journal of Exercise Science*

Original Research

Effects of Drop-Set and Pyramidal Resistance Training Systems on Microvascular Oxygenation: A Near-Infrared Spectroscopy Approach

VITOR ANGLERI*¹, RAMON DE OLIVEIRA#¹, THAIS M. P. C. BIAZON*¹, FELIPE DAMAS¹, AUDREY BORGHI-SILVA², RENATO BARROSO³, CLEITON A. LIBARDI¹.

¹MUSCULAB - Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brazil; ²Cardiopulmonary Physiotherapy Laboratory, Physical Therapy Department, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brazil; ³School of Physical Education, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil.

*Denotes undergraduate student author, #Denotes professional author

ABSTRACT

International Journal of Exercise Science 13(2): 1549-1562, 2020. Metabolic stress is a primary mechanism of muscle hypertrophy and is associated with microvascular oxygenation and muscle activation. Considering that drop-set (DS) and crescent pyramid (CP) resistance training systems are recommended to modulate these mechanisms related to muscle hypertrophy, we aimed to investigate if these resistance training systems produce a different microvascular oxygenation status and muscle activation from those observed in traditional resistance training (TRAD). Twelve volunteers had their legs randomized in an intra-subject cross-over design in TRAD (3 sets of 10 repetitions at 75% 1-RM), DS (3 sets of ~50-75% 1-RM) and CP (3 sets of 6-10 repetitions at 75-85% 1-RM). Vastus medialis microvascular oxygenation and muscle activation were respectively assessed by non-invasive near-infrared spectroscopy and surface electromyography techniques during the resistance training sessions in the leg-extension exercise. Total hemoglobin area under the curve (AUC) (TRAD: -1653.5 ± 2866.5 ; DS: -3069.2 ± 3429.4 ; CP: -1196.6 ± 2675.3) and tissue oxygen saturation (TRAD: 19283.1 ± 6698.0 ; DS: 23995.5 ± 15604.9 ; CP: 16109.1 ± 8553.1) increased without differences between protocols ($p > 0.05$). Greater decreases in oxygenated hemoglobin AUC and hemoglobin differentiated AUC were respectively found for DS (-4036.8 ± 2698.1 ; -5004.4 ± 2722.9) compared with TRAD (-1951.8 ± 1720.0 ; -2250.3 ± 1305.7) and CP (-1814.4 ± 2634.3 ; 2432.2 ± 2891.4) ($p < 0.03$). Higher increases of hemoglobin deoxygenated AUC were found for DS (1426.7 ± 1320.7) compared with TRAD (316.0 ± 1164.9) only ($p = 0.04$). No differences were demonstrated in electromyographic amplitudes between TRAD (69.0 ± 34.4), DS (61.3 ± 26.7) and CP (60.9 ± 38.8) ($p > 0.05$). Despite DS produced lower microvascular oxygenation levels compared with TRAD and CP, all protocols produced similar muscle activation levels.

KEY WORDS: Drop-set, crescent pyramid, muscle activation, near-infrared spectroscopy, muscle fatigue

INTRODUCTION

Metabolic stress (i.e., accumulation of metabolites, particularly lactate, inorganic phosphate and H⁺) is a physiological response associated to the exercise-induced changes in oxygenation,

Published online: 2021-06-07

Training & Testing

Thieme

Individual Muscle Adaptations in Different Resistance Training Systems in Well-trained Men

Authors

Vitor Angleri¹, Carlos Ugrinowitsch² , Cleiton Augusto Libardi¹ 

Affiliations

- MUSCULAB - Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brazil
- Department of Sport, University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

Key words

drop-set, crescent pyramid, volume load, one-repetition maximum, muscle cross-sectional area

accepted 31.08.2020

published online 2021

Bibliography

Int J Sports Med

DOI 10.1055/a-1493-3121

ISSN 0172-4622

© 2021. Thieme. All rights reserved.

