

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

**ENYA TIEMI DE ALMEIDA NACAFUCASACO**

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS PARA ANÁLISE DA  
REPRODUTIBILIDADE DA ARQUITETURA MUSCULAR DO  
MÚSCULO VASTO LATERAL POR  
ULTRASSONOGRAFIA**

SÃO CARLOS

2025

ENYA TIEMI DE ALMEIDA NACAFUCASACO

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS PARA ANÁLISE DA  
REPRODUTIBILIDADE DA ARQUITETURA MUSCULAR DO MÚSCULO  
VASTO LATERAL POR ULTRASSONOGRAFIA

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas – Associação Ampla UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi

SÃO CARLOS

2025

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

**Folha de aprovação**

Parecer da comissão examinadora que avaliou a Defesa de Mestrado da candidata Enya Tiemi de Almeida Nacafucasaco, realizada em 25 de março de 2025.

Membros da Banca Examinadora:

Presidente titular: Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi (UFSCar)

Membro titular: Prof. Dr. Manoel Emílio Lixandrão (University of Colorado)

Membro titular: Prof. Dr. Vitor Angleri (Centro Universitário Claretiano)

Membros suplentes:

Membro suplente: Prof. Dr. Felipe Cassaro Vechin (USP)

Membro suplente: Prof. Dr. Gerson Jonathan Rodrigues (UFSCar)

Membro suplente: Prof. Dr. Wladimir Beck (UFSCar)



**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 Enya Tiemi de Almeida Nacafucasaco, realizada em 25/03/2025.

**Comissão Julgadora:**

Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi (UFSCar)

Prof. Dr. Manoel Emilio Lixandrão (Colorado)

Prof. Dr. Vitor Angleri (CEUCLAR)

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

***Dedicatória***

Ao meu pai (*in memoriam*) Julio Mitsuo  
Nacafucasaco, meu refúgio familiar, que  
sempre acompanhou meus passos e minha  
trajetória.

## AGRADECIMENTOS

À vida, por nos permitir esforços diários, realizações, momentos de alegria e tristeza.

À minha família, a dádiva da minha vida. Em especial, à minha mãe, Maria Cristina de Almeida Nacafucasaco, uma mãe e mulher exemplar, minha maior apoiadora! Meu irmão, Artur Kioshi de Almeida Nacafucasaco, meu maior orgulho! Meu padrasto Jorge Kanda, que sempre incentivou meus estudos e meus trabalhos.

Ao meu falecido pai, Julio Mitsuo Nacafucasaco, meu refúgio e meu exemplo de caráter íntegro!

Ao meu amado companheiro, João Guilherme Almeida Bergamasco, pelo primeiro apoio na trajetória acadêmica e hoje sendo um grande apoiador na trajetória da vida.

À Universidade Federal de São Carlos, por residir meu local de estudos. Ao meu orientador Dr. Cleiton Augusto Libardi, por tantos conselhos, ensinamentos e oportunidades.

Aos meus colegas de laboratório, por todo alicerce e ensinamentos, em especial ao meu colega Deivid Gomes da Silva, pelo apoio inicial e durante todo meu processo acadêmico.

Aos meus amigos, Robson Cazuo Horiqini e Matheus Garcia, que acompanharam toda minha jornada em uma nova cidade e em uma nova trajetória acadêmica.

## **APOIO FINANCEIRO**

Agradeço à CAPES (Processo N.º 88887.856899/2023-00) pela bolsa de mestrado.

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi comparar dois protocolos de reprodutibilidade de medidas da arquitetura muscular [área de secção transversa (AST), espessura muscular (EM), comprimento do fascículo (CF) e ângulo de penação (AP)] do vasto lateral (VL) por ultrassonografia (US): 1) uma única aquisição de imagens seguida por duas quantificações com intervalo de 72 horas (protocolo 1X); 2) duas aquisições de imagens seguidas por duas quantificações, ambas separadas por 72 horas (protocolo 2X). Uma amostra composta por 54 indivíduos, tiveram as pernas direita e esquerda avaliadas por US, totalizando 104 unidades experimentais. Dados de quantificação da arquitetura muscular foram obtidos, seus respectivos valores de erro típico (ET) e coeficiente de variação (CV) e gráficos de viés analisados por Bland-Altman. Os resultados demonstraram menores valores de ET e CV para o protocolo 1X (AST: ET = 0,510 cm<sup>2</sup> e CV = 2,313%; EM: e ET = 0,120 cm e CV = 6,225%; CF: ET = 0,205 cm e CV = 3,000%; AP: ET = 0,550° e CV = 3,684%) em comparação ao protocolo 2X (AST: ET = 0,920 cm<sup>2</sup> e CV = 4,151%; EM: ET = 0,120 cm e CV = 6,225%; CF: ET = 0,480 cm e CV = 6,879%; AP: ET = 1,148° e CV = 7,823%). Os dados analisados por teste t e teste de Wilcoxon revelaram uma diferença significativa entre as diferenças médias de 1X e 2X para CF ( $p < 0,001$ ) e AP ( $p < 0,026$ ), enquanto não foram observadas diferenças significativas para AST ( $p < 0,895$ ) e EM ( $p < 0,637$ ). O teste de Levene apontou diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre as variâncias das diferenças médias em todos os parâmetros de arquitetura muscular. Como conclusão, nossos resultados sugerem que a variabilidade das medidas de arquitetura muscular do vasto lateral é influenciada pelo protocolo de reprodutibilidade adotado. A inclusão de duas aquisições independentes de imagens resultou em maior variabilidade entre medições. Esses achados reforçam a importância de considerar as fontes de erro associadas ao avaliador e à variabilidade biológica ao interpretar mudanças na arquitetura muscular.

**Palavras-chave:** arquitetura muscular; ultrassonografia; reprodutibilidade

## ABSTRACT

The objective of the present study was to compare two protocols for the reproducibility of muscle architecture measurements [cross-sectional area (CSA), muscle thickness (MT), fascicle length (FL), and pennation angle (PA)] of the vastus lateralis (VL) using ultrasonography (US): (1) a single image acquisition followed by two quantifications with a 72-hour interval (protocol 1X); (2) two image acquisitions followed by two quantifications, both separated by 72 hours (protocol 2X). A sample of 54 individuals had their right and left legs assessed by US, totaling 104 experimental units. Quantification data for muscle architecture were obtained, along with their respective typical error (TE) and coefficient of variation (CV) values, and bias plots analyzed using the Bland-Altman method. The results demonstrated lower TE and CV values for protocol 1X (CSA: TE = 0.510 cm<sup>2</sup> and CV = 2.313%; MT: TE = 0.120 cm and CV = 6.225%; FL: TE = 0.205 cm and CV = 3.000%; PA: TE = 0.550° and CV = 3.684%) compared to protocol 2X (CSA: TE = 0.920 cm<sup>2</sup> and CV = 4.151%; MT: TE = 0.120 cm and CV = 6.225%; FL: TE = 0.480 cm and CV = 6.879%; PA: TE = 1.148° and CV = 7.823%). Data analyzed using the t-test and Wilcoxon test revealed a significant difference between the mean differences of 1X and 2X for FL ( $p < 0.001$ ) and PA ( $p < 0.026$ ), while no significant differences were observed for CSA ( $p < 0.895$ ) and MT ( $p < 0.637$ ). Levene's test indicated a significant difference ( $p < 0.001$ ) between the variances of the mean differences in all muscle architecture parameters. In conclusion, our results suggest that the variability of vastus lateralis muscle architecture measurements is influenced by the reproducibility protocol adopted. The inclusion of two independent image acquisitions resulted in greater variability between measurements. These findings reinforce the importance of considering sources of error associated with the evaluator and biological variability when interpreting changes in muscle architecture.

**Keywords:** muscle architecture; ultrasonography; reproducibility

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Desenho experimental dos protocolos de aquisições e quantificações de imagens obtidas por ultrassonografia.....	19
<b>Figura 2.</b> Imagem representativa da área de secção transversa do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia, e suas respectivas estruturas da musculatura visualizadas. ....	20
<b>Figura 3.</b> Imagem longitudinal representativa do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia, e suas respectivas estruturas da musculatura visualizadas.....	21
<b>Figura 4.</b> Imagem representativa da área de secção transversa do músculo vasto lateral (VL), obtida por ultrassonografia e analisada no software ImageJ, após reconstrução manual. Estruturas adjacentes identificadas: RF (Reto Femoral), VI (Vasto Intermédio) e Fêmur. ....	22
<b>Figura 5.</b> Imagem representativa das imagens para análise do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia e analisada pelo software ImageJ. A) Espessura muscular (EM). B) Comprimento do fascículo (CF). C) Ângulo de penação (AP). ....	23
<b>Figura 6.</b> Comparação entre as análises dos protocolos de área de secção transversa (AST) por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X. $\delta$ = viés, $+\vartheta$ = limite de concordância superior, $-\vartheta$ = limite de concordância inferior. ....	26
<b>Figura 7.</b> Comparação entre a média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para a área de secção transversa do vasto lateral. ....	27
<b>Figura 8.</b> Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para área de secção transversa muscular do vasto lateral.....	27
<b>Figura 9.</b> Comparação entre as análises dos protocolos de espessura muscular do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X. $\delta$ = viés, $+\vartheta$ = limite de concordância superior, $-\vartheta$ = limite de concordância inferior. ....	29
<b>Figura 10.</b> Comparação entre a média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para espessura muscular. ....	30
<b>Figura 11.</b> Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para espessura muscular. ....	30
<b>Figura 12.</b> Comparação entre as análises dos protocolos de comprimento do fascículo do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X. $\delta$ = viés, $+\vartheta$ = limite de concordância superior, $-\vartheta$ = limite de concordância inferior.....	32
<b>Figura 13.</b> Comparação entre média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para comprimento do fascículo do vasto lateral. ....	33

