

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS – UFSCar/UNESP

NATHALIA FERNANDA DIAS

**EFEITOS DA FASE DO CICLO MENSTRUAL NA
MASSA MUSCULAR**

SÃO CARLOS - SP

2023

NATHALIA FERNANDA DIAS

EFEITOS DA FASE DO CICLO MENSTRUAL NA MASSA MUSCULAR

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi

São Carlos - SP

2023

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dr. Cleiton Augusto Libardi (DEFMH/UFSCAR – Presidente)

Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch (EEFE/USP)

Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck (DCF/UFSCar)

MEMBROS SUPLENTE:

Profa. Dra. Daniela Godoi Jacomassi (DEFMH/UFSCar)

Prof. Dr. Sanmy Rocha Nóbrega (UFSC)



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 Dissertação de Mestrado da candidata Nathalia Fernanda Dias, realizada em 27/02/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi (UFSCar)

Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck (UFSCar)

Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch (USP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

AGRADECIMENTO

Aos meus familiares por todo apoio! Obrigada, vocês são minha base!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi, pelas conversas, reuniões e ensinamentos! Obrigada!

As voluntárias que participaram das coletas de dados, que em um momento difícil contribuíram para que o trabalho pudesse acontecer! Obrigada por toda a disponibilidade!

A toda equipe Musculab – Laboratório de adaptações neuromusculares ao treinamento de força. Sem vocês esse trabalho não seria possível. É um privilégio fazer parte dessa equipe!

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e a especialização do Musculab pelo financiamento.

RESUMO

Introdução: Mulheres eumenorréicas são naturalmente expostas a flutuações hormonais de estradiol (E2), progesterona (P4), hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante ao decorrer do ciclo menstrual (CM). Porém, pouco é conhecido sobre essas oscilações hormonais durante o CM na massa muscular. O objetivo do estudo foi investigar as possíveis alterações na espessura muscular (EM) e área de secção transversa muscular (ASTM) do vasto lateral (VL), durante as fases de dois CM. Como objetivo secundário, buscamos investigar as mudanças nos parâmetros musculares ao longo do CM, a partir de uma abordagem individual.

Métodos: Trinta e cinco mulheres jovens saudáveis com idade entre 18 e 35 anos e com CM regular de 21 a 35 dias participaram do estudo. Foram realizadas avaliações musculares por ultrassonografia e avaliações dos hormônios E2 e P4 por amostras salivares nas fases do CM (fase folicular [FOL], fase ovulatória [OVU] e fase lútea [LUT]), por dois ciclos consecutivos. Uma análise de modelo misto foi realizada para comparar os níveis de E2 e P4, EM e ASTM, em diferentes fases dos CM. Em caso de F significativa, o ajuste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas. Adicionalmente, uma subamostra ($n=13$) foi analisada incluindo somente as participantes que atendiam ao critério de aumento de E2 na OVU em relação a FOL. Nessa subamostra foi realizada a mesma análise de modelo misto e também uma análise de correlação de Person, entre todos os parâmetros musculares e hormonais investigados em cada uma das fases do CM. Por fim, a partir de uma análise individual, analisamos quantas participantes apresentaram alterações verdadeiras na EM e ASTM entre as fases do CM.

Resultados: As concentrações de P4 foram significativamente maiores na LUT do primeiro ciclo e LUT do segundo ciclo comparado com a FOL do primeiro ciclo ($p = 0,017$ e $p = 0,039$, respectivamente), OVU do primeiro ciclo ($p = 0,0008$ e $p = 0,008$, respectivamente), FOL do segundo ciclo ($p = 0,012$ e $p = 0,0007$, respectivamente) e OVU do segundo ciclo ($p = 0,008$ e $p = 0,006$, respectivamente). No entanto, para as concentrações de E2 não foram observadas diferenças significantes entre as fases dos dois CM. A EM e ASTM também não variaram ao longo dos ciclos. Ao analisarmos uma subamostra, as concentrações de E2 foram significativamente maiores na OVU do que na FOL ($p = 0,001$) e as concentrações de P4 foram significativamente maiores na LUT do que na FOL ($p = 0,017$) e OVU ($p = 0,0009$). Da mesma forma que observado na amostra completa, a EM e a ASTM também não foram alteradas. Também não foram observadas nenhuma correlação significativa entre os parâmetros musculares e hormonais analisados. Por fim, com relação as análises individuais, observamos que tanto a EM quanto a ASTM apresentaram mudanças para algumas participantes ao longo do CM.

Conclusão: Variações hormonais decorrentes do CM não afetam a EM e a ASTM. No entanto, mudanças neste tecido podem ser observadas a nível individual nas diferentes fases do CM, mas sem associações com os hormônios E2 e P4.

Palavras-chave: hormônios; estradiol; progesterona; músculo esquelético.

ABSTRACT

Introduction: Eumenorrhic women are naturally exposed to hormonal fluctuations of estradiol (E2), progesterone (P4), luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone during the menstrual cycle (MC). However, these hormonal oscillations during MC in muscle mass are little known. The aim of the study was to investigate the possible changes in the muscle thickness (MT) and muscular cross-sectional area (MCSA) of the vastus lateralis, during the phases of two CM. As a secondary objective, we sought to investigate changes in muscle parameters throughout the CM, from an individual approach. **Methods:** Thirty-five healthy young women aged between 18 and 35 years and with a regular MC of 21 to 35 days participated in the study. Muscle evaluations by ultrasound and evaluations of E2 and P4 hormones by salivary samples were performed in the phases of the MC (follicular phase [FOL], ovulatory phase [OVU], and luteal phase [LUT]), for two consecutive cycles. A mixed-model analysis was performed to compare E2 and P4 levels, MT, and MCSA in different phases of MC. In case of significant F, Tukey's adjustment was performed for multiple comparisons. Additionally, a subsample (n=13) was analyzed, including only those participants who met the criteria of increased E2 in OVU in relation to FOL. In this subsample, the same mixed model analysis was performed, as well as a Person correlation analysis between all muscle and hormonal parameters investigated in each of the MC phases. Finally, from an individual analysis, we analyzed how many participants had true changes in MT and MCSA between MC phases. **Results:** P4 concentrations were significantly higher in first cycle LUT and second cycle LUT compared to first cycle FOL ($p = 0.017$ and $p = 0.039$, respectively), first cycle OVU ($p = 0.0008$ and $p = 0.008$, respectively), second cycle FOL ($p = 0.012$ and $p = 0.0007$, respectively) and second cycle OVU ($p = 0.008$ and $p = 0.006$, respectively). However, no significant differences were observed between the phases of the two MC for E2 concentrations. MT and MCSA also did not vary over the cycles. When analyzing a subsample, E2 concentrations were significantly higher in OVU than in FOL ($p = 0.001$), and P4 concentrations were significantly higher in LUT than in FOL ($p = 0.017$) and OVU ($p = 0.0009$). As observed in the complete sample, MT and MCSA were also unchanged. No significant correlation was observed between the muscular and hormonal parameters analyzed either. Finally, regarding the individual analyses, we observed that MT and MCSA showed changes for some participants over the MC. **Conclusion:** Hormonal variations resulting from the MC do not affect MT and the MCSA. However, changes in this tissue can be observed at the individual level in the different phases of MC, but without associations with the hormones E2 and P4.

Keywords: hormones; estradiol; progesterone; skeletal muscle.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Informações nutricionais de cada fase dos ciclos menstruais (n = 22).....	32
Tabela 2. Informações nutricionais entre as fases do ciclo menstrual (n=13).....	37
Figura 1. Ciclo menstrual de 28 dias com as flutuações hormonais de estradiol (E2), progesterona (P4), hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) nas fases do CM: fase folicular (FOL), fase ovulatória (OVU) e fase lútea (LUT).....	12
Figura 2. Visão geral do estudo indicando as datas de avaliações nas fases dos dois CM.....	18
Figura 3. Imagem representativa do posicionamento da sonda durante o processo de aquisição da imagem de área de secção transversa do músculo vasto lateral por ultrassonografia.....	20
Figura 4. Imagem representativa da área de secção transversa muscular do vasto lateral (VL) a partir de imagens sequenciais de ultrassonografia.....	20
Figura 5. Imagem representativa do posicionamento durante o processo de aquisição da imagem de espessura muscular do vasto lateral por ultrassonografia.....	21
Figura 6. Imagem representativa da espessura muscular (EM) do vasto lateral obtidos por ultrassonografia.....	22
Figura 7. Imagem representativa da progressão do hormônio luteinizante (LH) na urina nos testes de ovulação (Famivita).....	23
Figura 8. Imagem representativa indicando o recordatório alimentar utilizado para registrar a ingestão calórica e os macronutrientes nas fases do CM.....	25

Figura 9. Fluxograma do processo de coleta e análise de dados.	27
Figura 10. Concentrações de progesterona nas fases do ciclo menstrual (n = 22).....	28
Figura 11. Concentrações de estradiol nas fases do ciclo menstrual (n = 22).....	29
Figura 12. Espessura muscular nas fases do ciclo menstrual (n = 22).....	30
Figura 13. Área de secção transversa muscular (ASTM) nas fases do ciclo menstrual (n = 22).....	31
Figura 14. Concentrações de estradiol nas fases do ciclo menstrual (n = 13).....	33
Figura 15. Concentrações de progesterona nas fases do ciclo menstrual (n = 13).....	34
Figura 16. Espessura muscular nas fases do ciclo menstrual (n=13).....	34
Figura 17. Área de secção transversa muscular (ASTM) nas fases do ciclo menstrual (n=13).....	35
Figura 18. Análises individuais do percentual de mudança da espessura muscular entre as fases do ciclo menstrual (n = 13).....	36
Figura 19. Análises individuais do percentual de mudança da área de secção transversa muscular (ASTM) entre as fases do ciclo menstrual (n = 13).....	37
Apêndice A. Questionário sobre o ciclo menstrual das participantes.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CM - Ciclo menstrual
E2 - Estradiol
P4 - Progesterona
FSH - Hormônio folículo estimulante
LH - Hormônio luteinizante
FOL - Fase folicular
FOL1 - Fase folicular do primeiro ciclo
FOL2 - Fase folicular do segundo ciclo
OVU - Fase ovulatória
OVU1 - Fase ovulatória do primeiro ciclo
OVU2 - Fase ovulatória do segundo ciclo
LUT - Fase lútea
LUT1 - Fase lútea do primeiro ciclo
LUT2 - Fase lútea do segundo ciclo
EM - Espessura muscular
ASTM - Área de secção transversa muscular
RF - Reto femoral
TA - Tecido adiposo
US - Ultrassonografia
VL - Vasto lateral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO.....	15
3 MÉTODOS.....	16
3.1 <i>Participantes.....</i>	16
3.2 <i>Delineamento experimental</i>	16
3.3 <i>Avaliações do músculo esquelético.....</i>	19
3.3.1 <i>Área de secção transversa muscular.....</i>	19
3.3.2 <i>Espessura muscular.....</i>	21
3.4 <i>Análises hormonais.....</i>	22
3.5 <i>Recordatório alimentar.....</i>	25
3.6 <i>Análise estatística</i>	25
4 RESULTADOS	27
4.1 <i>Análises considerando os dois ciclos menstruais (n = 22).....</i>	27
4.1.1 <i>Análises hormonais</i>	27
4.1.2 <i>Espessura muscular.....</i>	29
4.1.3 <i>Área de secção transversa muscular.....</i>	31
4.1.4 <i>Recordatório alimentar.....</i>	31
4.2 <i>Análises considerando uma subamostra que apresentou aumentos do estradiol na OVU (n = 13).....</i>	33
4.2.1 <i>Análises hormonais</i>	33
4.2.2 <i>Espessura muscular.....</i>	34
4.2.3 <i>Área de secção transversa muscular.....</i>	35
4.2.4 <i>Análises individuais.....</i>	35
4.2.5 <i>Recordatório Alimentar.....</i>	37
5 DISCUSSÃO	38
5.1 <i>Efeito das fases do ciclo menstrual a nível de grupo.....</i>	38
5.2 <i>Efeito das fases do ciclo menstrual a nível individual.....</i>	39
5.3 <i>Limitações.....</i>	39
6 CONCLUSÃO.....	41
7 REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE A: Questionário sobre o ciclo menstrual das participantes	45

1 INTRODUÇÃO

O ciclo menstrual (CM) é um processo fisiológico controlado pelo eixo hipotálamo-hipófise ovariano, caracterizado pelas oscilações hormonais de estradiol (E2), progesterona (P4), hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). Essas flutuações hormonais caracterizam as fases do CM (Figura 1): fase folicular (FOL), fase ovulatória (OVU) e fase lútea (LUT). No início da FOL, momento em que ocorre a menstruação, observa-se baixos níveis de E2 e P4. Na OVU, espera-se que somente as concentrações de E2 se elevem, atingindo um primeiro pico e a P4 se mantenha baixa. Por fim, na fase LUT, as concentrações de E2 atingem um segundo pico (em menores concentrações comparado ao pico anterior) e as concentrações de P4 atingem seus níveis máximos (BUFFET *et al.*, 1998; GUYTON *et al.*, 2011).