George Thieme Verlag, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, German

Correspondence

Cleiton Augusto Libardi
Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, UFSCar,
Rod. Washington Luiz, km 235 – SP 310
13565-905 São Carlos
Brazil
Tel.: +55 16 3351-8767, Fax : +55 16 3351-8767
c.libardi@ufscar.br

ABSTRACT

Using a within-subject design we compared the individual responses between drop-set (DS) vs. traditional resistance training (TRAD) (n = 16) and crescent pyramid (CP) vs. TRAD (n = 15). Muscle cross-sectional area (CSA), leg press and leg extension 1 repetition maximum (1-RM) were assessed pre and post training. At group level, CSA increased from pre to post (DS: 7.8% vs. TRAD: 7.5%, $P=0.02$; CP: 7.5% vs. TRAD: 7.8%, $P=0.02$). All protocols increased the 1-RM from pre to post for leg press (DS: 24.9% vs. TRAD: 26.8%, $P < 0.0001$; CP: 27.3% vs. TRAD: 26.3%, $P < 0.0001$) and leg extension (DS: 17.1% vs. TRAD: 17.3%, $P < 0.0001$; CP: 17.0% vs. TRAD: 16.6%, $P < 0.0001$). Individual analysis for CSA demonstrated no differences between protocols in 15 subjects. For leg press 1-RM, 5 subjects responded more to TRAD, 2 to DS and 9 similarly between protocols. In TRAD vs. CP, 4 subjects responded more to CP, 1 to TRAD and 10 similarly between protocols. For leg extension 1-RM 2 subjects responded more to DS, 3 to TRAD and 11 similarly between protocols. Additionally, 2 subjects responded more to CP, 2 to TRAD and 11 similarly between protocols. In conclusion, all protocols induced similar individual responses for CSA. For 1-RM, some subjects experience greater gains for the protocol performed with higher loads, such as CP.

Introduction

The resistance training (RT) protocol traditionally prescribed (TRAD; performed with constant load and repetitions) is a potent stimulus for increasing muscle strength and mass (i.e., muscle hypertrophy) [1, 2]. However, it remains to be elucidated which RT schemes are effective in optimizing gains in muscle strength and mass [3–5]. As consequence, a number of RT systems, which encompass training techniques that emphasize different RT variables (e.g., intensity, volume, muscle action, exercises, and repetition duration), have been developed to optimize muscle strength and hypertrophy gains in well-trained subjects [6, 7]. Among available RT systems, the drop-set (DS) system recommends reducing the

load of a set after concentric muscle failure to allow performing additional repetitions, thus increasing metabolic stress [6, 7]. Crescent pyramid (CP) is another popular RT system among practitioners, which recommends increases and decreases in load and repetitions, respectively, on each set to progressively increase mechanical tension [6]. Anecdotal data suggest that the RT systems could optimize muscle strength and mass gains compared with TRAD [6, 7].

Recently, we showed similar muscle strength gains and hypertrophy when comparing volume load-matched (VL: sets × repetitions × load [kg]) RT systems (i.e., DS and CP) to TRAD protocol [8]. Importantly, this study compared the effects of RT systems



Suspension Training: A New Approach to Improve Muscle Strength, Mass, and Functional Performances in Older Adults?

Vitor Angleri, Samuel Domingos Soligon, Deivid Gomes da Silva, João Guilherme Almeida Bergamasco and Cleiton Augusto Libardi*

MUSCULAB - Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil

Keywords: suspension training, muscle strength, muscle mass, functional performance improvement, older adults

INTRODUCTION

After the fifth decade of life, the natural aging process leads to annual reductions of 1.5% and 1–2% in muscle strength and mass, respectively (Morley et al., 2014; Zembron-Lacny et al., 2014). Additionally, muscle power is also reduced by 3–4% annually in older subjects (Macaluso and De Vito, 2004). These changes in the neuromuscular system are associated with impairments in functional performance (e.g., motor performance, control, balance, and mobility), increasing morbidity and mortality risks (Frontera et al., 2008; Cruz-Jentoft et al., 2010; Morley et al., 2014; Marty et al., 2017; McGlory et al., 2019).

Different resistance training (RT) modes have been proposed as effective interventions for enhancing muscle strength, mass, power, and functional performance in older adults [Chodzko-Zajko et al., 2009; American College of Sports Medicine position stand (ACSM), 2011]. However, less investigated RT modes also appear capable of optimizing these essential adaptations for older adults. Suspension training (ST) is a RT mode in which body segments are attached to suspended hanging straps, creating an unstable environment and using the body weight against gravity to perform multi-planar and multi-joint exercises (Byrne et al., 2014; Mok et al., 2015; Cugliari and Boccia, 2017). Interestingly, ST provides a progressive stimulus in the target muscles and a substantial activation in core muscles, suggesting it could be a promising RT mode to optimize muscle strength, mass, power, and functional performance (Maté-Muñoz et al., 2014; Ma et al., 2017).