<b>Figura 14.</b> Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para comprimento do fascículo do vasto lateral. ....	33
<b>Figura 15.</b> Comparação entre as análises dos protocolos de ângulo de penetração do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X. $\delta$ = viés, $+\theta$ = limite de concordância superior, $-\theta$ = limite de concordância inferior. ....	35
<b>Figura 16.</b> Comparação entre média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para ângulo de penetração do vasto lateral. ....	36
<b>Figura 17.</b> Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para ângulo de penetração do vasto lateral. ....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Ângulo de Penação
AST	Área de Secção Transversa
CF	Comprimento do Fascículo
CV	Coefficiente de Variação
DP	Desvio Padrão
EM	Espessura Muscular
VL	Vasto Lateral
US	Ultrassonografia

## LISTA DE EQUAÇÕES

$$ET = \frac{DPdif(T_{d1} - T_{d2})}{\sqrt{2}} \quad (1)$$

$$CV = \frac{ETdif(T_{d1} - T_{d2})}{\text{média}(T_{d1}; T_{d2})} \times 100 \quad (2)$$

$$\Delta 1X = \frac{\sum_{i=1}^n (1X_{d2,i} - 1X_{d1,i})}{n} \quad (3)$$

$$\Delta 2X = \frac{\sum_{i=1}^n (2X_{d2,i} - 2X_{d1,i})}{n} \quad (4)$$

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
HIPÓTESE .....	17
MÉTODOS.....	18
PARTICIPANTES .....	18
DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	18
Aquisição das imagens de ultrassonografia.....	19
Protocolo 1X.....	21
Protocolo 2X.....	21
Arquitetura muscular .....	21
Análise Estatística .....	23
RESULTADOS .....	25
ÁREA DE SECÇÃO TRANSVERSA MUSCULAR.....	25
ESPESSURA MUSCULAR.....	28
COMPRIMENTO DO FASCÍCULO .....	31
ÂNGULO DE PENAÇÃO .....	34
DISCUSSÃO.....	37
ÁREA DE SECÇÃO TRANSVERSA E ESPESSURA MUSCULAR .....	37
COMPRIMENTO DO FASCÍCULO E ÂNGULO DE PENAÇÃO .....	38
LIMITAÇÕES.....	39
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS .....	41

## INTRODUÇÃO

O músculo esquelético possui a capacidade de se adaptar a diferentes condições. Alterações em seu tamanho como hipertrofia ou atrofia, podem ocorrer em resposta a diversos estímulos, incluindo treinamento físico (STOKES; TIMMONS; CROSSLAND; TRIPP *et al.*, 2020), destreino (HALONEN; GABRIEL; KELAHAARA; AHTIAINEN *et al.*, 2024), desuso (HOLLOWAY; MCGLORY; MCKELLAR; MORGAN *et al.*, 2019), envelhecimento (JANSSEN; HEYMSFIELD; ROSS, 2002) e doenças (POWERS; LYNCH; MURPHY; REID *et al.*, 2016). Essas alterações no músculo esquelético possuem relações com funcionalidade, desempenho físico e com risco de mortalidade por diversas causas (LI; XIA; ZHANG; GATHIRUA-MWANGI *et al.*, 2018). Por isso, torna-se necessário o uso de métodos e técnicas que mensurem com precisão as alterações no músculo esquelético considerando análises macroscópicas (e.g., arquitetura muscular), que podem ser utilizadas nas práticas científica e clínica (HAUN; VANN; ROBERTS; VIGOTSKY *et al.*, 2019).

Métodos de análise por imagens foram amplamente utilizados nas últimas décadas para quantificar parâmetros de arquitetura muscular como a área de secção transversa (AST), espessura muscular (EM), comprimento do fascículo (CF) e ângulo de penação (AP) (EMA; WAKAHARA; MIYAMOTO; KANEHISA *et al.*, 2013; MARTIN-RODRIGUEZ; GONZALEZ-HENRIQUEZ; DIAZ-CONDE; CALBET *et al.*, 2024). Dentre os equipamentos que avaliam a arquitetura muscular por imagem, a ultrassonografia (US) é reconhecida como um método não-invasivo, acessível e de menor custo em comparação com a ressonância magnética (LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BOTTARO; CHACON-MIKAHIL *et al.*, 2014; REEVES; MAGANARIS; NARICI, 2004; SILVA; SILVA; ANGLERI; SCARPELLI *et al.*, 2024; STOKES; TIMMONS; CROSSLAND; TRIPP *et al.*, 2020). Embora a avaliação dos parâmetros de arquitetura muscular por meio da US tenha sido amplamente validada (BETZ; WEHRSTEIN; PREISNER; BENDSZUS *et al.*, 2021; FILIPPO; LARS; MARIA; SANDRA *et al.*, 2019; KWAH; PINTO; DIONG; HERBERT, 2013; LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BOTTARO; CHACON-MIKAHIL *et al.*, 2014; REEVES; MAGANARIS; NARICI, 2004; STOKES; TIMMONS; CROSSLAND; TRIPP *et al.*, 2020), esse procedimento exige controles metodológicos rigorosos a fim de minimizar os erros de mensuração em suas múltiplas etapas. Além dos cuidados com a devida manutenção do equipamento e ambiente de avaliação, há outras potenciais fontes de erro: 1) avaliador (e.g., aquisição e análise das imagens) e, 2) variação biológica do indivíduo (i.e., alterações que podem ocorrer no músculo esquelético ao

longo do tempo). No que se refere as fontes de erro relacionadas ao avaliador, alguns cuidados podem ser realizados a fim de minimizar a sua influência. Por exemplo, a aplicação adequada de gel condutor entre a sonda linear e a pele, aliada à minimização da pressão manual excessiva, é essencial para obter imagens de alta qualidade sem deformação das estruturas morfológicas (i.e., pele, fêmur, aponeuroses profunda e superior). Além disso, a quantificação da arquitetura muscular deve ser realizada de acordo com os padrões metodológicos estabelecidos, garantindo a mensuração precisa de parâmetros como AST, EM, AP e CF, os quais são determinados com base na correta identificação e segmentação das estruturas musculares visualizadas (BLAZEVIICH; CANNAVAN; COLEMAN; HORNE, 2007; SILVA; SILVA; ANGLERI; SCARPELLI *et al.*, 2024). Já em relação à variação biológica inerente ao indivíduo, fatores como o estado de hidratação e a atividade física prévia podem afetar as análises por US (LOHMANN; HILLEBRECHT; SCHIEMANN; WARNEKE, 2024). Embora essas fontes de erro possam ser minimizadas, elas não são eliminadas. Dessa forma, para que o real efeito de uma intervenção possa ser obtido, é necessário conhecer o tamanho do erro de mensuração. Em outras palavras, além da padronização dos procedimentos na aplicação do protocolo de ultrassonografia, é fundamental quantificar as fontes de erro para determinar se as mudanças observadas refletem variações reais no músculo esquelético (HOPKINS, 2000).

Para quantificar o erro inerente ao avaliador e à variação biológica, é necessário repetir a medição após um intervalo de tempo suficiente para que essas fontes de variabilidade se manifestem, garantindo uma avaliação adequada da reprodutibilidade da medida (ATKINSON; NEVILL, 1998; HOPKINS, 2000). A obtenção de duas aquisições independentes, que incluam as principais fontes de erro – erro do avaliador e variação biológica do indivíduo – possibilita quantificar a magnitude dessas variações nos parâmetros de arquitetura muscular. Para essa análise, utilizam-se métricas estatísticas como o erro típico (ET) e o coeficiente de variação (CV), que mensuram a variabilidade entre duas ou mais medições (ATKINSON; BATTERHAM, 2015; ATKINSON; NEVILL, 1998; HOPKINS, 2000). Além disso, a dispersão dos dados entre as medições pode ser analisada para identificar a extensão da variabilidade, bem como possíveis padrões de fontes de erro. Essa dispersão pode ser visualizada por meio de gráficos de Bland-Altman (1986), que avaliam a concordância entre medidas e fornecem uma estimativa da confiabilidade dos dados obtidos por US.

Embora a quantificação do erro de mensuração seja essencial, muitos estudos que investigam os efeitos de intervenções nos parâmetros de arquitetura muscular não relatam essas informações. Além disso, quando o erro de mensuração é reportado, sua estimativa muitas vezes

se baseia em apenas uma aquisição de imagens US, conforme observado em uma revisão que analisou vários estudos sobre o tema (KWAH; PINTO; DIONG; HERBERT, 2013). Como consequência, o erro de mensuração é calculado a partir da repetição da análise sobre a mesma imagem, sem considerar variações decorrentes de diferentes aquisições. Esse procedimento desconsidera fontes importantes de erro associadas ao avaliador (e.g., pressão da sonda, identificação das regiões de interesse), além da variação biológica do indivíduo. Quando se utiliza uma única aquisição de imagens seguida por duas quantificações em um determinado intervalo de tempo, a variabilidade entre medições pode ser subestimada, resultando em menores valores de ET e CV, menor dispersão dos dados e maior concordância entre medições, em comparação com a abordagem que envolve duas aquisições seguidas por duas quantificações. Esses fatores podem comprometer a precisão na estimativa das alterações na arquitetura muscular ao longo do tempo em resposta a uma intervenção. Embora seja plausível que a variabilidade da mensuração aumente quando tanto a aquisição das imagens quanto a variabilidade biológica são consideradas, até o momento, nenhum estudo comparou diretamente essas duas abordagens na análise da reprodutibilidade.