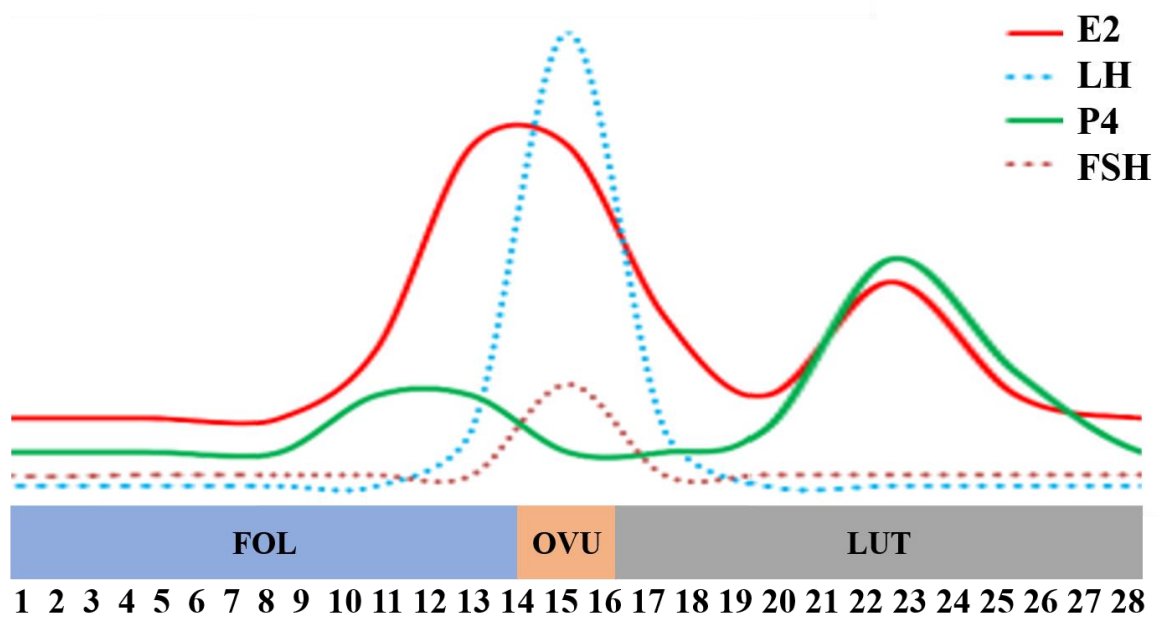


Figura 1. Ciclo menstrual de 28 dias com as flutuações hormonais de estradiol (E2), progesterona (P4), hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) nas fases do CM: fase folicular (FOL), fase ovulatória (OVU) e fase lútea (LUT). Imagem adaptada de Guyton & Hall (2011).

Tem sido sugerido que o E2 e a P4 além de influenciarem no sistema reprodutivo, podem estar associados a alterações nos hormônios arginina vasopressina, renina e aldosterona, que são responsáveis pela regulação dos fluídos corporais (STACHENFELD, 2008). Já foi demonstrado que na LUT do CM, quando os níveis de E2 e P4 estão elevados, ocorrem aumentos nas concentrações de renina plasmática, aldosterona e atividade da renina plasmática (DAVIS *et al.*, 2017). Adicionalmente, já foi observado um aumento na distribuição de água

extracelular e água corporal total na LUT do CM (FRUZZETTI *et al.*, 2007).

Uma vez que 73% do músculo esquelético é composto por água, algumas evidências sugerem que variações na distribuição de água corporal decorrentes do CM podem ocasionar alterações transitórias na massa muscular (STACHÓN, 2016; TOMAZO-RAVNIK *et al.*, 2006). Apesar disso, estudos recentes não observaram alterações musculares ao longo do CM (RAEL *et al.*, 2020; THOMPSON *et al.*, 2021). As divergências entre os estudos podem ser explicadas principalmente por aspectos metodológicos. Por exemplo, embora Stachoń (2016) e Tomazo-Ravnik *et al.* (2006) tenham observado diferenças significantes na massa muscular entre as fases do CM por meio de uma análise de bioimpedância, esses estudos não controlaram a dieta ao longo do CM, o que pode ter afetado os resultados, visto que a regulação do apetite e ingestão calórica podem se alterar ao longo do CM (KRISHNAN *et al.*, 2016). Além disso, os autores utilizaram o autorrelato do início da menstruação para determinar as fases do CM. Esse método é frequentemente utilizado em estudos com mulheres, mas pode fornecer uma informação equivocada da fase do CM, visto que mulheres diferem em duração do CM e comprimento da FOL e LUT. Além disso, quaisquer anormalidades como ciclos anovulatórios (i.e., ciclos com ausência de ovulação) ou deficiência na LUT (i.e., não elevação dos níveis de P4 na LUT e/ou menor comprimento da LUT) podem não ser detectadas (JANSE DE JONGE *et al.*, 2019; SCHAUMBERG *et al.*, 2017). Em estudos mais recentes, os quais não observaram alterações na massa muscular ao longo do CM (RAEL *et al.*, 2020; THOMPSON *et al.*, 2021), foram utilizados métodos padrão-ouro para verificação da fase do ciclo (i.e., análise hormonal). Embora os estudos recentes tenham utilizado métodos mais precisos para determinar as fases do CM, a bioimpedância, método utilizado por Rael *et al.* (2020) para mensurar possíveis alterações no músculo esquelético, não apresentam boa reprodutibilidade e tão pouco são sensíveis para detectar pequenas alterações. Esse é um método duplamente indireto que utiliza uma equação de predição para estimar a massa muscular, podendo superestimar ou subestimar o tecido muscular (BUCKINX *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2018; LING *et al.*, 2011). Além disso, a bioimpedância é altamente influenciada pelo nível de hidratação do indivíduo, adicionando mais um fator de confusão aos resultados. De fato, tem sido demonstrado uma baixa concordância entre a massa muscular esquelética obtida por bioimpedância e por meio de absorciometria de raios X de dupla energia (LANGER *et al.*, 2016). Por outro lado, Thompson *et al.* (2021) além de utilizarem as análises hormonais para determinar as fases do CM, adotaram a tomografia computadorizada para mensurar a área de secção transversa muscular (ASTM), método que possui alta reprodutibilidade e, portanto, é capaz de detectar pequenas alterações no tecido muscular. Apesar da existência de evidências investigando a influência do

CM na massa muscular, muitos estudos excluem mulheres sob a premissa de que as oscilações hormonais de E2 e P4 podem afetar os resultados. Isso sugere que mais estudos são necessários para dar suporte aos achados atuais, de que as oscilações hormonais decorrentes do CM não afetam a massa muscular. Além disso, sabe-se que existem variações de um CM para o outro em uma mesma mulher, no que diz respeito a duração do CM, comprimentos das fases e níveis de E2 e P4. Dessa forma, para que seja possível entender se tais variações entre os ciclos ocasionam alguma mudança na massa muscular, se faz necessário examinar mais de um CM (SCHMALENBERGER *et al.*, 2021). Vale ressaltar também, que todos os estudos até o momento utilizaram análises que comparam os valores médios de hormônios e do músculo esquelético em cada fase do CM. Dessa forma, é possível especular que uma análise individual revele oscilações na massa muscular entre as fases do CM, não observadas a nível de grupo. No entanto, até onde sabemos, nenhum estudo até o momento analisou as oscilações hormonais e os desfechos ao longo do CM de forma individual, sobretudo em mais de um CM.

2 OBJETIVO

O objetivo do estudo foi investigar as possíveis alterações na espessura muscular e área de secção transversa muscular do vasto lateral, durante as fases de dois ciclos menstruais. Como objetivo secundário, buscamos investigar as mudanças nos parâmetros musculares ao longo do ciclo menstrual, a partir de uma abordagem individual.

3 MÉTODOS

3.1 *Participantes*

Foram recrutadas 100 mulheres saudáveis por meio de divulgação online. Para participar do estudo, todas deveriam ter idade entre 18 e 35 anos e CM regular de 21 a 35 dias de duração. Foram excluídas do estudo as mulheres que: a) estivessem realizando qualquer tipo de tratamento hormonal (e.g., contraceptivo oral, injeção hormonal, anel, implante hormonal, adesivo, dispositivo intrauterino hormonal); b) apresentassem anovulação ou ciclos com insuficiência lútea, ou seja, comprimento da LUT menor que 11 dias ou maior que 17 dias (TSAMPOUKOS *et al.*, 2010) e razão das concentrações de P4 da LUT/FOL < 1 (BOURQUE *et al.*, 1986); c) estivessem grávidas ou amamentando; d) planejassem qualquer mudança futura no estado reprodutivo (e.g., pretensão de engravidar, iniciar contraceptivos, entre outros); e) estivessem realizado qualquer tipo de cirurgia que comprometesse as oscilações cíclicas dos hormônios (e.g., ooforectomia bilateral que induz a menopausa); h) apresentassem distúrbios reprodutivos ou endócrinos e (i) estivessem realizando qualquer tipo de atividade física regular (i.e., igual ou superior a duas vezes na semana). Todas foram informadas dos possíveis riscos, desconfortos e benefícios do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos (CAAE: 40156120.3.0000.5504, número do parecer: 5.557.242).

3.2 *Delineamento experimental*

Este foi um estudo de grupo único e unicego. Na primeira visita foram coletadas informações sobre o CM de cada participante para elegibilidade do estudo. O apêndice 1 mostra o questionário utilizado que foi adaptado de Schmalenberger *et al.* (2021). Para a montagem do calendário menstrual, foram utilizadas as datas das duas últimas menstruações de cada participante para estabelecer a duração do ciclo (definido pelo intervalo de dias entre o primeiro dia da menstruação e o dia anterior ao sangramento subsequente). A partir disso, as fases de dois CM foram estimadas a fim de orientar as datas das avaliações. As fases determinadas foram: fase folicular do primeiro ciclo (FOL1), fase ovulatória do primeiro ciclo (OVU1) e fase lútea do primeiro ciclo (LUT1), bem como fase folicular do segundo ciclo (FOL2), fase ovulatória do segundo ciclo (OVU2) e fase lútea do segundo ciclo (LUT2). Os momentos das avaliações foram determinados visando encontrar um cenário hormonal distinto entre as fases do CM, uma vez que se espera que no início da FOL as concentrações de E2 e P4 sejam baixas, na fase OVU ocorra um aumento apenas no E2 (i.e., caracterizando o primeiro pico deste

hormônio) e que na LUT ambos os hormônios apresentem níveis altos (i.e., níveis máximos de P4 e um segundo pico de E2, que apresenta níveis menores comparado ao primeiro pico). Ainda na primeira visita, as participantes foram orientadas a entrar em contato com os pesquisadores no primeiro dia de sangramento menstrual, (i.e., no primeiro dia do CM). Durante este contato, a segunda visita foi agendada na FOL, entre os dias 1-4 do ciclo. Nessa visita, foram realizadas as avaliações musculares no vasto lateral (VL) por ultrassonografia (i.e., ASTM e espessura muscular [EM]). A alocação das pernas para as avaliações musculares, foram realizadas de forma aleatória e balanceadas por dominância. Ainda nesta visita, foram realizadas as coletas de amostras salivares para posterior avaliação de E2 e P4. Para verificar a OVU e detectar ciclos anovulatórios, as participantes receberam um kit de ovulação e foram orientadas a realizarem o teste na urina diariamente a partir do oitavo dia do CM, sempre no mesmo horário do dia. Com isso, o contato com as participantes era diário para que fosse possível observar a data do teste positivo do LH. A terceira visita foi agendada dentro de 48 horas do teste positivo de LH (i.e., na OVU) e as mesmas avaliações musculares e hormonais foram realizadas. Por fim, a quarta visita ocorreu na LUT, a qual foi agendada entre sete e nove dias após o teste positivo de LH e contou com as mesmas avaliações das visitas anteriores (SCHAUMBERG *et al.*, 2017; THOMPSON *et al.*, 2021). As visitas subsequentes do segundo ciclo contaram com as mesmas avaliações e datas descritas para o primeiro ciclo. Adicionalmente, com objetivo de manter um controle dos parâmetros nutricionais ao longo do estudo, um recordatório alimentar de 24 horas foi preenchido em cada fase do CM. Uma visão geral do estudo indicando as datas de avaliações nas fases dos dois CM é apresentado na figura 2.