The purpose of this manuscript is to provide rationale as to why ST could be a viable RT mode for increasing muscle strength, mass, power, and functional performance in older adults.

EFFECTS OF TRADITIONAL RESISTANCE TRAINING ON MUSCLE STRENGTH, MASS, POWER, AND FUNCTIONAL PERFORMANCE IN OLDER ADULTS

Current guidelines widely recommend RT programs to mitigate age-related impairments in muscle strength, mass, power, and functional performance in older adults [Nelson et al., 2007; Chodzko-Zajko et al., 2009; American College of Sports Medicine position stand (ACSM), 2011]. In order to optimize muscle strength and mass gains in older adults, RT should be performed at least twice weekly, with 8–10 exercises for major muscle groups at moderate to high intensities and slow

OPEN ACCESS

Edited by:

François Billaut,
Laval University, Canada

Reviewed by:

Olaf Prieske,
University of Applied Sciences for
Sports and Management
Potsdam, Germany
Nicolas Berryman,
Bishop's University, Canada

*Correspondence:

Cleiton Augusto Libardi
c.libardi@ufscar.br

Specialty section:

This article was submitted to
Exercise Physiology,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 19 August 2019

Accepted: 16 December 2019

Published: 10 January 2020

Citation:

Angleri V, Soligon SD, da Silva DG,
Bergamasco JGA and Libardi CA
(2020) Suspension Training: A New
Approach to Improve Muscle
Strength, Mass, and Functional
Performances in Older Adults?
Front. Physiol. 10:1576.
doi: 10.3389/fphys.2019.01576

ANEXO 10. Artigo publicado no periódico *European Journal of Applied Physiology*

European Journal of Applied Physiology
<https://doi.org/10.1007/s00421-020-04446-x>

ORIGINAL ARTICLE



Suspension training vs. traditional resistance training: effects on muscle mass, strength and functional performance in older adults

Samuel Domingos Soligon¹ · Deivid Gomes da Silva¹ · João Guilherme Almeida Bergamasco¹ · Vitor Angleri¹ · Ricardo Alessandro Medalha Júnior¹ · Nathalia Fernanda Dias¹ · Sanmy Rocha Nóbrega¹ · Marcelo de Castro Cesar^{2,3} · Cleiton Augusto Libardi¹

Received: 31 January 2020 / Accepted: 17 July 2020
 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2020

Abstract

Purpose We compared the effects of suspension training (ST) with traditional resistance training (TRT) on muscle mass, strength and functional performance in older adults.

Methods Forty-two untrained older adults were randomized in TRT, ST (both performed 3 sets of whole body exercises to muscle failure) or control group (CON). Muscle thickness (MT) of biceps brachii (MT_{BB}) and vastus lateralis (MT_{VL}), maximal dynamic strength test (IRM) for biceps curl (IRM_{BC}) and leg extension exercises (IRM_{LE}), and functional performance tests (chair stand [CS], timed up and go [TUG] and maximal gait speed [MGS]) were performed before and after 12 weeks of training.

Results MT_{BB} increased significantly and similarly for all training groups (TRT 23.35%; ST 21.56%). MT_{VL} increased significantly and similarly for all training groups (TRT 13.03%; ST 14.07%). IRM_{BC} increased significantly and similarly for all training groups (TRT 16.06%; ST 14.33%). IRM_{LE} increased significantly and similarly for all training groups (TRT 14.89%; ST 18.06%). MGS increased significantly and similarly for all groups (TRT 6.26%; ST 5.99%; CON 2.87%). CS decreased significantly and similarly for all training groups (TRT -20.80%; ST -15.73%). TUG decreased significantly and similarly for all training groups (TRT -8.66%; ST -9.16%).

Conclusion Suspension training (ST) promotes similar muscle mass, strength and functional performance improvements compared to TRT in older adults.