## **OBJETIVOS**

O objetivo do presente estudo foi comparar a variabilidade das medidas de arquitetura muscular do músculo vasto lateral entre dois protocolos de reprodutibilidade (1X e 2X), considerando parâmetros como área de secção transversa, espessura muscular, comprimento de fascículo e ângulo de penação.

## **HIPÓTESE**

O protocolo 2X apresentará maior variabilidade entre medições do que o protocolo 1X, devido à inclusão de duas aquisições independentes de imagens.

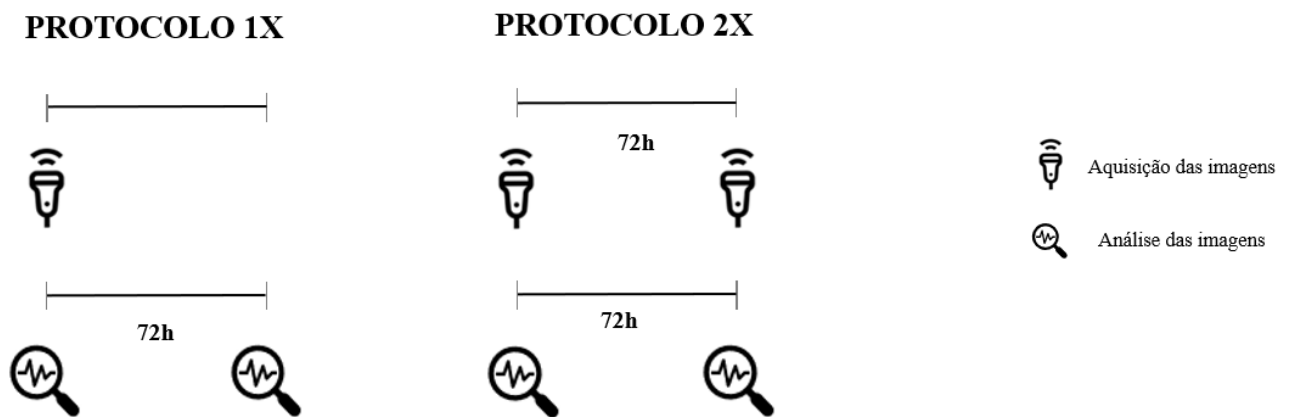
## **MÉTODOS**

### **Participantes**

Foram recrutados 54 indivíduos (29 mulheres) com idades entre 18 e 35 anos que não estivessem engajados em quaisquer programas de treinamento de força nos últimos 6 meses, não possuíssem doenças ou distúrbios musculoesqueléticos e autodeclarassem livres de consumo de drogas e medicamentos que afetassem a função muscular. Todos os participantes foram informados sobre possíveis riscos e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esse estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de São Carlos (Número: 5.505.441).

### **Delineamento experimental**

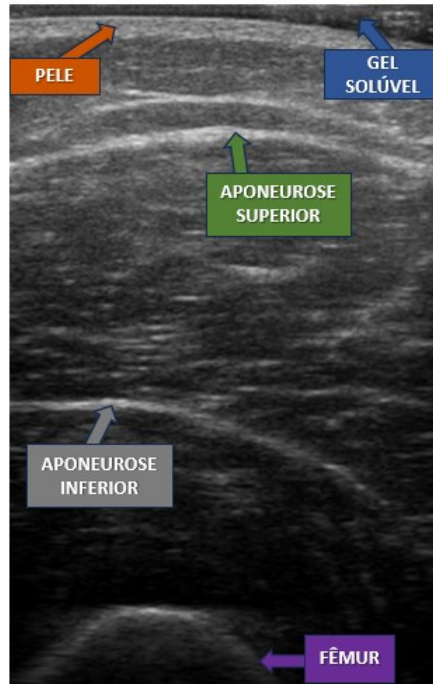
Em duas visitas distintas, realizadas em um intervalo de 72h, foram realizadas aquisições de imagens de US. Os participantes foram instruídos a se abster da prática de atividades físicas por pelo menos 72h anteriores a cada uma das avaliações. A quantificação da AST, EM, CF e AP para realização da reprodutibilidade das medidas, foram realizadas por meio de dois diferentes protocolos: 1) protocolo 1X: utilização apenas das imagens adquiridas na primeira visita, as quais foram usadas para quantificação da AST, EM, CF e AP em dois dias com intervalo de 72h; 2) protocolo 2X, utilização das imagens coletadas nas duas visitas, as quais também foram utilizadas para quantificação da AST, EM, CF e AP em dois dias com intervalo de 72h entre eles (Figura 1). Os indivíduos tiveram as duas pernas (i.e., direita e esquerda) analisadas e cada uma alocada como uma unidade experimental. No total, 104 unidades experimentais foram avaliadas, considerando as duas visitas de avaliação por US. Quatro participantes tiveram apenas uma das pernas analisada devido a problemas na recuperação das imagens armazenadas.



**Figura 1.** Desenho experimental dos protocolos de aquisições e quantificações de imagens obtidas por ultrassonografia.

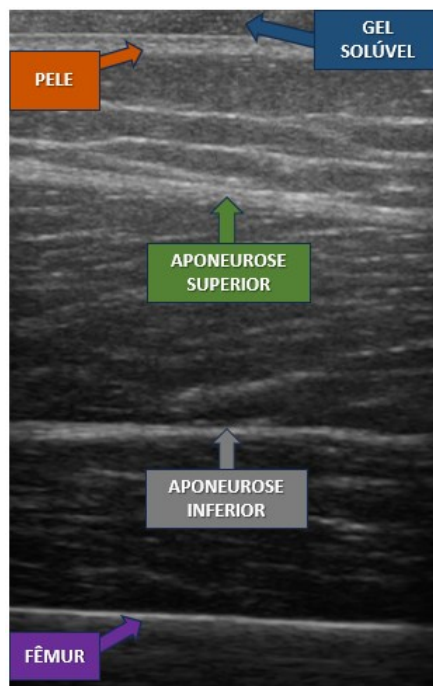
### **Aquisição das imagens de ultrassonografia**

As imagens utilizadas para o cálculo da AST do VL foram obtidas por meio de US, de acordo com Lixandrão et al. (2014). Brevemente, o participante foi posicionado em decúbito dorsal e, por meio de palpação manual, foram identificados o trocânter maior e o epicôndilo lateral, a fim de identificar o ponto médio do fêmur. A partir deste ponto, marcas sucessivas foram feitas transversalmente, tanto na direção medial quanto na lateral, em intervalos de 2 cm, para guiar o deslocamento da sonda no plano sagital. Foi permitido então que o participante repousasse por 15 minutos para permitir homogeneização dos fluidos corporais. Em seguida, imagens sequenciais do músculo VL foram coletadas com orientação médio-lateral utilizando um equipamento de ultrassom modo B, com sonda linear configurada a 7,5 MHz (Samsung, MySono U6, São Paulo, Brasil). Gel de transmissão foi utilizado para garantir o acoplamento acústico entre a sonda e a pele com mínima compressão epidérmica. As imagens foram salvas quando aparentavam ter qualidade suficiente para analisar as estruturas da musculatura envolvida, ilustradas na Figura 2.



**Figura 2.** Imagem representativa da área de secção transversa do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia, e suas respectivas estruturas da musculatura visualizadas.

A aquisição das imagens de EM, CF e AP do VL foi realizada no mesmo momento de aquisição de imagens de AST, respeitando os procedimentos metodológicos descritos em Blazeovich et al. (2007). Brevemente, após as marcações supracitadas e o repouso em decúbito dorsal, as imagens utilizadas foram obtidas com a sonda orientada de maneira longitudinal. Três imagens consecutivas foram adquiridas no ponto medial e salvas quando consideradas satisfatórias, sem compressão dérmica e de maneira que a aponeurose superior e inferior e os fascículos pudessem ser visualizados – como ilustrado na figura 3.



**Figura 3.** Imagem longitudinal representativa do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia, e suas respectivas estruturas da musculatura visualizadas.

### **Protocolo 1X**

Para o protocolo 1X, as imagens adquiridas na primeira visita foram exportadas em pastas e codificadas por um pesquisador colaborador para realizar o cegamento do avaliador. As imagens foram então recortadas, analisadas e quantificadas. Após um intervalo estabelecido de 72h, as mesmas imagens foram novamente recortadas, analisadas e quantificadas para cada uma das variáveis dependentes. As análises desse protocolo foram nomeadas de  $1X_{d1}$  e  $1X_{d2}$ .

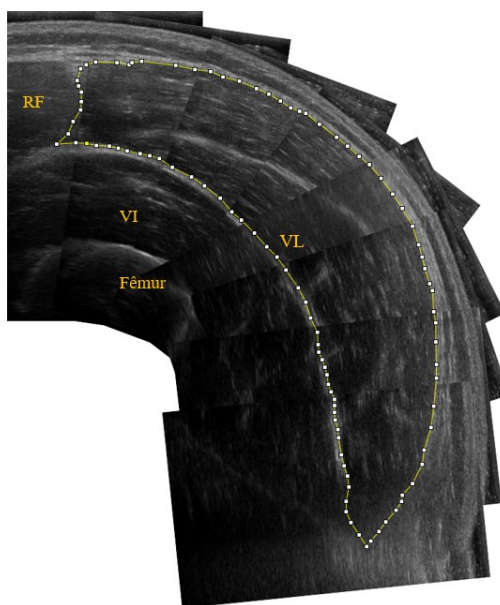
### **Protocolo 2X**

Para o protocolo 2X, as imagens adquiridas nas duas visitas realizadas em um intervalo de 72h, foram recortadas, analisadas e quantificadas, após codificação realizada por um pesquisador colaborador. Após um intervalo mínimo de 72h, as imagens da segunda visita foram recortadas, analisadas e quantificadas para cada variável dependente do estudo. As análises desse protocolo foram nomeadas de  $2X_{d1}$  e  $2X_{d2}$ .