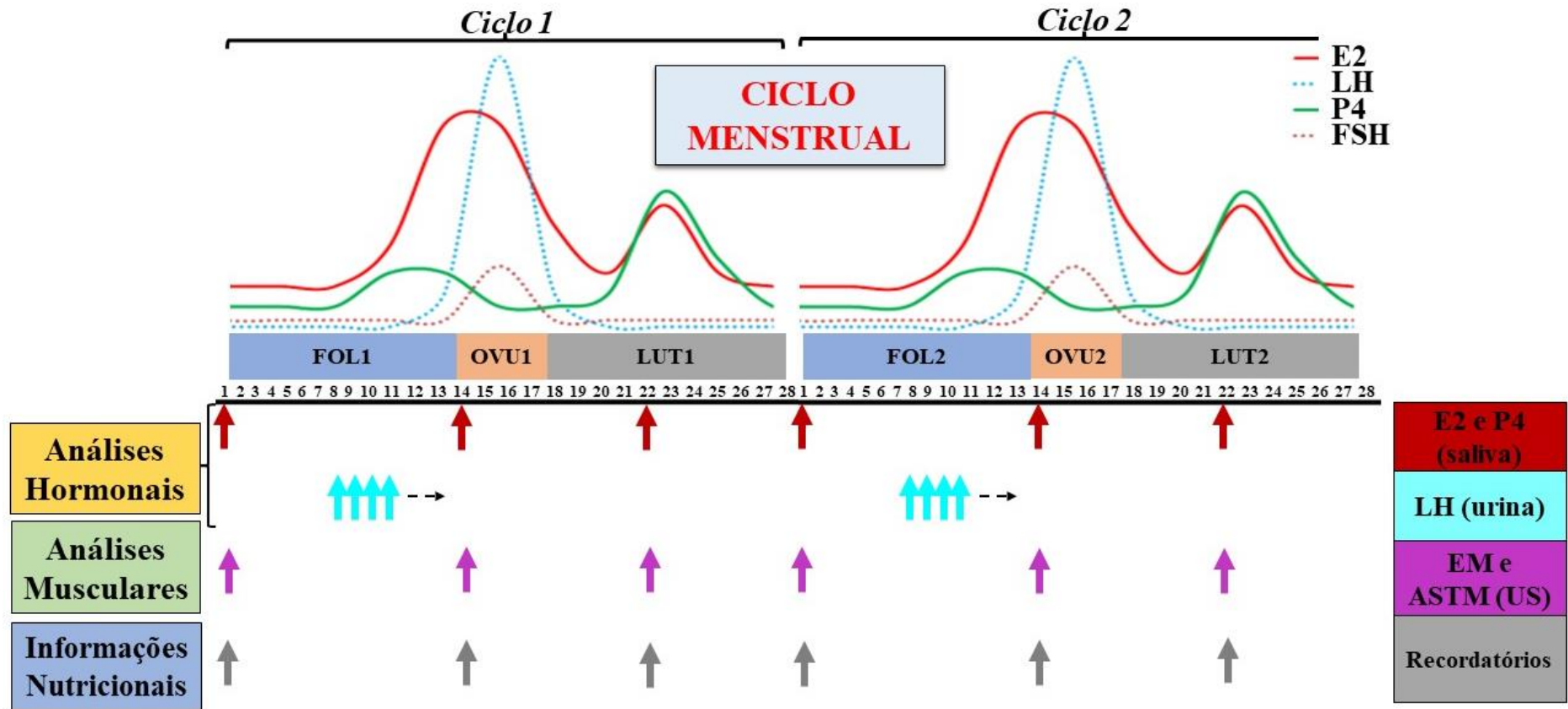


Figura 2. Visão geral do estudo indicando as datas de avaliações nas fases dos dois CM. Estradiol (E2); Progesterona (P4); Hormônio luteinizante (LH); Hormônio folículo estimulante (FSH); Espessura muscular (EM); Área de secção transversa muscular (ASTM); Ultrassonografia (US); Fase folicular (FOL); fase ovulatória (OVU) e Fase lútea (LUT).

3.3 Avaliações do músculo esquelético

3.3.1 Área de secção transversa muscular

A ASTM do VL foi obtida conforme descrito por Scarpelli et al., (2022). Inicialmente, as participantes ficaram 15 minutos deitadas em decúbito dorsal para homogeneização dos fluidos corporais. Durante o repouso, com auxílio de uma fita métrica foi realizada a marcação de 50% do comprimento total do fêmur, a partir da distância do trocanter maior para o epicôndilo lateral do fêmur. A partir disso, marcas sucessivas com intervalos de 2 cm foram realizadas transversalmente em direção a lateral da coxa, para orientar o deslocamento da sonda do ultrassom no plano sagital. Uma faixa de velcro adesivo foi utilizada para manter os tornozelos imóveis no momento de homogeneização e durante a coleta, garantindo a imobilização dos membros inferiores no processo. Em seguida, o avaliador previamente cegado, utilizou um equipamento de ultrassom modo B (Samsung, MySono U6, São Paulo, Brasil) para aquisição das imagens. O gel de transmissão solúvel em água foi utilizado no transdutor linear, visando promover melhor acoplamento acústico e imagens sequenciais do músculo VL foram registradas a cada 2 cm, com início na marca medial da pele (sobre o músculo reto femoral), movendo-se na direção lateral (Figura 3). Para análise da área de secção transversa, as imagens foram abertas no PowerPoint (Microsoft) pelo avaliador cegado e giradas de forma a reconstruir manualmente a imagem completa da ASTM do VL. A imagem reconstruída foi aberta no software ImageJ e com a utilização da ferramenta “poligonal” a ASTM foi delimitada, sempre excluindo o tecido conjuntivo e ósseo (Figura 4). Para o cálculo do coeficiente de variação e erro típico, utilizamos os dados de oito mulheres da amostra total, onde a ASTM foi mensurada e analisada duas vezes com um intervalo de pelo menos 72 horas na FOL. O coeficiente de variação e o erro típico foram respectivamente, 2,56% e 0,52 cm².



Figura 3. Imagem representativa do posicionamento da sonda durante o processo de aquisição da imagem de área de secção transversa do músculo vasto lateral por ultrassonografia.

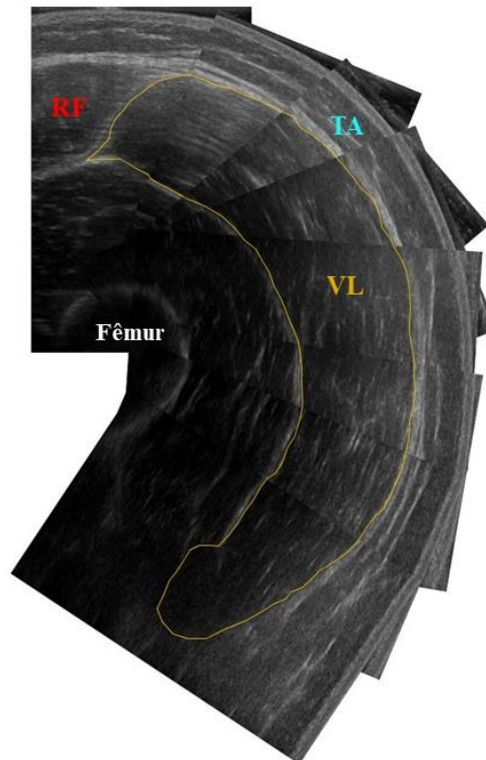


Figura 4. Imagem representativa da área de secção transversa muscular do vasto lateral (VL) a partir de imagens sequenciais de ultrassonografia. RF: Reto femoral e TA: Tecido adiposo.

3.3.2 Espessura muscular

O avaliador previamente cegado, coletou as imagens de EM do VL em 50% do comprimento total do fêmur, com o transdutor linear posicionado paralelamente à interface do tecido muscular (Figura 5). As dimensões da EM foram obtidas medindo-se a distância entre a aponeurose superficial e profunda do músculo alvo, conforme descrito anteriormente (ABE *et al.*, 2000; SCHOENFELD *et al.*, 2018) (Figura 6). Utilizando a ferramenta “Straight” do software ImageJ, seis medidas foram realizadas, sendo três na extremidade direita e três na extremidade esquerda da imagem e o valor médio foi utilizado para definir a EM. Para o cálculo do coeficiente de variação e erro típico, utilizamos os dados de oito mulheres da amostra total, onde a EM foi avaliada e analisada duas vezes com um intervalo de pelo menos 72 horas na FOL. O coeficiente de variação e o erro típico em 50% do comprimento do fêmur foram respectivamente 1,89% e 0,03 cm².



Figura 5. Imagem representativa do posicionamento durante o processo de aquisição da imagem de espessura muscular do vasto lateral por ultrassonografia.

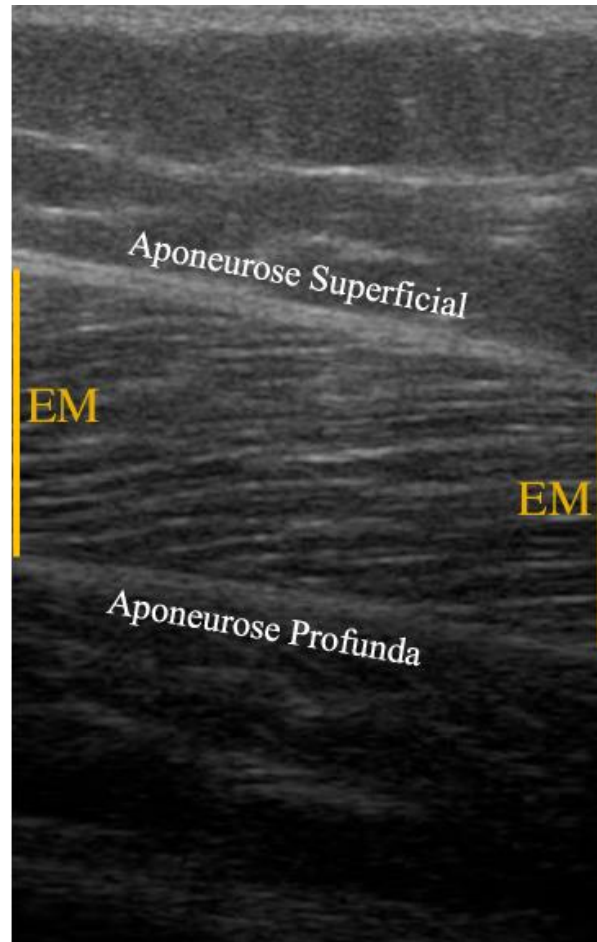


Figura 6. Imagem representativa da espessura muscular (EM) do vasto lateral obtidos por ultrassonografia.