Keywords TRX training · Instability resistance training · Muscle hypertrophy · Functionality · Aging

Abbreviations

IRM Maximal dynamic strength test
 IRM_{BC} Biceps curl maximal dynamic strength test
 IRM_{LE} Leg extension maximal dynamic strength test

CON Control group
 CS Chair Stand
 CV Coefficient of variation
 ES Effect sizes
 MGS Maximal gait speed
 MT Muscle thickness
 MT_{BB} Biceps brachii muscle thickness
 MT_{VL} Vastus lateralis muscle thickness
 RT Resistance training
 ST Suspension training
 TE Typical error
 TRT Traditional resistance training
 TUG Timed up and go

Communicated by Toshio Moritani.

✉ Cleiton Augusto Libardi
 c.libardi@ufscar.br

¹ MUSCULAB, Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos, UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235-SP 310, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

² Department of Medicine, Federal University of São Carlos, UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235-SP 310, São Carlos, SP 13565-905, Brazil

³ Human Performance Research Laboratory, Methodist University of Piracicaba, UNIMEP, Rod. do Açúcar, km 156, Piracicaba, SP 13400-911, Brazil

Published online: 22 July 2020

ANEXO 11. Artigo publicado no periódico *Physiology International*

Physiology International, Volume 105 (3), pp. 276–284 (2018)

DOI: 10.1556/2060.105.2018.3.18

Lower occlusion pressure during resistance exercise with blood-flow restriction promotes lower pain and perception of exercise compared to higher occlusion pressure when the total training volume is equalized

SD Soligon¹, ME Lixandrão², TMPC Biazon¹, V Angleri¹, H Roschel², CA Libardi¹

¹MUSCULAB – Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education, Federal University of São Carlos – UFSCar, São Carlos, Brazil

²School of Physical Education and Sport, University of São Paulo – USP, São Paulo, Brazil

Received: September 27, 2017

Accepted: August 21, 2018

Low-intensity resistance exercise with blood-flow restriction (BFR) promotes similar adaptations to high-intensity resistance exercise (HI-RE). Interestingly, BFR has been demonstrated to be effective for a wide range of occlusion pressures. However, the occlusion pressure magnitude may alter the psychophysiological stress related to BFR as measured by rating of perceived exertion scale (RPE) and rating of pain. We aimed to compare the RPE and pain levels across different magnitudes of occlusion pressures, promoting new knowledge regarding occlusion pressure on stress related to BFR. All BFR protocols ranging between 40% and 80% of total arterial occlusion (BFR40, BFR50, BFR60, BFR70, and BFR80) were compared to HI-RE in 12 participants using a randomized and crossover design 72 h apart. BFR protocols and HI-RE were performed with 30% and 80% of one-repetition maximum (1RM) test value, respectively. RPE and pain levels were measured before exercise and immediately after each set. BFR protocols (i.e., BFR40 and BFR50) presented overall lower RPE response compared to higher-pressure BFR (i.e., BFR70 and BFR80) and HI-RE conditions. For pain levels, low-pressure BFRs (i.e., BFR40 and BFR50), and HI-RE showed lower values than high-pressure BFR protocols (i.e., BFR60, BFR70, and BFR80). In conclusion, low-pressure BFR protocols promote lower RPE and pain compared to high-pressure BFR protocols (between 60% and 80% of occlusion pressure), when total training volume (TTV) is equalized. In addition, HI-RE promotes similar levels of pain, but higher RPE than low-pressure BFR, probably due to the higher TTV.

Keywords: resistance training, blood-flow restriction, psychophysiological stress, rating of perceived exertion, pain

Introduction

High-intensity resistance exercise [HI-RE; >65% one-repetition maximum (1RM)] is typically recommended as the most effective training protocol to promote muscle mass accrual (i.e., muscle hypertrophy) (2, 3). However, recent evidence suggests that low-load resistance exercise (RE; 20%–40% 1RM) associated with partial blood-flow restriction (BFR) may result in similar increases in muscle mass compared to HI-RE (12, 13, 26, 32, 33). Interestingly, BFR has been demonstrated to be effective for a wide range of occlusion pressures (14). Indeed, a recent meta-analysis carried out by our laboratory demonstrated

Corresponding author: Cleiton Augusto Libardi, PhD
 MUSCULAB – Laboratory of Neuromuscular Adaptations to Resistance Training, Department of Physical Education
 Federal University of São Carlos – UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235
 SP-310, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brazil
 Phone/Fax: +55 16 3306 6777; E-mail: c.libardi@ufscar.br