### **Arquitetura muscular**

Para a análise da AST do músculo VL, os procedimentos foram realizados de acordo com Lixandrão et al. (2014). As imagens sequenciais de AST foram montadas manualmente

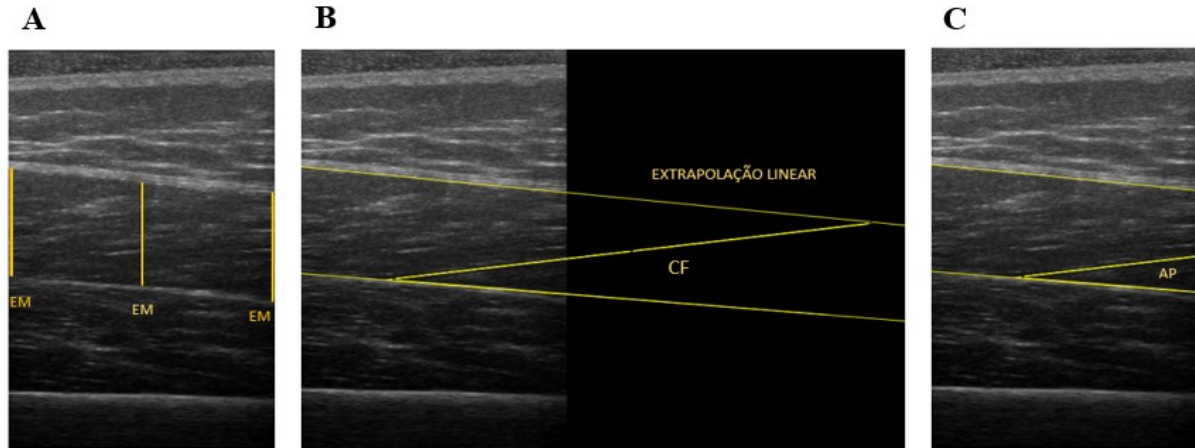
por meio do uso do software PowerPoint. As imagens sequenciais eram alocadas de maneira a reconstruir o formato completo do músculo VL, seguindo o direcionamento das aponeuroses e fascículos. Com a imagem total reconstruída, utilizando a ferramenta “Polygon” do software ImageJ, a área do VL foi delimitada. Essa delimitação permite excluir áreas de tecido conjuntivo, pele e outras camadas de tecido muscular, e assim quantificar apenas a AST que corresponde ao VL (Figura 4).



**Figura 4.** Imagem representativa da área de secção transversa do músculo vasto lateral (VL), obtida por ultrassonografia e analisada no software ImageJ, após reconstrução manual. Estruturas adjacentes identificadas: RF (Reto Femoral), VI (Vasto Intermédio) e Fêmur.

A partir das imagens longitudinais, os procedimentos de análises de EM, CF e AP foram realizados de acordo com Blazeovich et al. (2007). A EM foi delimitada a partir da distância entre a aponeurose superficial e profunda, em três pontos diferentes. Utilizando a ferramenta “Straight” no software ImageJ, os pontos foram delimitados nas extremidades direita e esquerda, assim como no ponto médio da imagem. O valor de EM corresponde à média obtida entre os três valores (Figura 5A). O CF foi estabelecido como o comprimento fascicular entre as aponeuroses superior e inferior. Para essa análise, a ferramenta “Straight” do software ImageJ foi utilizada para orientação linear. Em casos de fascículos que se estendiam além da imagem visualizada, a extrapolação linear foi utilizada para mensurar os valores, sendo analisada a porção faltosa em sua totalidade (Figura 5B). Para obtenção dos valores de AP, as

mesmas imagens longitudinais foram utilizadas. A partir das três imagens obtidas e a visualização dos fascículos, o AP foi estabelecido como o ângulo formado pela convergência dos fascículos na aponeurose profunda. A ferramenta “Angle Tool” do software ImageJ foi utilizada para a mensuração direta dos valores angulares (Figura 5C).



**Figura 5.** Imagem representativa das imagens para análise do músculo vasto lateral obtida por ultrassonografia e analisada pelo software ImageJ. A) Espessura muscular (EM). B) Comprimento do fascículo (CF). C) Ângulo de penetração (AP).

### Análise Estatística

Para análise da reprodutibilidade das medidas, foi calculado o ET de mensuração (Equação 1), o qual também foi expresso em porcentagem, sendo denominado CV (Equação 2).

$$ET = \frac{DP_{dif}(T_{d1} - T_{d2})}{\sqrt{2}} \quad (1)$$

Equação 1.  $DP_{dif}(T_{d1}-T_{d2})$  representa o desvio padrão (DP) associado à média da diferença entre os valores de  $T_{d1}$  e  $T_{d2}$ .  $\sqrt{2}$  é a constante utilizada para ajustar a estimativa obtida pelo uso de medidas repetidas ( $T_{d1}$  e  $T_{d2}$ ).  $T_{d1}$  tempo de avaliação referente quantificação 1.  $T_{d2}$  tempo de avaliação referente a quantificação 2.

$$CV = \frac{ET_{dif}(T_{d1} - T_{d2})}{média(T_{d1};T_{d2})} \times 100 \quad (2)$$

Equação 2. ET representa a estimativa do erro típico da medida apresentada na Equação 1.  $Média(T_{d1};T_{d2})$  representa a média de todos os valores observados em  $T_{d1}$  e  $T_{d2}$ .  $T_{d1}$ , tempo de avaliação referente a quantificação 1.  $T_{d2}$ , tempo de avaliação referente a quantificação 2.

Em cada protocolo (i.e., 1X e 2X), o CV foi determinado para cada variável (i.e., AST, EM, CF e AP) por meio da análise dos valores obtidos pelas medidas repetidas (HOPKINS, 2000).

Para comparar diretamente os protocolos 1X e 2X, inicialmente foram calculadas as médias das diferenças entre as mensurações para cada um deles (expressa em média e DP), por meio das seguintes equações:

$$\Delta 1X = \frac{\sum_{i=1}^n (1X_{d2,i} - 1X_{d1,i})}{n} \quad (3)$$

Equação 3. Equação da média das diferenças do protocolo 1X. Onde  $1X_{d2}$  representa o valor obtido na quantificação 2.  $1X_{d1}$  representa o valor obtido na quantificação 1. O  $n$  representa o tamanho amostral e  $i$  representa o índice referente a cada participante do primeiro ao último.

$$\Delta 2X = \frac{\sum_{i=1}^n (2X_{d2,i} - 2X_{d1,i})}{n} \quad (4)$$

Equação 4. Equação da média das diferenças do protocolo 2X. Onde  $2X_{d2}$  representa o valor obtido na quantificação 2.  $2X_{d1}$ , representa o valor obtido na quantificação 1. O  $n$  representa o tamanho amostral e  $i$  representa o índice referente a cada participante do primeiro ao último.

Em seguida, a normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Shapiro–Wilk. Testes  $t$  pareados (para dados com distribuição normal) ou testes de Wilcoxon (para dados com distribuição não normal) foram usados para comparar as médias das diferenças entre os protocolos 1X e 2X. O nível de significância foi adotado como  $p < 0,05$ . As análises e gráficos foram gerados pelo software GraphPad Prism (v. 9.5, GraphPad Software, San Diego, CA).