3.4 Análises hormonais

Para estimar a OVU, as participantes receberam um kit de teste de ovulação, com sensibilidade de 20 mili unidades internacionais (mUI) (Famivita), o qual foi realizado na mesma hora do dia, desde o oitavo dia do CM até que o resultado positivo fosse encontrado (SCHAUMBERG *et al.*, 2017; THOMPSON *et al.*, 2021) (Figura 7). Os resultados foram confirmados por meio de um registro fotográfico da fita de teste feito pela equipe do estudo. O teste foi considerado negativo quando apenas a linha de controle estivesse visível (figura 7a), ou quando a intensidade da linha de teste estivesse inferior (i.e., mais fraca) a linha de controle (figura 7b). É natural que isto ocorra durante a progressão do LH, visto que sempre há a presença deste hormônio em menores concentrações na urina, o que não indica ovulação. Por fim, o teste foi considerado positivo, indicando um ciclo ovulatório, quando a intensidade da linha de teste estivesse igual (figura 7c) ou superior a linha de controle (figura 7d).

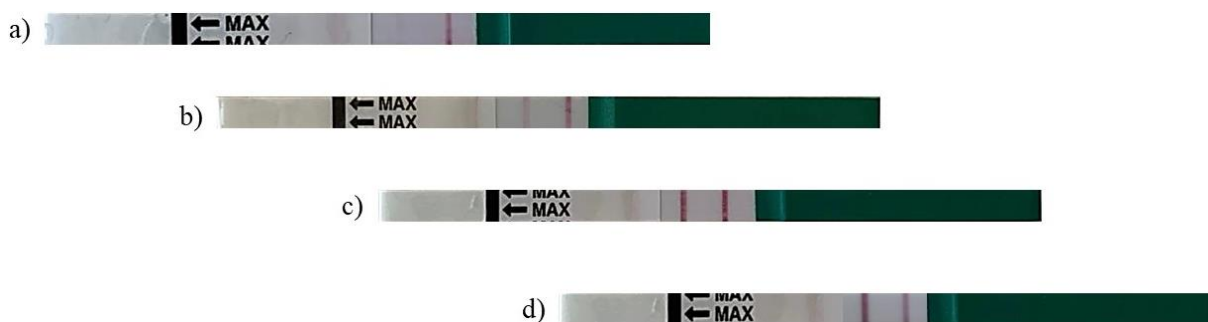


Figura 7. Imagem representativa da progressão do hormônio luteinizante (LH) na urina nos testes de ovulação (Famivita). As imagens (a) e (b) indicam um teste de ovulação negativo e as imagens (c) e (d) indicam um teste de ovulação positivo.

Para confirmar as fases do CM, realizamos a mensuração dos hormônios E2 e P4 por análises salivares nas três fases de cada CM (i.e., FOL1, OVU1, LUT1, FOL2, OVU2 e LUT2). As participantes foram orientadas a ficar sem comer, beber, mascar chicletes ou escovar os dentes por 4 horas antes da coleta. Em cada visita, as participantes coletaram duas amostras de saliva (aproximadamente 2ml cada) em frascos estéreis. Após a coleta, as amostras foram refrigeradas em temperatura de 2-8 °C e levadas para laboratório conveniado Pasteur Hematologia e Microbiologia SS LTDA, São Carlos/SP, Brasil. Após o recebimento, o laboratório realizou a conferência e cadastro das amostras no sistema interno Worklab e posteriormente a integração entre os sistemas do laboratório Pasteur e o laboratório de apoio DB Diagnósticos, São José dos Pinhais/PR, Brasil. Logo após, as amostras foram enviadas em bags (i.e., sacos plásticos de transporte), refrigeradas em temperatura controlada entre 2°-8° C até o destino no laboratório de apoio (DB Diagnósticos). Após a chegada das amostras no DB Diagnósticos, a triagem realizou o encaminhamento do material ao setor de terceirização, que foi responsável por enviar as amostras para análise ao laboratório de apoio no exterior Tecan IBL International GmbH, Hamburgo, Alemanha. Posteriormente as amostras foram analisadas quanto as concentrações de E2 e P4 em duplicata através do método imunoensaio enzimático. As precisões das análises foram medidas de acordo com as diretrizes do Clinical & Laboratory Standards Institute. Para 17beta-Estradiol o coeficiente de variação intra-ensaio médio de 4 amostras foi 8,8% e o coeficiente de variação inter-ensaio médio foi 11,8%. Para P4 o coeficiente de variação intra-ensaio médio de 4 amostras foi 4,9% e o coeficiente de variação inter-ensaio foi 6,7%. Para confirmar que os ciclos não apresentaram deficiência na LUT, realizamos a razão LUT/FOL. Para isso, realizamos a razão das concentrações de P4 na LUT pelas concentrações de P4 na FOL. Quando o resultado dessa razão fosse < 1 , os ciclos foram considerados com deficiência na LUT, visto que não apresentaram aumentos nas concentrações

de P4 de uma fase para outra. Já quando o resultado da razão fosse > 1 , os ciclos foram incluídos normalmente nas análises.

3.5 Recordatório alimentar

Um recordatório alimentar de 24 horas foi preenchido em cada fase dos dois CM (figura 8), utilizando MyFitnessPal.com (acesso: <https://www.myfitnesspal.com>), que possui uma boa validade quanto a distribuição de calorias e macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

Nome: Por favor, relate tudo o que você come e bebe, incluindo quantidades, tipo, cozimento, preparo, marcas, bebida e quaisquer molhos. Coma normalmente para que os pesquisadores possam registrar o que você está comendo em um dia típico.	
Café da manhã	
Almoço	
Lanche da tarde	
Jantar	
Ceia	
Café da manhã	

Figura 8. Imagem representativa indicando o recordatório alimentar utilizado para registrar a ingestão calórica e os macronutrientes nas fases do CM.

3.6 Análise estatística

Uma análise de modelo misto foi realizada para cada variável dependente (E2, P4, EM e ASTM), para comparação das fases de dois CM (FOL1, OVU1, LUT1, FOL2, OVU2 e LUT2) (GraphPad Prism, Version 8.0.2). As fases foram utilizadas como fatores fixos e as participantes como fatores aleatórios. Em caso de um valor de F significativo, o ajuste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas. Adicionalmente, uma subamostra ($n = 13$) foi analisada incluindo somente as participantes que atendiam ao critério de aumento do E2 na OVU em relação a FOL, independente da magnitude de aumento. Para que esse critério fosse possível de ser adotado, apenas um CM de cada participante foi incluído. Uma análise de modelo misto foi realizada para comparação entre as fases do CM (FOL, OVU e LUT) para as mesmas variáveis descritas anteriormente. Em caso de um valor de F significativo, o ajuste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas. Além disso, ainda com a subamostra,

realizamos uma análise de correlação de Person entre o percentual de alteração dos parâmetros musculares (i.e., EM e ASTM) e o percentual de alteração do E2 e da P4 (i.e., alterações da FOL para a OVU, da OVU para a LUT e da LUT para a FOL). Por fim, foram analisadas as alterações individuais da EM e ASTM da FOL para a OVU, da OVU para a LUT e da LUT para a FOL. Foram consideradas mudanças verdadeiras as alterações que estivessem acima ou abaixo de dois coeficientes de variação (+3,78% e -3,78% para EM e +5,12% e -5,12% para ASTM). O nível de significância assumida foi de $P < 0,05$. Os resultados são apresentados em média \pm desvio padrão.

4 RESULTADOS

Das 100 participantes que foram avaliadas para elegibilidade, 35 iniciaram o estudo, 29 completaram as coletas de dados e 22 apresentaram CM dentro da normalidade e, portanto, foram analisadas (estatura: $163,3 \pm 5,4$ cm; massa corporal: $61,8 \pm 8,8$ kg; idade: $26,0 \pm 4,5$ anos). Dessa forma, durante a coleta 6 mulheres desistiram por motivos pessoais e posteriormente após a obtenção dos resultados hormonais, 7 foram excluídas por não atenderem aos critérios de duração do CM (21 a 35 dias) e confirmação da LUT, ou seja, comprimento da LUT entre 11 e 17 dias (TSAMPOUKOS *et al.*, 2010) e razão LUT/FOL > 1) (BOURQUE *et al.*, 1986). A duração média do CM, comprimento da LUT e razão LUT/FOL do ciclo 1 foram respectivamente: $28,07 \pm 2,69$ dias; $14,10 \pm 1,45$ dias e $5,28 \pm 3,96$ pg/ml. A duração média do CM, comprimento da LUT e razão LUT/FOL do ciclo 2 foram respectivamente: $28,14 \pm 2,43$ dias; $13,93 \pm 1,34$ dias e $5,55 \pm 3,67$ pg/ml. A figura 9 mostra um fluxograma que contém informações sobre a coleta e análise dos dados.

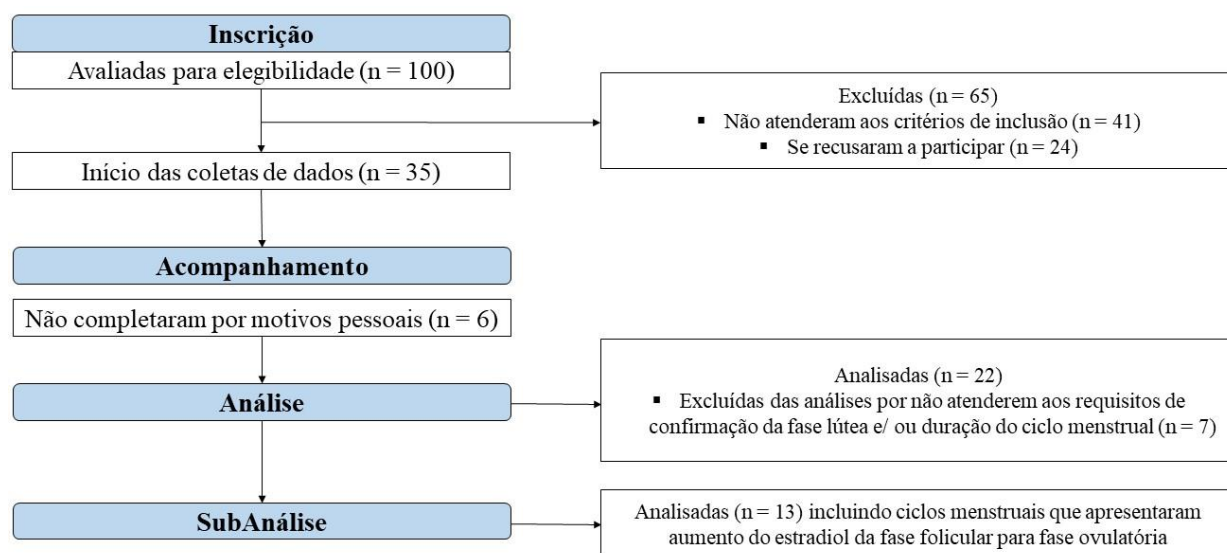


Figura 9. Fluxograma do processo de coleta e análise de dados.

4.1 Análises considerando os dois ciclos menstruais (n = 22)

4.1.1 Análises hormonais

As concentrações hormonais de P4 flutuaram para todas as 22 participantes nos dois CM. As análises de medidas repetidas revelaram um efeito significativo das fases do CM ($F_{12, 271} = 15,90$; $p < 0,0001$). O post hoc revelou valores significativamente maiores de P4 na LUT1 e LUT2 comparado com a FOL1 ($p = 0,017$ e $p = 0,039$, respectivamente), OVU1 ($p = 0,0008$

e $p = 0,008$, respectivamente), FOL2 ($p = 0,012$ e $p = 0,0007$, respectivamente) e OVU2 ($p = 0,008$ e $p = 0,006$, respectivamente) (Figura 10).