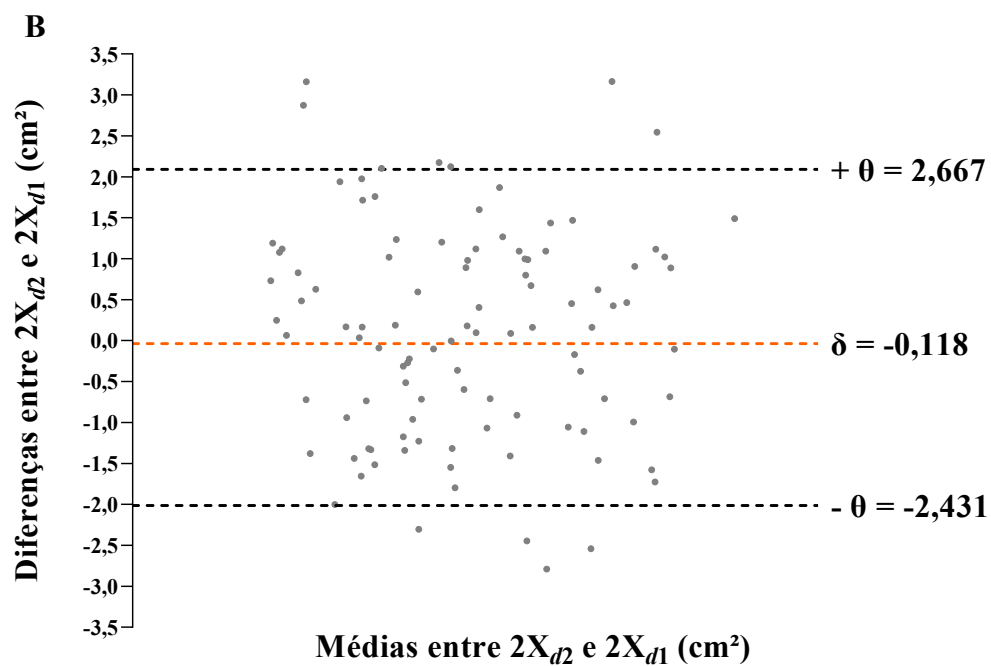
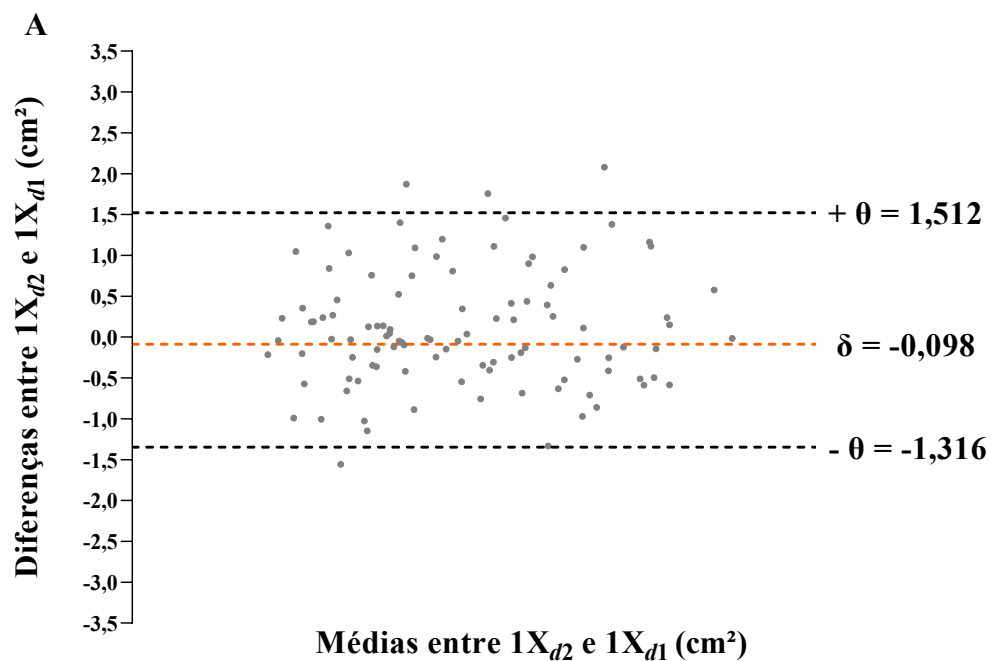
Para cada protocolo, a variância foi calculada a partir dos dados de diferença entre a quantificação 1 e a quantificação 2. Para a análise na diferença entre as variâncias no protocolo 1X e 2X, foi utilizado o teste de Levene, e a distribuição das diferenças (i.e.,  $d2 - d1$ ). Para tanto, os cálculos e gráficos foram realizados a partir de um código construído em linguagem de programação de código aberto Python, versão 3.11.

Por fim, para avaliar a concordância entre as análises, limites de concordância e valores de viés foram estabelecidos de acordo com a técnica de Bland-Altman (BLAND; ALTMAN, 1986).

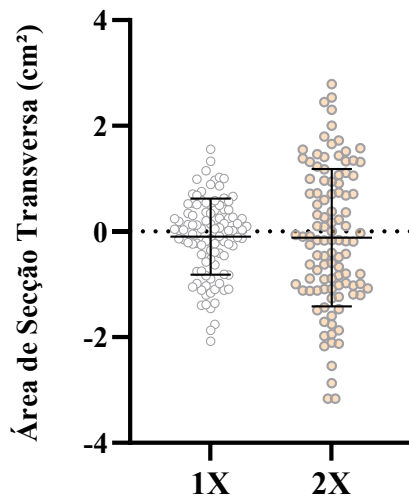
## RESULTADOS

### Área de Secção Transversa Muscular

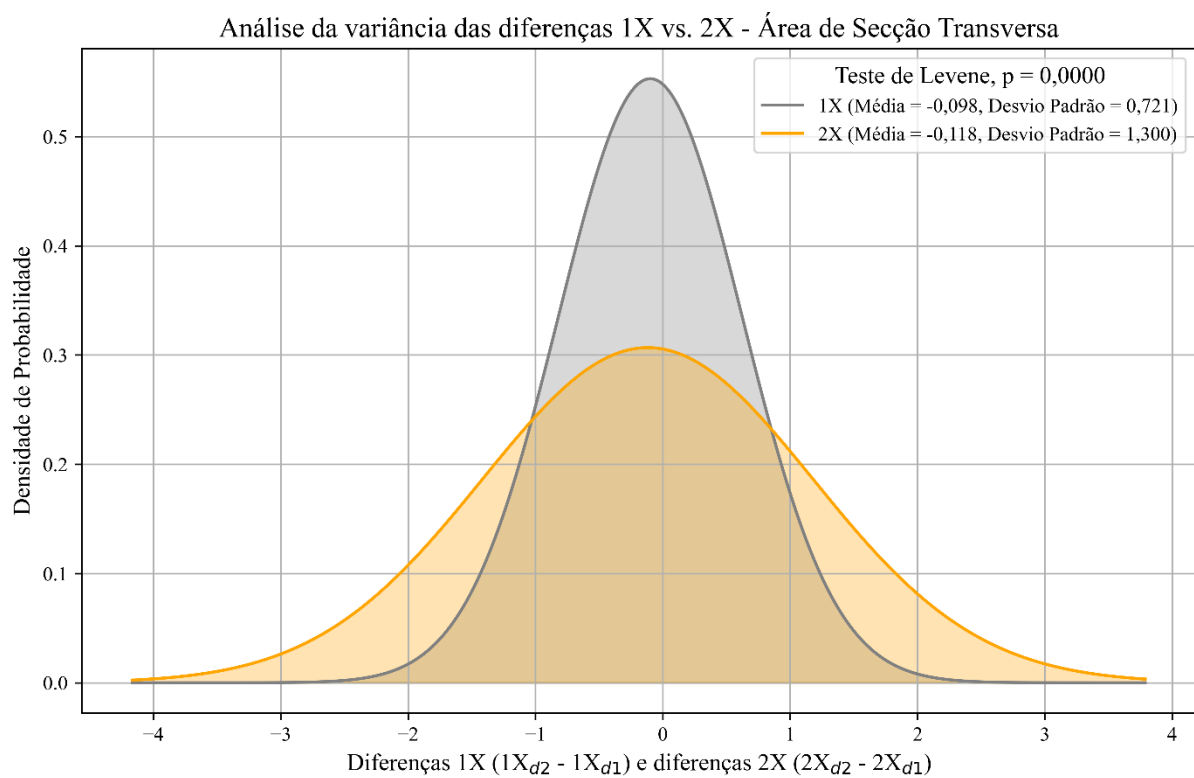
No Protocolo 1X, os valores médios de AST foram  $22,102 \pm 4,301 \text{ cm}^2$  e  $22,003 \pm 4,259 \text{ cm}^2$  para  $1X_{d1}$  e  $1X_{d2}$ , respectivamente. O ET entre as análises foi de  $0,510 \text{ cm}^2$  (CV: 2,313%). Os valores de Bland-Altman determinam viés de  $0,098 \text{ cm}^2$  e limites de concordância de  $-1,316$  a  $1,512 \text{ cm}^2$  (Figura 6A). Para o Protocolo 2X, os valores médios foram  $22,210 \pm 4,215 \text{ cm}^2$  para  $2X_{d1}$  e  $22,091 \pm 4,260 \text{ cm}^2$  para  $2X_{d2}$ . O ET entre as análises foi de  $0,920 \text{ cm}^2$  (CV: 4,151%). O viés apontado pelo gráfico de Bland-Altman apresenta valores de  $0,118 \text{ cm}^2$  e limites de concordância de  $-2,431$  a  $2,667 \text{ cm}^2$  (Figura 6B). O teste t pareado não indicou diferença significativa entre as diferenças médias de 1X e 2X ( $p = 0,895$ ) (Figura 7). Por fim, o teste de Levene indicou uma diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) (Figura 8).



**Figura 6.** Comparação entre as análises dos protocolos de área de secção transversa por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X.  $\delta$  = viés, +  $\theta$  = limite de concordância superior, -  $\theta$  = limite de concordância inferior.



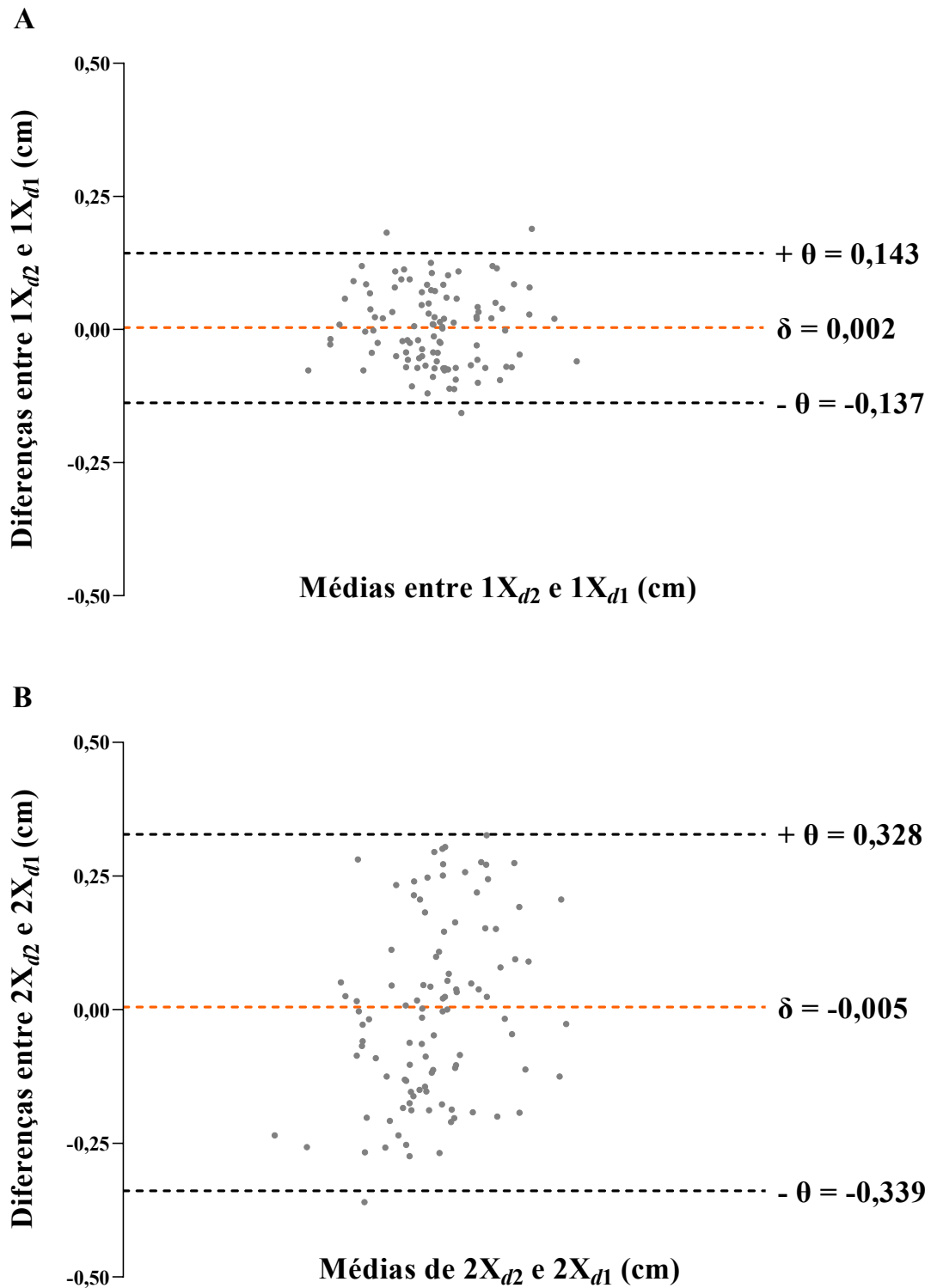
**Figura 7.** Comparação entre a média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para a área de secção transversa do vasto lateral.



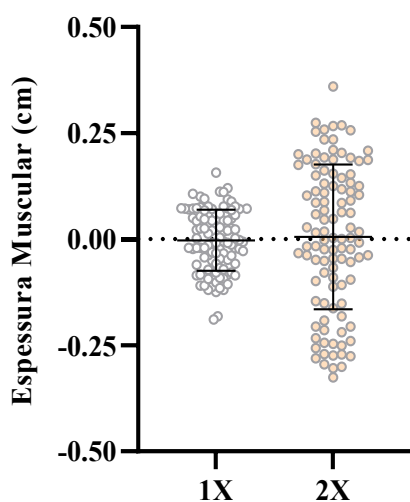
**Figura 8.** Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para área de secção transversa muscular do vasto lateral.

## **Espessura Muscular**

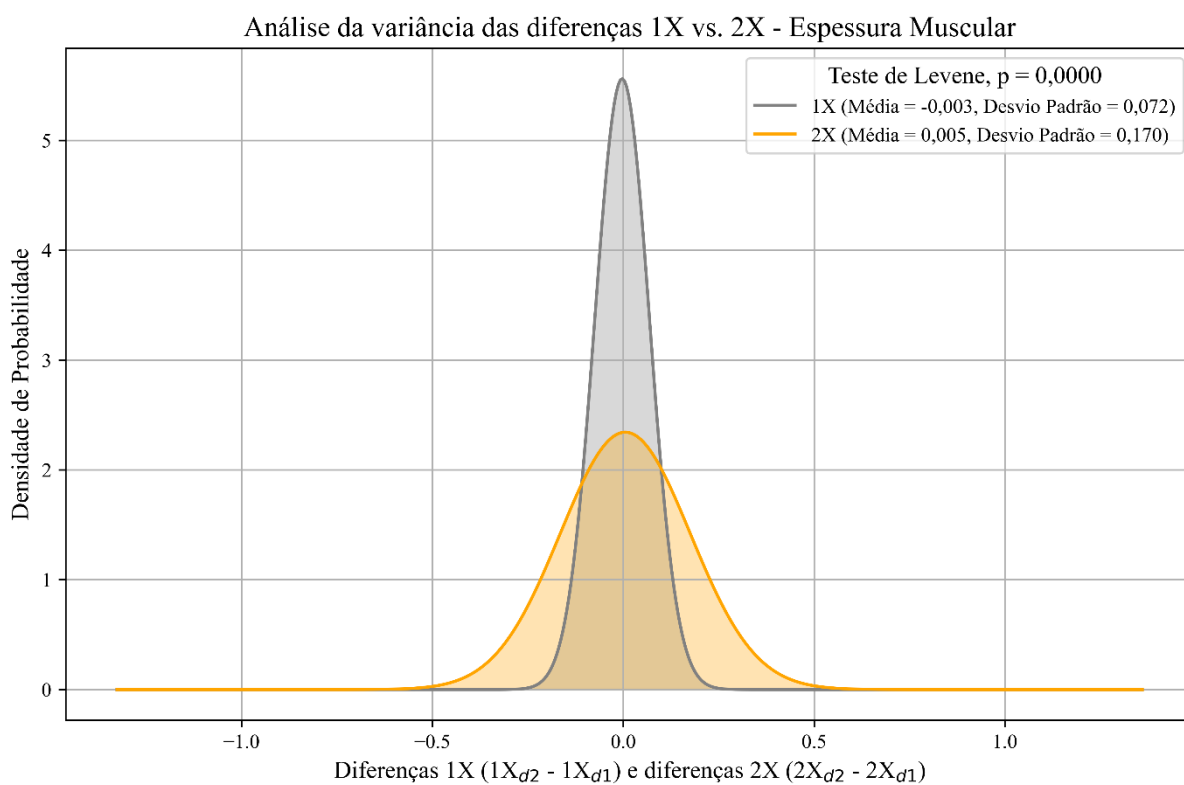
No Protocolo 1X, os valores médios foram  $1,946 \pm 0,316$  cm e  $1,943 \pm 0,319$  cm para  $1X_{d1}$  e  $1X_{d2}$ , respectivamente. O ET entre as análises foi de 0,051 cm (CV: 2,610%). Os valores de Bland-Altman apontam viés de 0,002 cm e limites de concordância de -0,137 a 0,143 cm (Figura 9A). No Protocolo 2X, os valores médios foram  $1,931 \pm 0,365$  cm para  $2X_{d1}$  e  $1,936 \pm 0,314$  cm para  $2X_{d2}$ . O ET entre as análises foi de 0,120 cm (CV: 6,225%). O viés apontado pelo gráfico de Bland-Altman apresenta valores de -0,005 cm e limites de concordância de -0,339 a 0,328 cm (Figura 9B). O teste de Wilcoxon não indicou diferença significativa entre as diferenças médias de 1X e 2X ( $p = 0,637$ ) (Figura 10). Por fim, o teste de Levene indicou uma diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) (Figura 11).



**Figura 9.** Comparação entre as análises dos protocolos de espessura muscular do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X.  $\delta$  = viés,  $+ \theta$  = limite de concordância superior,  $- \theta$  = limite de concordância inferior.