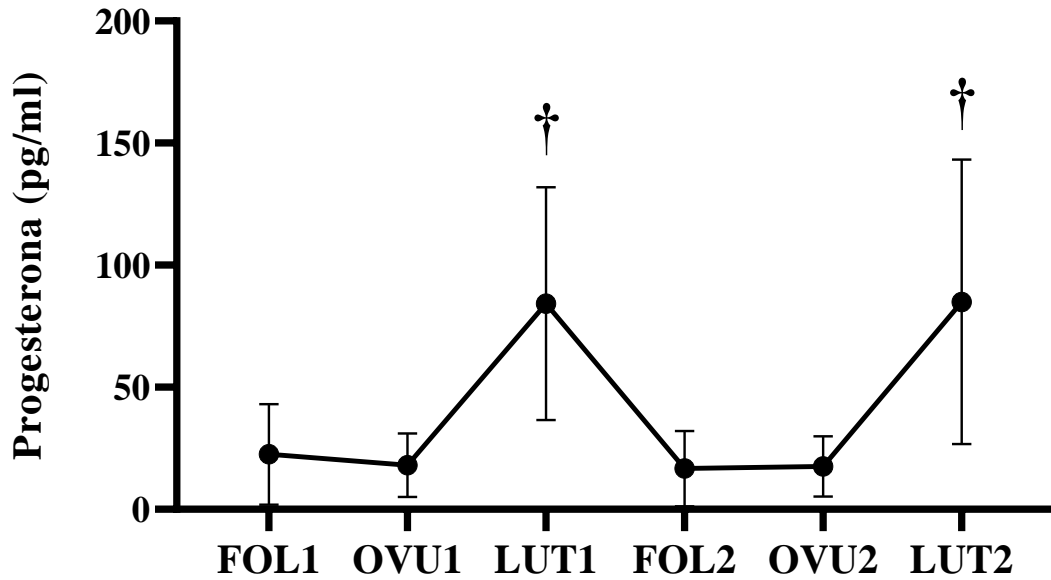


Figura 10. Concentrações de progesterona nas fases do ciclo menstrual ($n = 22$). FOL1: Fase folicular do primeiro ciclo; OVU1: Fase ovulatória do primeiro ciclo; LUT1: Fase lútea do primeiro ciclo; FOL2: Fase folicular do segundo ciclo; OVU2: Fase ovulatória do segundo ciclo e LUT2: Fase lútea do primeiro ciclo. † Diferença significativa comparado com as fases FOL1, OVU1, FOL2 e OVU2 ($p < 0,05$).

Para as concentrações de E2, a análise de medidas repetidas não detectou diferenças significantes entre as fases do CM ($F_{[3, 56]} = 1,49; p = 0,219$) (Figura 11).

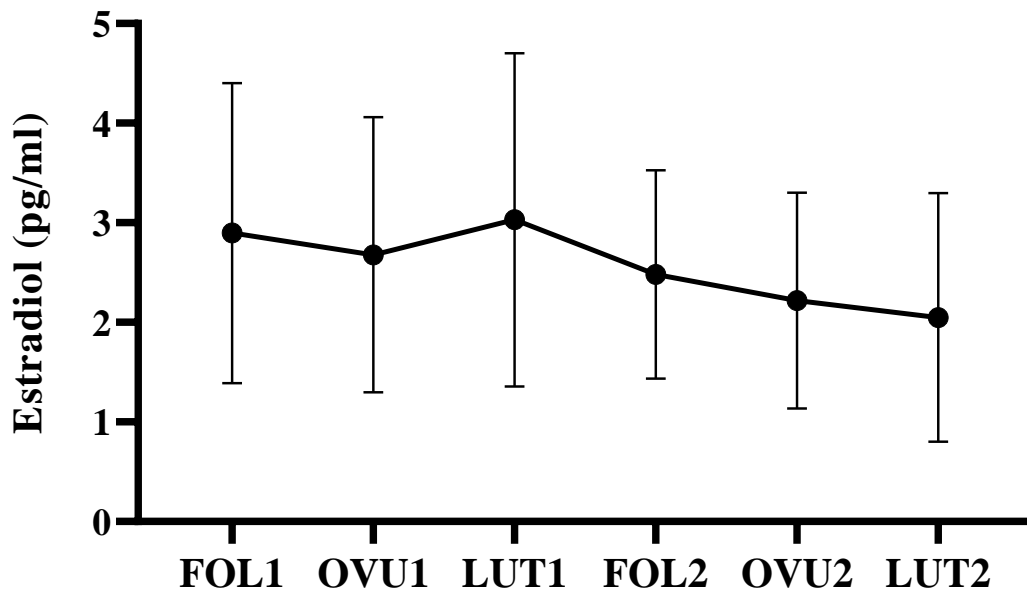


Figura 11. Concentrações de estradiol nas fases do ciclo menstrual (n = 22). FOL1: Fase folicular do primeiro ciclo; OVU1: Fase ovulatória do primeiro ciclo; LUT1: Fase lútea do primeiro ciclo; FOL2: Fase folicular do segundo ciclo 2; OVU2: Fase ovulatória do segundo ciclo e LUT2: Fase lútea do segundo ciclo.

4.1.2 Espessura muscular

A análise de medidas repetidas não revelou diferenças significantes na EM nas fases do CM ($F_{[1, 15]} = 0,49; p = 0,491$) (Figura 12).

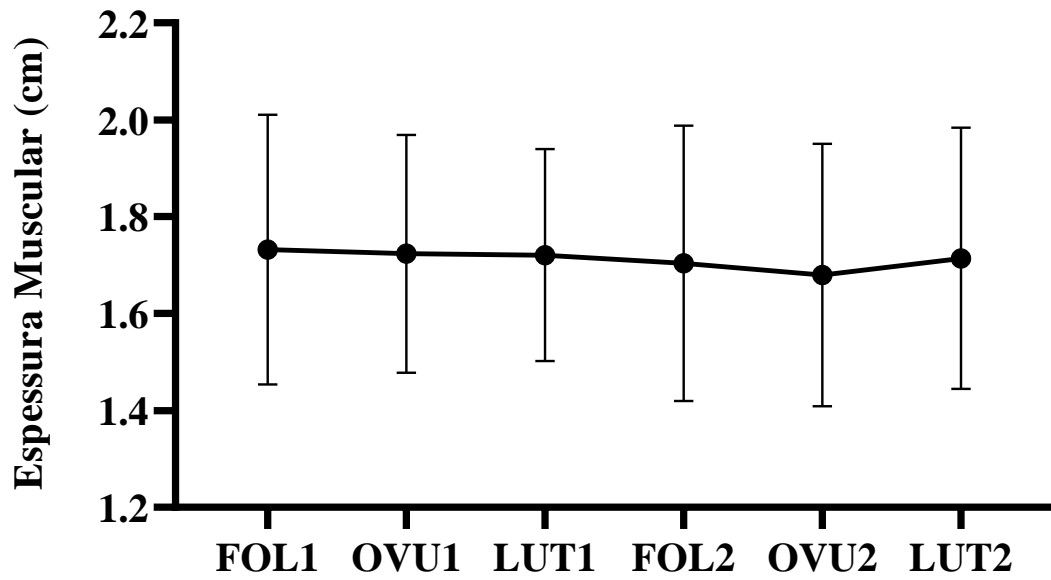


Figura 12. Espessura muscular nas fases do ciclo menstrual (n = 22). FOL1: Fase folicular do primeiro ciclo; OVU1: Fase ovulatória do primeiro ciclo; LUT1: Fase lútea do primeiro ciclo; FOL2: Fase folicular do segundo ciclo; OVU2: Fase ovulatória do segundo ciclo e LUT2: Fase lútea do segundo ciclo.

4.1.3 Área de secção transversa muscular

Da mesma forma, a análise de medidas repetidas não revelou diferenças significantes na ASTM nas fases do CM ($F_{[0, 6]} = 0,84$; $p = 0,279$) (Figura 13).

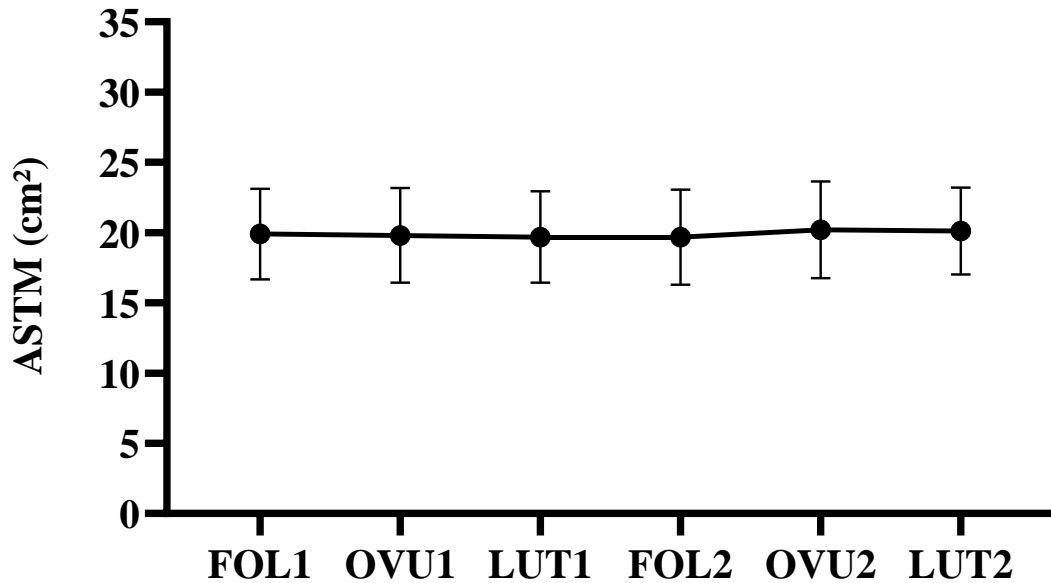


Figura 13. Área de secção transversa muscular (ASTM) nas fases do ciclo menstrual (n = 22). FOL1: Fase folicular do primeiro ciclo; OVU1: Fase ovulatória do primeiro ciclo; LUT1: Fase lútea do primeiro ciclo; FOL2: Fase folicular do segundo ciclo; OVU2: Fase ovulatória do segundo ciclo e LUT2: Fase lútea do segundo ciclo.

4.1.4 Recordatório alimentar

Não houve diferenças significantes entre as fases do CM na ingestão de calorias totais ($F_{[1, 13]} = 0,92$; $p = 0,419$), carboidratos ($F_{[2, 18]} = 0,85$; $p = 0,468$), proteínas ($F_{[2, 16]} = 0,25$; $p = 0,806$) e lipídios ($F_{[1, 9]} = 2,12$; $p = 0,189$) (Tabela 1).

Tabela 1. Informações nutricionais de cada fase dos ciclos menstruais (n = 22).

Variáveis	FOL1	OVU1	LUT1	FOL2	OVU2	LUT2
Calorias (kcal)	1584,6 ± 561,0	1687,7 ± 534,8	1769,0 ± 649,8	1975,3 ± 689,8	2004,8 ± 728,1	1630,7 ± 623,4
Carboidratos (g)	190,7 ± 49,8	224,1 ± 72,3	219,5 ± 99,2	257,0 ± 93,2	235,2 ± 75,8	213,0 ± 91,3
Proteínas (g)	75,1 ± 19,8	73,0 ± 29,9	69,2 ± 36,6	76,5 ± 28,4	84,2 ± 52,2	71,2 ± 34,8
Lipídios (g)	46,2 ± 22,9	57,8 ± 25,0	54,2 ± 27,5	54,0 ± 17,6	108,8 ± 111,8	51,7 ± 23,2

FOL1: Fase folicular do primeiro ciclo; OVU1: Fase ovulatória do primeiro ciclo; LUT1: Fase lútea do primeiro ciclo; FOL2: Fase folicular do segundo ciclo; OVU2: Fase ovulatória do segundo ciclo e LUT2: Fase lútea do segundo ciclo.

4.2 Análises considerando uma subamostra que apresentou aumentos do estradiol na OVU ($n = 13$)

4.2.1 Análises hormonais

Ao observarmos o comportamento não esperado do E2 envolvendo nossa amostra total, investigamos uma subamostra de 13 participantes em que o E2 aumentou da FOL para OVU. Dessa forma, todos os CM que não apresentaram esse comportamento no E2 foram excluídos dessa análise. Para as participantes que aumentaram o E2 em ambos os CM, somente aquele com maior aumento de E2 na OVU em relação a FOL foi analisado.

As concentrações de E2 foram significativamente diferentes entre as fases do CM ($F_{[1, 16]} = 5,23$; $p = 0,026$). O post hoc demonstrou que o E2 foi significativamente maior na OVU que na FOL ($p = 0,001$), sem diferenças entre FOL vs LUT ($p = 0,142$) e OVU vs LUT ($p = 0,641$) (figura 14).