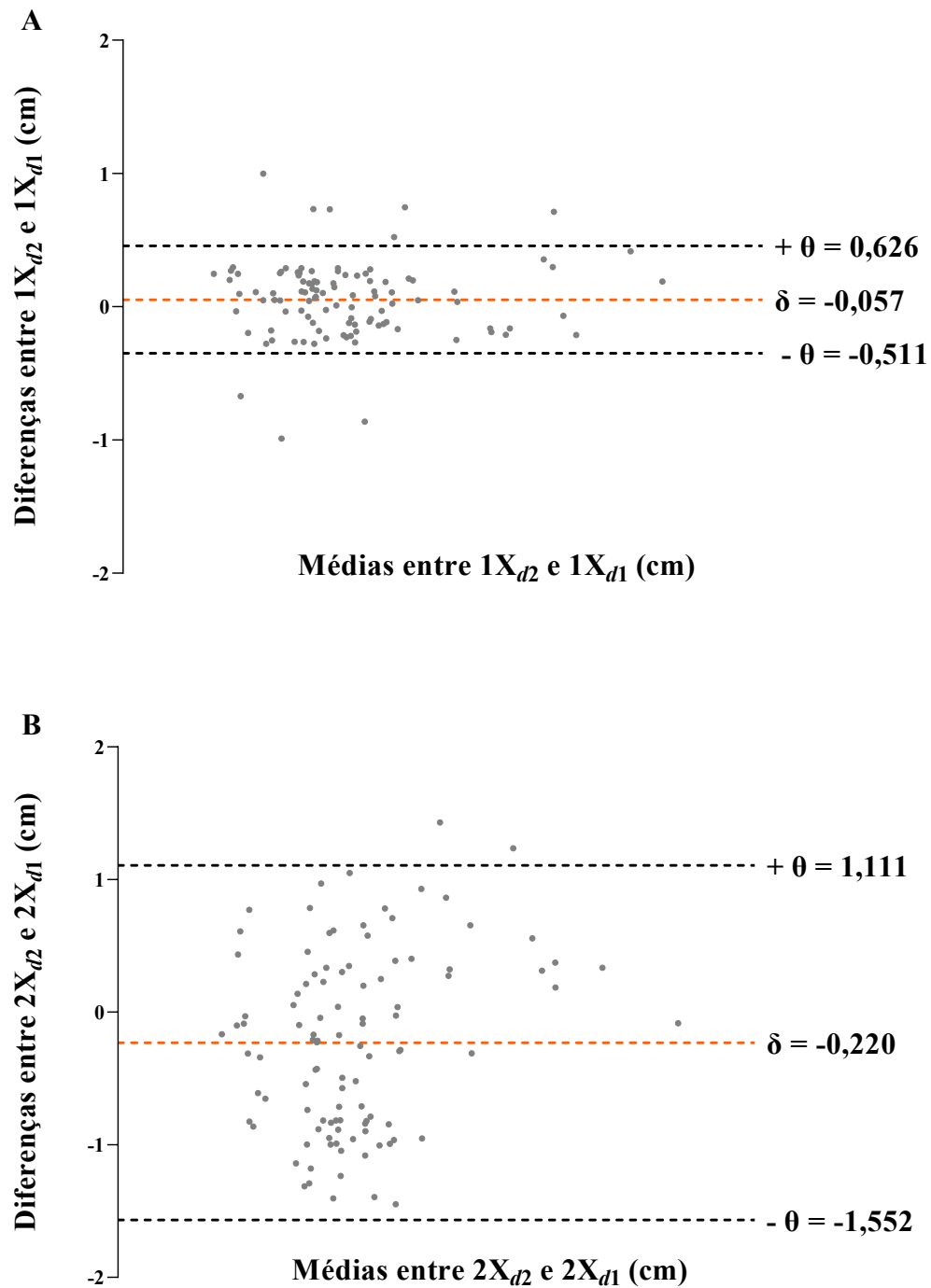
**Figura 10.** Comparação entre a média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para espessura muscular.



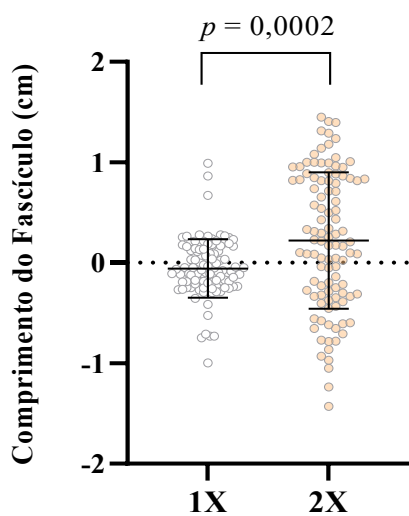
**Figura 11.** Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para espessura muscular.

### **Comprimento do Fascículo**

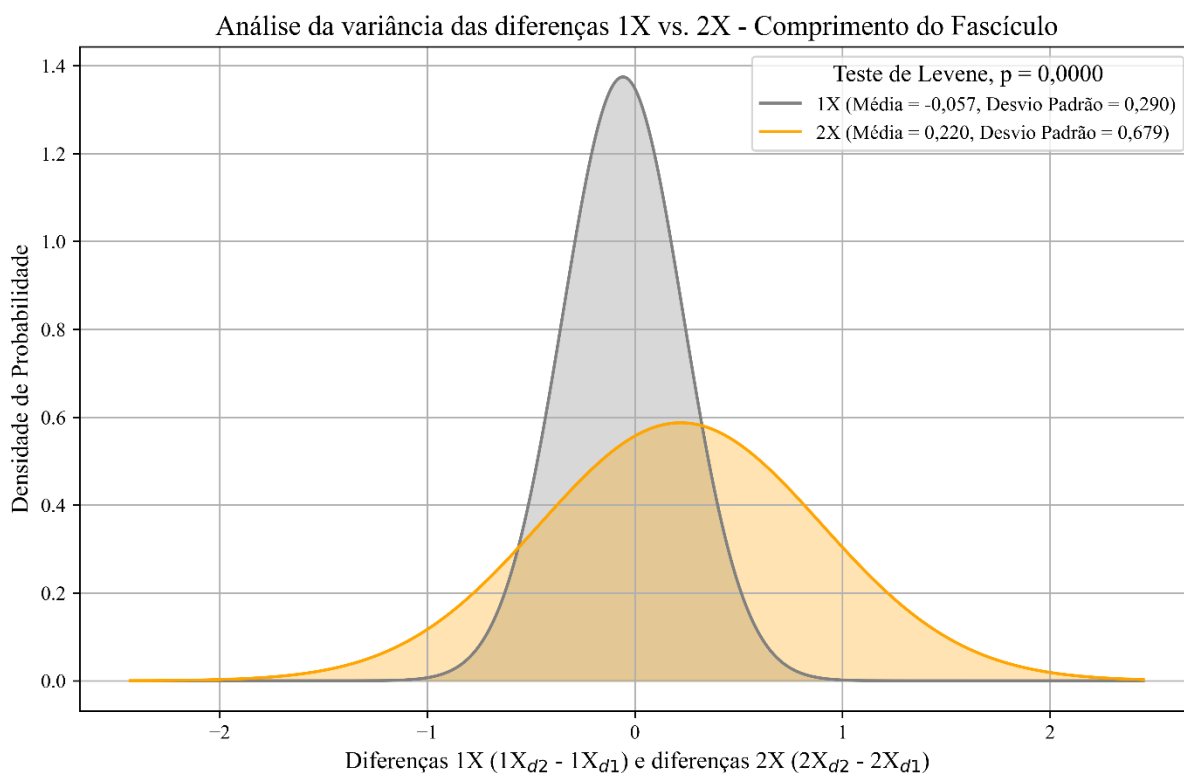
No Protocolo 1X, os valores médios de CF foram  $6,868 \pm 1,118$  cm e  $6,811 \pm 1,105$  cm para  $1X_{d1}$  e  $1X_{d2}$ , respectivamente. O ET entre as análises foi de 0,205 cm (CV = 3,000%). Os valores de Bland-Altman determinam viés de - 0,057 cm e limites de concordância de -0,511 a 0,626 cm (Figura 12A). Para o Protocolo 2X, os valores médios foram  $6,872 \pm 1,124$  cm para  $2X_{d1}$  e  $7,092 \pm 0,965$  cm para  $2X_{d2}$ . O ET entre as análises foi de 0,480 cm (CV = 6,879%). O viés apontado pelo gráfico de Bland-Altman apresenta valores de -0,220 cm e limites de concordância de -1.552 a 1.111 cm (Figura 12B). O teste de Wilcoxon indicou diferença significativa entre as diferenças médias dos protocolos 1X e 2X ( $p < 0,001$ ) (Figura 13), assim como o teste de Levene também indicou uma diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) (Figura 14).



**Figura 12.** Comparação entre as análises dos protocolos de comprimento do fascículo do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X.  $\delta$  = viés,  $+ \theta$  = limite de concordância superior,  $- \theta$  = limite de concordância inferior.



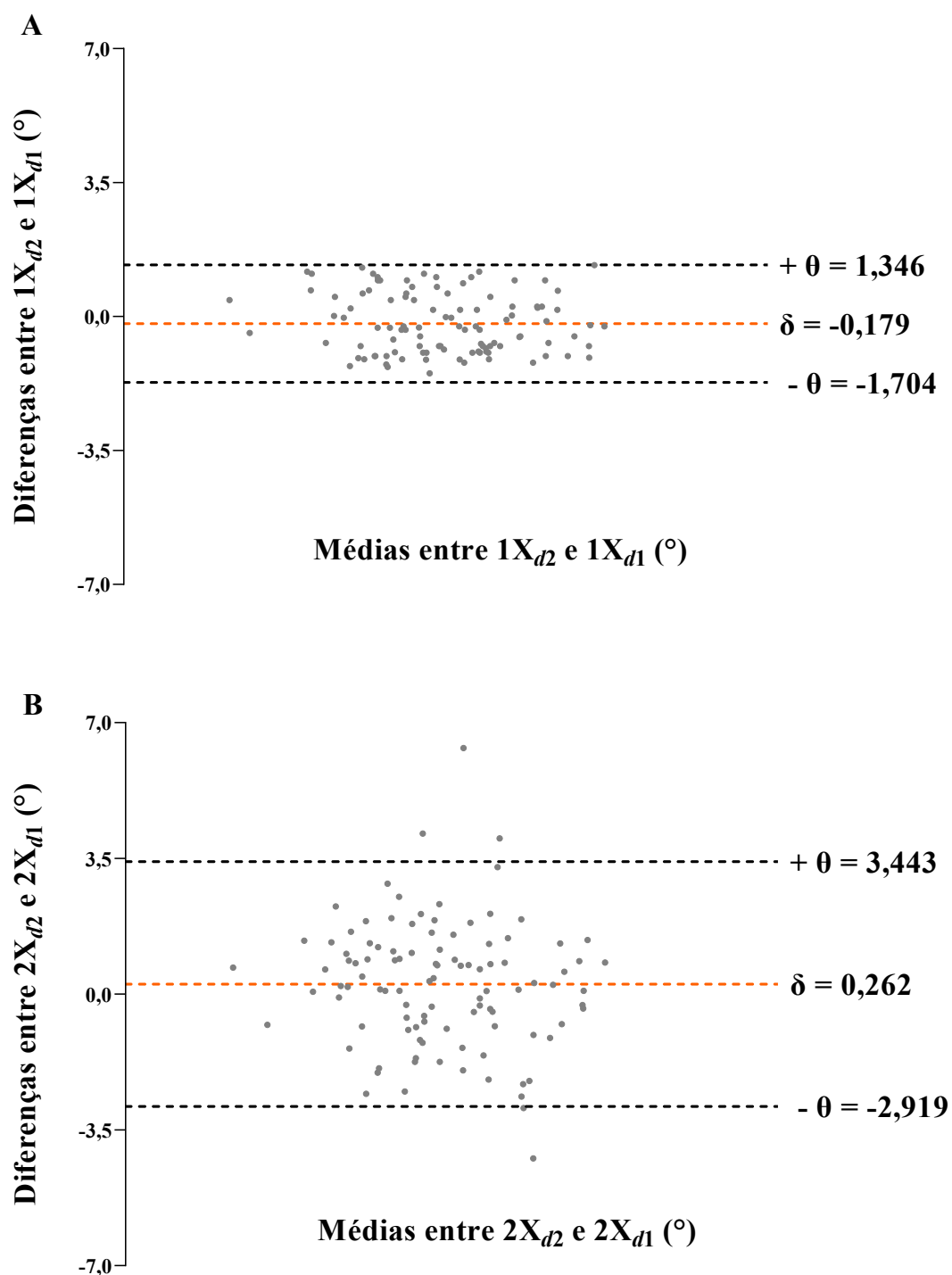
**Figura 13.** Comparação entre média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para comprimento do fascículo do vasto lateral.