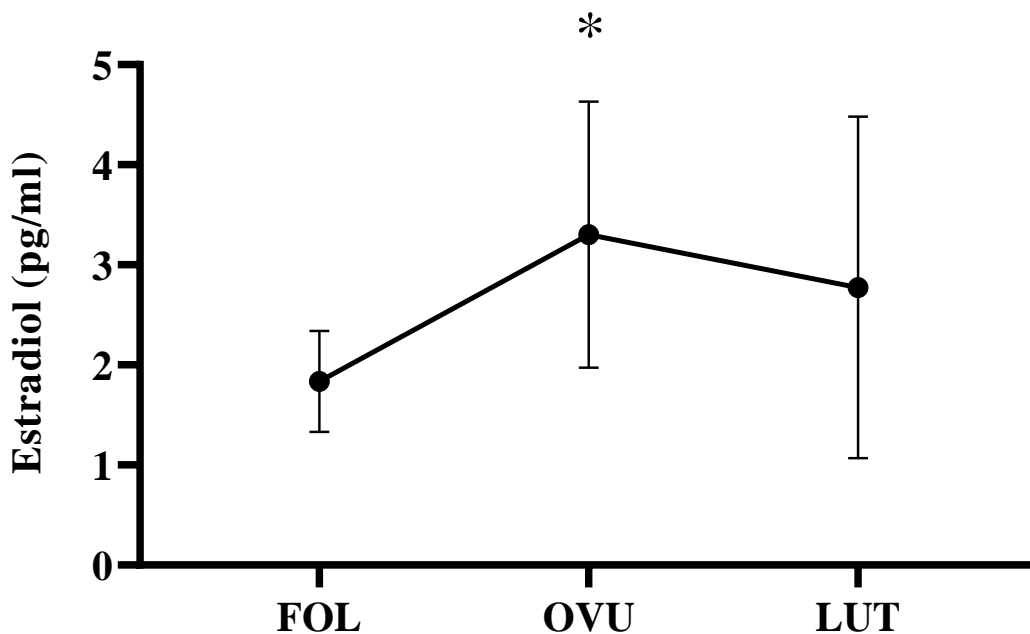


Figura 14. Concentrações de estradiol nas fases do ciclo menstrual ($n = 13$). FOL: Fase folicular; OVU: Fase ovulatória e LUT: Fase lútea. *Diferença significativa comparado com a FOL ($p < 0,05$).

Os resultados revelaram que as concentrações de P4 foram significativamente diferentes entre as fases do CM ($F_{[1, 8]} = 15,07$; $p = 0,004$). O post hoc indicou que a P4 foi significativamente maior na LUT comparado a FOL ($p = 0,017$) e OVU ($p = 0,0009$), sem diferenças significantes entre a FOL e OVU ($p = 0,431$) (Figura 15).

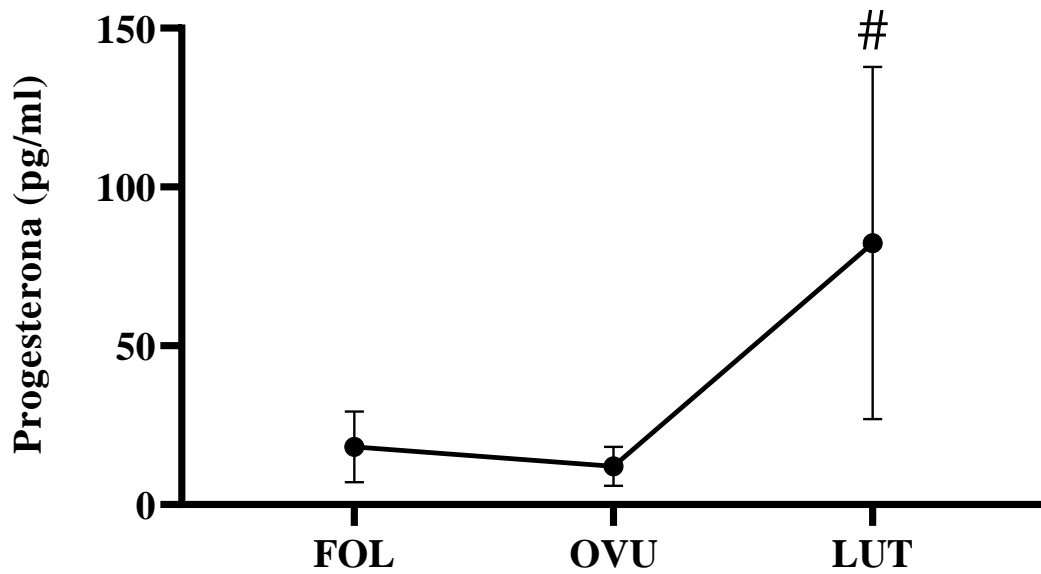


Figura 15. Concentrações de progesterona nas fases do ciclo menstrual (n = 13). FOL: Fase folicular; OVU: Fase ovulatória e LUT: Fase lútea. [#]Diferença significativa comparado com FOL e OVU ($p < 0,05$).

4.2.2 Espessura muscular

Ao analisarmos a subamostra, a EM também não foi significativamente diferente entre as fases do CM ($F_{[1, 17]} = 0,23$; $p = 0,717$) (Figura 16).

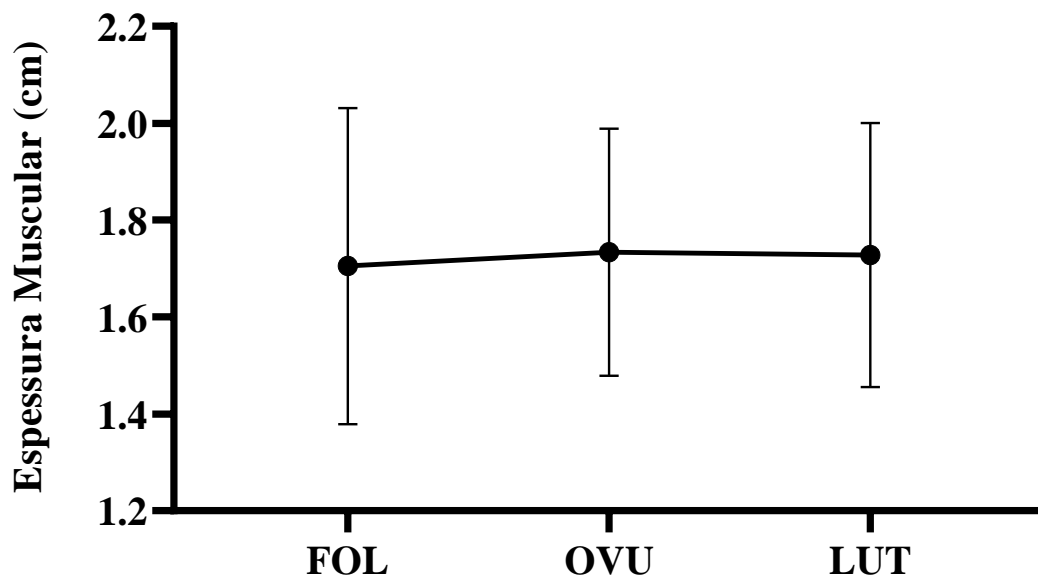


Figura 16. Espessura muscular nas fases do ciclo menstrual (n=13). FOL: Fase Folicular; OVU: Fase Ovulatória e LUT: Fase Lútea.

4.2.3 Área de secção transversa muscular

Da mesma forma, a ASTM também não foi significativamente diferente entre as fases do CM ($F_{[1, 20]} = 0,81$; $p = 0,440$) (Figura 17).

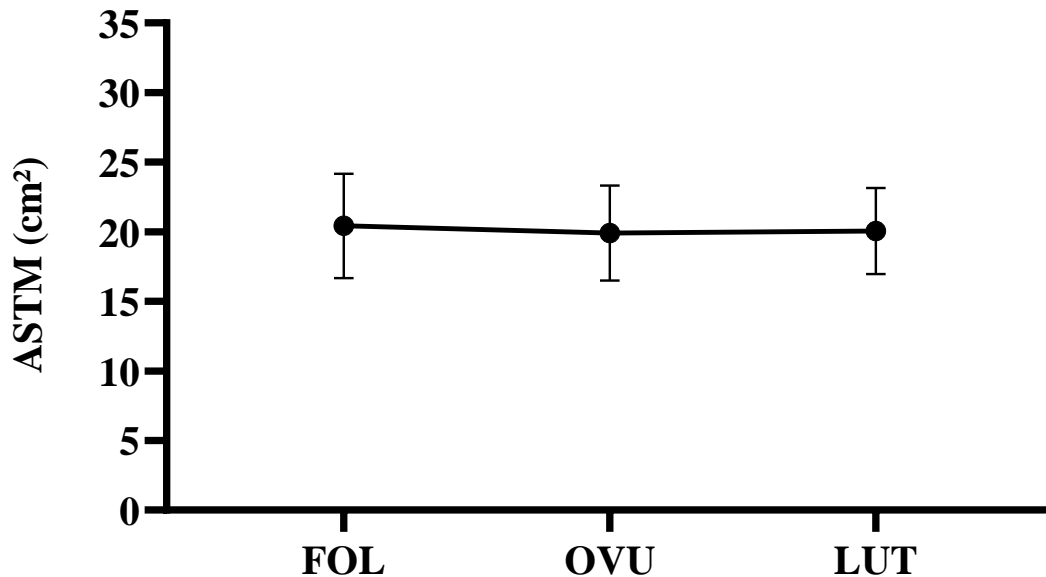


Figura 17. Área de secção transversa muscular (ASTM) nas fases do ciclo menstrual (n=13). FOL: Fase Folicular; OVU: Fase Ovulatória e LUT: Fase Lútea.

4.2.4 Análises individuais

Para as análises individuais, nós realizamos uma análise de correlação entre o percentual de alteração da EM e o percentual de alteração dos níveis de E2 e P4 entre as fases do CM. Não foram observadas correlações significantes entre as alterações da EM e as alterações do E2 (FOL vs OVU: $r = -0,165$; $p = 0,587$; OVU vs LUT: $r = -0,400$; $p = 0,175$; LUT vs FOL: $r = -0,255$; $p = 0,400$), bem como entre as alterações da EM e as alterações da P4 (FOL vs OVU: $r = 0,022$; $p = 0,961$; OVU vs LUT: $r = 0,457$; $p = 0,183$; LUT vs FOL: $r = 0,037$; $p = 0,903$). Também não foram observadas correlações significantes entre as alterações da ASTM e as alterações do E2 (FOL vs OVU: $r = -0,151$; $p = 0,622$; OVU vs LUT: $r = 0,036$; $p = 0,905$; LUT vs FOL: $r = -0,478$; $p = 0,098$), bem como entre as alterações da ASTM e as alterações da P4 (FOL vs OVU: $r = -0,507$; $p = 0,245$; OVU vs LUT: $r = 0,377$; $p = 0,281$; LUT vs FOL: $r = 0,030$; $p = 0,947$).

Além das análises de correlação, nós analisamos quantas participantes apresentaram mudanças na EM e na ASTM além de dois coeficientes de variação. Para EM, seis participantes apresentaram aumentos da FOL para a OVU. Por outro lado, quatro apresentaram diminuição

da espessura abaixo de dois coeficientes de variação. Quando comparada as mudanças da OVU para a LUT, três participantes apresentaram aumentos, enquanto quatro apresentaram diminuição. Finalmente, quando a LUT foi comparada a FOL, cinco participantes aumentaram, enquanto quatro diminuíram a EM (Figura 18).

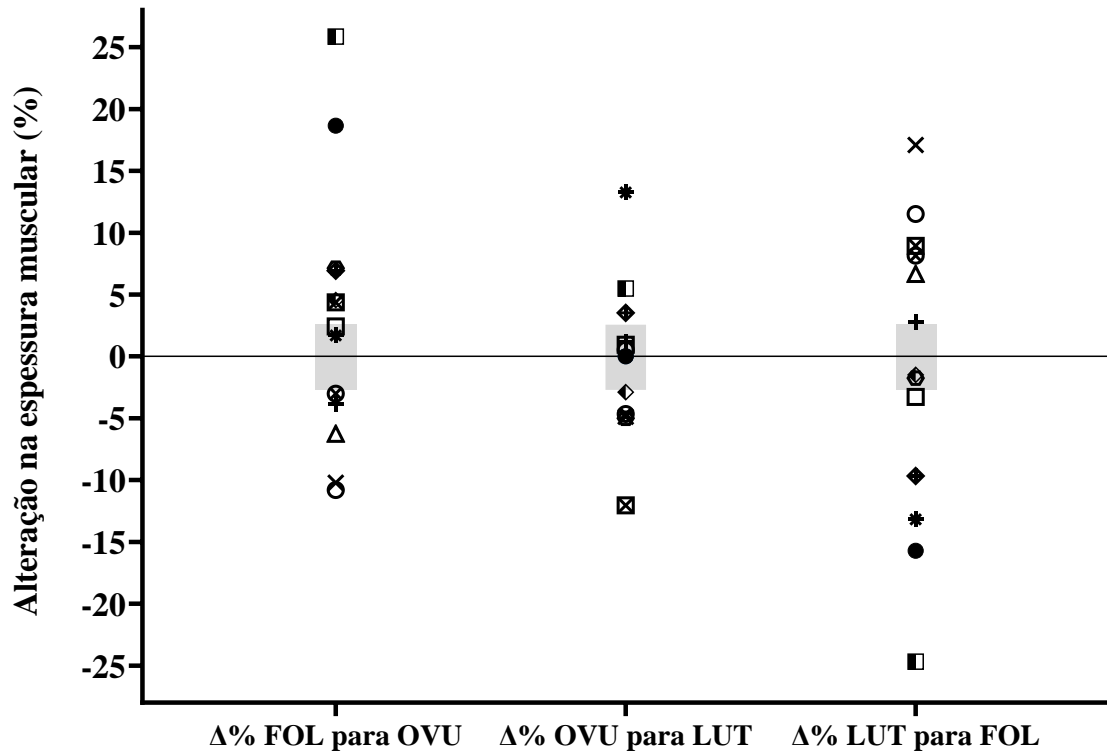


Figura 18. Análises individuais do percentual de mudança da espessura muscular entre as fases do ciclo menstrual ($n = 13$). Cada símbolo representa uma participante e os retângulos em cinza representam dois coeficientes de variação. FOL: Fase folicular; OVU: Fase ovulatória e LUT: Fase lútea.

Para a ASTM, duas participantes apresentaram aumentos da FOL para a OVU acima de dois coeficientes de variação. Por outro lado, cinco apresentaram diminuição da área. Quando comparada as mudanças da OVU para a LUT, três participantes apresentaram aumentos, enquanto três apresentaram diminuição. Finalmente, quando a LUT foi comparada a FOL, cinco participantes aumentaram, enquanto três diminuíram a ASTM (Figura 19).

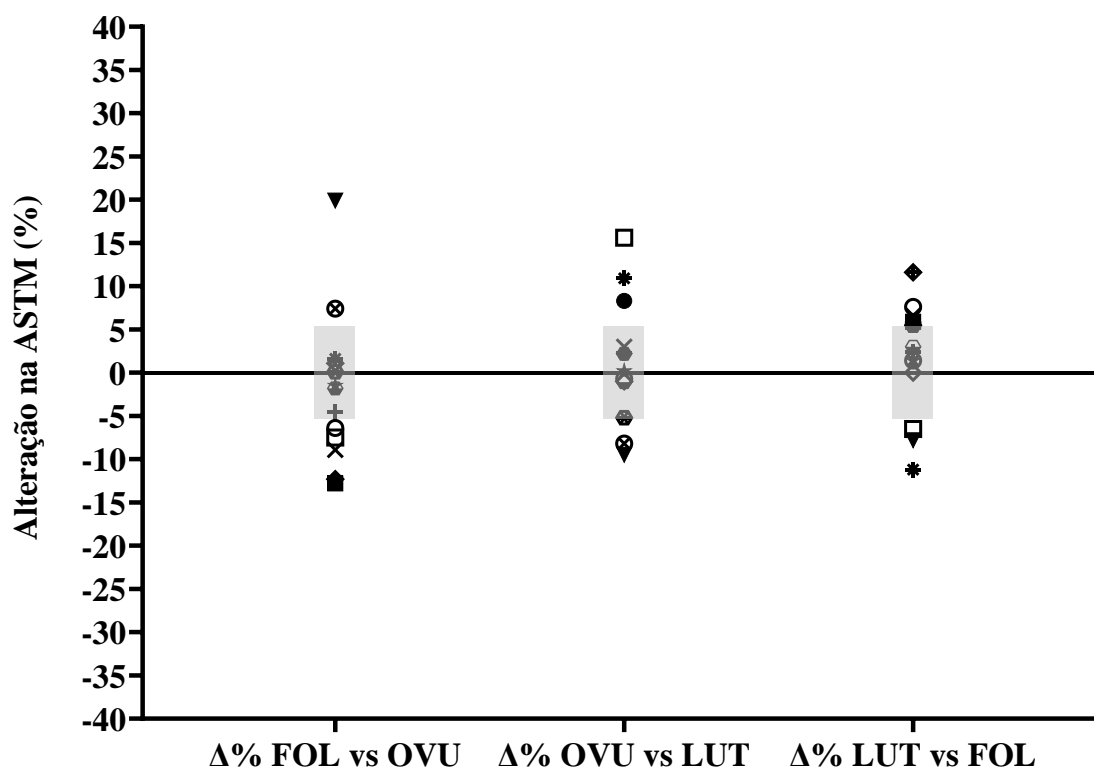


Figura 19. Análises individuais do percentual de mudança da área de secção transversa muscular (ASTM) entre as fases do ciclo menstrual ($n = 13$). Cada símbolo representa uma participante e os retângulos em cinza representam dois coeficientes de variação. FOL: Fase folicular; OVU: Fase ovulatória e LUT: Fase lútea.

4.2.5 Recordatório Alimentar

Não houve diferenças significantes entre as fases do CM na ingestão de calorias totais ($F_{[1, 9]} = 1,25$; $p = 0,325$), carboidratos ($F_{[1, 9]} = 0,22$; $p = 0,801$), proteínas ($F_{[1, 6]} = 0,07$; $p = 0,850$) e lipídios ($F_{[1, 9]} = 3,82$; $p = 0,058$) (tabela 2).

Tabela 2. Informações nutricionais entre as fases do ciclo menstrual ($n = 13$).

Variáveis	FOL	OVU	LUT
Calorias (kcal)	1615,0 ± 536,8	1891,8 ± 432,6	1610,5 ± 759,6
Carboidratos (g)	214,1 ± 99,7	231,3 ± 53,9	203,6 ± 116,7
Proteínas (g)	70,0 ± 24,5	68,0 ± 18,5	64,1 ± 40,9
Lipídios (g)	48,5 ± 11,6	72,6 ± 28,6	47,6 ± 30,0

FOL: Fase folicular; OVU: Fase ovulatória e LUT: Fase lútea.

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito das fases do ciclo menstrual a nível de grupo

Os principais achados do nosso estudo revelaram que a EM e a ASTM não diferiram nas diferentes fases do CM. Ao considerar as análises dos dois CM, verificamos um aumento nas concentrações de P4 na LUT1 e na LUT2, que é o padrão típico observado durante o CM regular. No entanto, as concentrações de E2 não oscilaram nas fases de ambos os ciclos. Como avaliamos a FOL nos primeiros dias do CM (i.e., entre os dias 1 e 4), visando encontrar baixas concentrações de E2 e P4, esperávamos encontrar um aumento do E2 na OVU, uma vez que esse hormônio começa a aumentar no fim da FOL para induzir o aumento do LH e ovulação. Uma possível explicação para a não diferença desse hormônio ao longo do CM em nosso estudo é que, como da FOL para a OVU o aumento e a queda do E2 ocorrem de maneira rápida (CHATTERTON *et al.*, 2005), suas concentrações possuem grande variabilidade intersujeitos (SUNDSFJORD *et al.*, 1973; THOMPSON *et al.*, 2019). Além disso, pode-se especular que algumas participantes foram avaliadas na curva descendente do E2, visto que a avaliação desta fase ocorreu dentro de 48 horas do teste positivo de ovulação. A ovulação de fato parece ocorrer dentro de 48 horas do teste positivo de LH (MILLER *et al.*, 1996; SCHAUMBERG *et al.*, 2017). No entanto, mais pontos de avaliação nesta fase possivelmente minimizaria o problema encontrado em nosso estudo com relação a não detecção do aumento E2 em alguns CM. Uma vez que o E2 parece ter uma influência no sistema renina angiotensina aldosterona, aumentando componentes como angiotensinogênio e arginina vasopressina, (STACHENFELD, 2008) resultando em possível retenção hídrica (FRUZZETTI *et al.*, 2007), a não detecção do aumento do E2 observado em nosso estudo poderia explicar também a não alteração da EM e da ASTM. Para solucionar essa questão, investigamos uma subamostra (n = 13) de participantes que apresentaram aumentos do E2 na OVU. Nossos achados revelaram que apesar do aumento do E2 nessa subamostra, a EM e a ASTM não diferiram nas diferentes fases do CM. Portanto, embora o E2 e a P4 pareçam afetar a distribuição dos fluidos corporais, isso parece ser apenas afetado a nível celular, não refletindo em mudanças a nível macroscópico. Algumas evidências demonstraram alterações na massa muscular ao longo do CM (STACHÓN, 2016; TOMAZO-RAVNIK *et al.*, 2006). No entanto, esses estudos utilizaram a bioimpedância, a qual não é o método mais adequado para mensurar a massa muscular, visto que é uma medida de composição corporal que estima a massa muscular através de equações de predição. Além disso, os autores não realizaram controle alimentar e as fases do CM não foram determinadas

precisamente, o que pode ter afetado os resultados. Em contrapartida, nosso estudo está de acordo com as evidências atuais no que diz respeito aos controles metodológicos, principalmente com relação a determinação da fase do CM (RAEL et al., 2020; THOMPSON et al., 2021).

5.2 Efeito das fases do ciclo menstrual a nível individual

As análises individuais realizadas em nossa subamostra não demonstraram correlações significantes entre as alterações nos parâmetros musculares (EM e ASTM) e alterações dos hormônios E2 e P4 nas fases do CM. Além das análises de correlação, investigamos as alterações individuais da EM e ASTM nas fases do CM. Nós observamos que tanto a EM quanto a ASTM variaram acima e abaixo de dois coeficientes de variação, indicando que houveram mudanças no músculo esquelético para algumas participantes ao longo das fases do CM. A discordância entre o número de mulheres que apresentaram aumentos ou diminuições na EM e ASTM, pode estar relacionado ao fato de a medida de EM ser unidimensional e a de ASTM bidimensional. Como não encontramos correlações significantes entre as alterações dos parâmetros musculares (i.e., EM e ASTM) e as alterações no E2 e na P4, parece que essas mudanças no tecido muscular não estão associadas diretamente ao comportamento desses hormônios. Porém, embora a EM e a ASTM não tenham sido alteradas nas fases do CM a nível de grupo, foram observadas mudanças a nível individual (aumento ou diminuição da espessura e ASTM). Isso sugere que algum mecanismo fisiológico, seja relacionado a hidratação ou algum fenômeno transitório possa estar envolvido com as mudanças musculares ao longo do CM para algumas mulheres. No entanto, parece que tais mudanças no músculo esquelético a nível individual também são observadas na população masculina (AHTIAINEN *et al.*, 2016), o que indica que esse tecido pode naturalmente mudar ou flutuar ao longo do tempo mesmo sem a influência dos hormônios relacionados ao CM. Dessa forma, futuros estudos são necessários para explicar quais fenômenos de fato podem estar envolvidos nessas mudanças.

5.3 Limitações

Uma das limitações do nosso estudo é que não mensuramos a distribuição de água corporal (água corporal total, água extracelular e água intracelular) e os componentes que possuem relação com a regulação dos fluidos corporais (i.e., aldosterona, renina, angiotensinogênio, arginina vasopressina, entre outros), para investigar de fato se os hormônios do CM podem ocasionar retenção hídrica. Nosso estudo contou com uma perda amostral de

aproximadamente 37%, principalmente por questões relacionadas ao CM, o que reduziu nosso poder estatístico. Outro ponto que deve ser ressaltado é que as informações nutricionais obtidas em nosso estudo se basearam no autorrelato o qual está sujeita a erros. Por fim, não houveram avaliações médicas ginecológicas previamente ao estudo para coletar informações sobre as patologias relacionadas ao CM, embora tenhamos utilizado o autorrelato.

6 CONCLUSÃO

Variações hormonais decorrentes do CM não afetam a EM e ASTM do VL. No entanto, mudanças neste tecido podem ser observadas a nível individual nas fases do CM, mas sem associações com os hormônios E2 e P4.

7 REFERÊNCIAS

- ABE, T.; DEHOYOS, D. V.; POLLOCK, M. L. *et al.* Time Course for Strength and Muscle Thickness Changes Following Upper and Lower Body Resistance Training in Men and Women. **European Journal of Applied Physiology**, 81, n. 3, p. 174-180, 2000.
- AHTIAINEN, J. P.; WALKER, S.; PELTONEN, H. *et al.* Heterogeneity in Resistance Training-Induced Muscle Strength and Mass Responses in Men and Women of Different Ages. **Journal Age**, 38, p. 1-13, 2016.
- BOURQUE, J.; SULON, J.; DEMEY-PONSART, E. *et al.* A Simple, Direct Radioimmunoassay for Salivary Progesterone Determination During the Menstrual Cycle. **Clinical Chemistry**, 32, n. 6, p. 948-951, 1986.
- BUCKINX, F.; LANDI, F.; CESARI, M. *et al.* Pitfalls in the Measurement of Muscle Mass: A Need for a Reference Standard. **Journal of Cachexia, Sarcopenia Muscle** 9, n. 2, p. 269-278, 2018.
- BUFFET, N. C.; DJAKOURE, C.; MAITRE, S. C. *et al.* Regulation of The Human Menstrual Cycle. **Frontiers in Neuroendocrinology** 19, n. 3, p. 151-186, 1998.
- CHATTERTON, R. T.; MATEO, E. T.; HOU, N. *et al.* Characteristics of Salivary Profiles of Oestradiol and Progesterone in Premenopausal Women. **Journal of Endocrinology**, 186, n. 1, p. 77-84, 2005.
- DAVIS, G. C.; GIBSON, K. J.; CASLEY, D. *et al.* Angiotensin II/Angiotensin (1–7) Ratio and 24-h Blood Pressure Throughout the Menstrual Cycle and in Women Using Oral Contraceptives. **Journal of Hypertension**, 35, n. 6, p. 1178-1186, 2017.
- FRUZZETTI, F.; LELLO, S.; LAZZARINI, V. *et al.* The Oral Contraceptive Containing 30 µg of Ethinylestradiol Plus 3 mg of Drospirenone is Able to Antagonize the Increase of Extracellular Water Occurring in Healthy Young Women During the Luteal Phase of the Menstrual Cycle: An Observational Study. **Contraception**, 75, n. 3, p. 199-203, 2007.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12º Edição ed. Elsevier Health Sciences, 2011.
- JANSE DE JONGE, X.; THOMPSON, B. M.; HAN, A. Methodological Recommendations for Menstrual Cycle Research in Sports and Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise** 51, n. 12, p. 2610-2617, 2019.
- KRISHNAN, S.; TRYON, R. R.; HORN, W. F. *et al.* Estradiol, SHBG and Leptin Interplay With Food Craving and Intake Across the Menstrual Cycle. **Physiology & Behavior** 165, p. 304-312, 2016.
- KUROSUKI DE BOLD, M. L. Estrogen, Natriuretic Peptides and the Renin-Angiotensin System. **Cardiovascular Research**, 41, n. 3, p. 524-531, 1999.
- LANGER, R. D.; BORGES, J. H.; PASCOA, M. A. *et al.* Validity of Bioelectrical Impedance

Analysis to Estimation Fat-Free Mass in the Army Cadets. **Nutrients**, 8, n. 3, p. 121, 2016.

LEE, S. Y.; AHN, S.; KIM, Y. J. *et al.* Comparison Between Dual-Energy X-Ray Absorptiometry and Bioelectrical Impedance Analyses for Accuracy in Measuring Whole Body Muscle Mass and Appendicular Skeletal Muscle Mass. **Nutrients**, 10, n. 6, p. 738, 2018.

LING, C. H.; DE CRAEN, A. J.; SLAGBOOM, P. E. *et al.* Accuracy of Direct Segmental Multi-Frequency Bioimpedance Analysis in the Assessment of Total Body and Segmental Body Composition in Middle-Aged Adult Population. **Clinical Nutrition**, 30, n. 5, p. 610-615, 2011.

LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BOTTARO, M. *et al.* Vastus Lateralis Muscle Cross-Sectional Area Ultrasonography Validity for Image Fitting in Humans. **The Journal of Strength & Conditioning Research** 28, n. 11, p. 3293-3297, 2014.

MILLER, P. B.; SOULES, M. R. The Usefulness of a Urinary LH Kit for Ovulation Prediction During Menstrual Cycles of Normal Women. **Obstetrics & Gynecology** 87, n. 1, p. 13-17, 1996.

RAEL, B.; ROMERO-PARRA, N.; ALFARO-MAGALLANES, V. M. *et al.* Body Composition Over the Menstrual and Oral Contraceptive Cycle in Trained Females. **International Journal of Sports Physiology Performance** 16, n. 3, p. 375-381, 2020.

SCARPELLI, M. C.; NÓBREGA, S. R.; SANTANIELO, N. *et al.* Muscle Hypertrophy Response Is Affected by Previous Resistance Training Volume in Trained Individuals. **Journal of Strength and Conditioning Research**, 2022.

SCHAUMBERG, M. A.; JENKINS, D. G.; DE JONGE, X. A. J. *et al.* Three-Step Method for Menstrual and Oral Contraceptive Cycle Verification. **Journal of Science Medicine in Sport** 20, n. 11, p. 965-969, 2017.

SCHMALENBERGER, K. M.; TAUSEEF, H. A.; BARONE, J. C. *et al.* How to Study the Menstrual Cycle: Practical Tools and Recommendations. **Psychoneuroendocrinology**, 123, p. 104895, 2021.

SCHOENFELD, B. J.; VIGOTSKY, A.; CONTRERAS, B. *et al.* Differential Effects of Attentional Focus Strategies During Long-Term Resistance Training. **European Journal of Sport Science**, 18, n. 5, p. 705-712, 2018.

STACHENFELD, N. S. Sex Hormone Effects on Body Fluid Regulation. **Exercise Sport Sciences Reviews**, 36, n. 3, p. 152, 2008.

STACHÓN, A. J. Menstrual Changes in Body Composition of Female Athletes. **Collegium Antropologicum**, 40, n. 2, p. 111-122, 2016.

SUNDSFJORD, J. A.; AAKVAAG, A. Variations in Plasma Aldosterone and Plasma Renin Activity Throughout the Menstrual Cycle, with Special Reference to the Pre-Ovulatory

Period. **European Journal of Endocrinology**, 73, n. 3, p. 499-508, 1973.

TEIXEIRA, V.; VOICI, S. M.; MENDES-NETTO, R. S. *et al.* The Relative Validity of a Food Record Using the Smartphone Application MyFitnessPal. **Nutrition Dietetics**, 75, n. 2, p. 219-225, 2018.

THOMPSON, B.; ALMARJAWI, A.; SCULLEY, D. *et al.* The Effect of the Menstrual Cycle and Oral Contraceptives on Acute Responses and Chronic Adaptations to Resistance Training: A Systematic Review of the Literature. **Sports Medicine**, 50, n. 1, p. 171-185, 2019.

THOMPSON, B. M.; HILLEBRANDT, H. L.; SCULLEY, D. V. *et al.* The Acute Effect of the Menstrual Cycle and Oral Contraceptive Cycle on Measures of Body Composition. **European Journal of Applied Physiology** 121, n. 11, p. 3051-3059, 2021.

TOMAZO-RAVNIK, T.; JAKOPIČ, V. Changes in Total Body Water and Body Fat in Young Women in the Course of Menstrual Cycle. **International Journal of Anthropology**, 21, n. 1, p. 55-60, 2006.

TSAMPOUKOS, A.; PECKHAM, E. A.; JAMES, R. *et al.* Effect of Menstrual Cycle Phase on Sprinting Performance. **European Journal of Applied Physiology**, 109, n. 4, p. 659-667, 2010.

APÊNDICE A: Questionário sobre o ciclo menstrual das participantes

<p>QUESTIONÁRIO PARA OBTENÇÃO DE INFORMAÇÕES SOBRE O CICLO MENSTRUAL DAS PARTICIPANTES</p> <p>Este questionário destina-se a ajudar a equipe de estudo a entender o funcionamento do seu ciclo menstrual.</p>	<p>NOTA PARA A EQUIPE DE PESQUISA:</p>
<p>(1) Qual é a sua idade?</p>	
<p>(2) Qual é o número típico de dias entre o início de uma hemorragia menstrual e o início do sangramento menstrual do próximo mês (nota: 28 dias é a média)?</p>	<p><i>Se menor que 21 ou maior que 35, provavelmente não é apropriado para a medição do ciclo.</i></p>
<p>(3) Você está grávida ou amamentando? Por favor, selecione SIM ou NÃO.</p> <p><input type="radio"/> Sim</p> <p><input type="radio"/> Não</p>	<p><i>Não ou ovulação inconsistente, pessoa não apropriada para medição de ciclo.</i></p>
<p>(4) Você está usando um dispositivo intrauterino (IUD)? Por favor, selecione SIM ou NÃO.</p> <p><input type="radio"/> SIM, MIRENA IUD quando foi colocado (mês/ano)?</p> <p><input type="radio"/> SIM, SKYLA IUD quando foi colocado (mês/ano)?</p> <p><input type="radio"/> SIM, DIU DE COBRE quando foi colocado (mês/ano)?</p> <p><input type="radio"/> Não</p>	<p><i>Ovulação inconsistente, pessoa NÃO apropriada para estudos de ciclo.</i></p> <p><i>NÃO impede a ovulação, OK para participar.</i></p> <p><i>NÃO impede a ovulação, OK para participar.</i></p>
<p>(5) Atualmente você está utilizando pílulas anticoncepcionais orais, adesivos contraceptivos, implante ou injeção contraceptiva ou anel vaginal contraceptivo? Por favor, selecione SIM ou NÃO.</p> <p><input type="radio"/> Sim</p> <p><input type="radio"/> Não</p>	<p><i>SEM OVULAÇÃO, pessoa não apropriada para medição de ciclo.</i></p>

<p>(6) Você já fez alguma cirurgia envolvendo seu sistema reprodutivo? Por favor, selecione SIM ou NÃO.</p> <p><input type="radio"/> Sim Por favor, descreva:</p> <p><input type="radio"/> Não</p>	<p><i>A ooforectomia bilateral induz a menopausa cirúrgica = NÃO elegíveis para estudos de ciclo; a ooforectomia unilateral preserva o ciclo menstrual normal = elegível para estudos de ciclo; histerectomia ou ablação removerá sangramento, mas não o ciclo hormonal = elegível para estudos de ciclo.</i></p>
---	---

<p>(7) Você foi diagnosticado com alguma condição ginecológica ou alguma condição médica que você saiba que afete seus hormônios? Por favor, selecione SIM ou NÃO.</p> <p><input type="radio"/> Sim Por favor, liste:</p> <p><input type="radio"/> Não</p>	
---	--

<p>(8) Liste todos os medicamentos que você está tomando atualmente, incluindo dosagens e propósito.</p>	
---	--

<p>(9) Você prevê alguma mudança futura em seu estado reprodutivo ou função? Por exemplo, algumas pessoas escrevem coisas como: "Estou tentando engravidar", "estou prestes a começar injeções de testosterona", ou "Estou prestes a começar uma nova pílula contraceptiva oral". Se você não tem nada a acrescentar, você pode deixar isso em branco.</p>