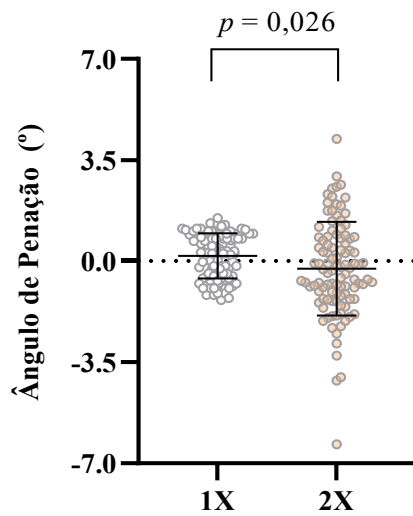
**Figura 14.** Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para comprimento do fascículo do vasto lateral.

## Ângulo de Penação

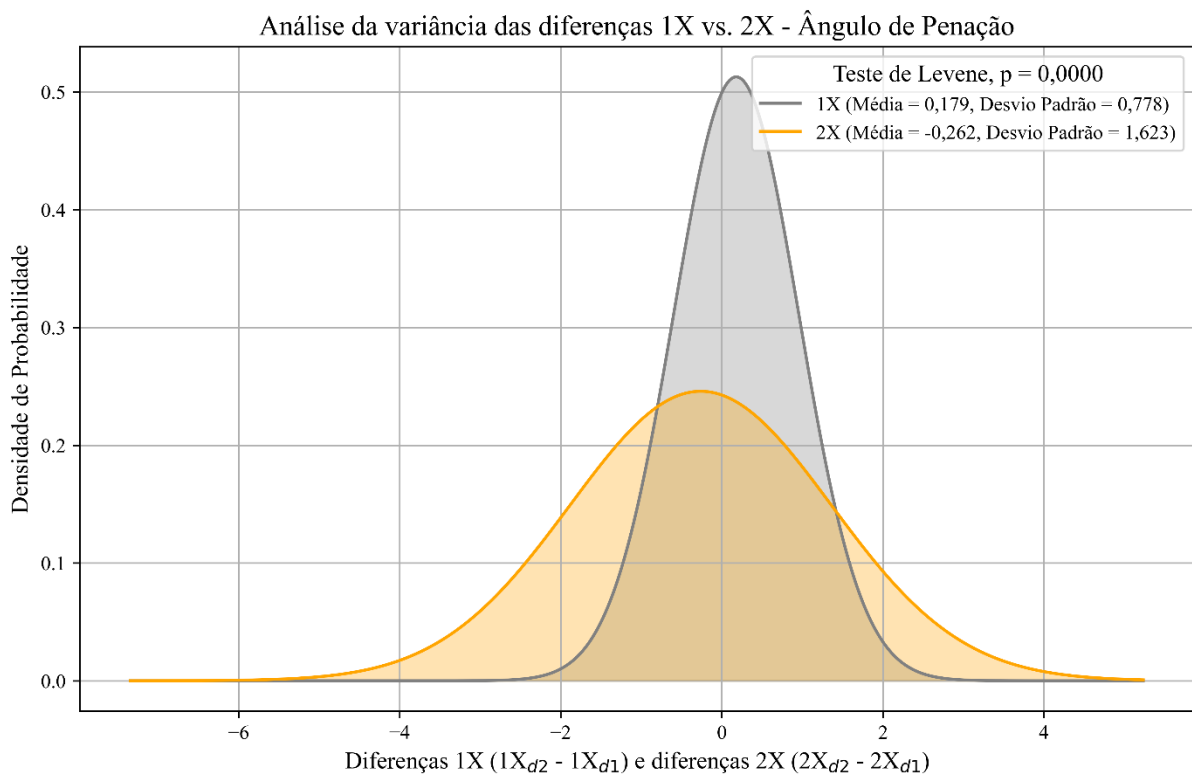
No Protocolo 1X, os valores médios de AP foram  $14,844 \pm 2,391^\circ$  e  $15,023 \pm 2,487^\circ$  para  $1X_{d1}$  e  $1X_{d2}$ , respectivamente. O ET entre as análises foi de  $0,550^\circ$  (CV = 3,684%). Os valores de Bland-Altman apontam viés de  $-0,179^\circ$  e limites de concordância de  $-1,704$  a  $1,346^\circ$  (Figura 15A). Para o Protocolo 2X, os valores médios foram de  $14,802 \pm 2,402^\circ$  para  $2X_{d1}$  e  $14,540 \pm 2,558^\circ$  para  $2X_{d2}$ . O ET entre as análises foi de  $1,148^\circ$  (CV = 7,823%). O viés apontado pelo gráfico de Bland-Altman apresenta valores de  $0,262^\circ$  e limites de concordância de  $-2,919$  a  $3,443^\circ$  (Figura 15B). O teste de Wilcoxon indicou diferença significativa entre as diferenças médias de 1X e 2X ( $p = 0,026$ ) (Figura 16). O teste de Levene também indicou uma diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) (Figura 17).



**Figura 15.** Comparação entre as análises dos protocolos de ângulo de penação do vasto lateral por Bland-Altman. A) Protocolo 1X. B) Protocolo 2X.  $\delta$  = viés,  $+ \theta$  = limite de concordância superior,  $- \theta$  = limite de concordância inferior.



**Figura 16.** Comparação entre média das diferenças observadas nos protocolos 1X e 2X para ângulo de penação do vasto lateral.



**Figura 17.** Comparação entre as variâncias das diferenças médias: 1X ( $1X_{d2} - 1X_{d1}$ ) e 2X ( $2X_{d2} - 2X_{d1}$ ) para ângulo de penação do vasto lateral.

## DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi comparar a variabilidade das medidas de arquitetura muscular do músculo vasto lateral entre dois protocolos de reprodutibilidade (1X e 2X), considerando como parâmetros a AST, EM, CF e AP. Nossas análises revelaram que o protocolo 2X apresentou maior variabilidade entre medições do que o protocolo 1X, devido à inclusão de duas aquisições independentes de imagens.

### Área de Secção Transversa e Espessura Muscular

Atualmente, as avaliações de AST e EM por US estão bem estabelecidas e validadas como medidas confiáveis de estimativa de tamanho muscular (FRANCHI; LONGO; MALLINSON; QUINLAN *et al.*, 2018; LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BOTTARO; CHACON-MIKAHIL *et al.*, 2014) e têm sido amplamente utilizadas como parâmetro de mudanças no músculo esquelético (i. e., hipertrofia e atrofia) (HAUN; VANN; ROBERTS; VIGOTSKY *et al.*, 2019; NOORKOIV; NOSAKA; BLAZEVICH, 2010). Para estimar a AST em músculos grandes, como o VL, o método de reconstrução manual foi validado com base na aquisição de múltiplas imagens obtidas em orientação transversal do transdutor, permitindo a reconstrução completa do músculo (LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BOTTARO; CHACON-MIKAHIL *et al.*, 2014; REEVES; MAGANARIS; NARICI, 2004; SILVA; SILVA; ANGLERI; SCARPELLI *et al.*, 2024). Já para estimar a EM no mesmo músculo, uma única imagem pode ser obtida de maneira longitudinal, permitindo quantificar a espessura muscular a partir do intervalo entre a aponeurose superior e inferior visualizadas na imagem (BETZ; WEHRSTEIN; PREISNER; BENDSZUS *et al.*, 2021).

Os achados do presente estudo reforçam a influência das fontes de erro associadas à aquisição das imagens e à variabilidade biológica na reprodutibilidade das medidas de arquitetura muscular. Embora o teste t pareado não tenha indicado diferenças significantes entre os protocolos 1X e 2X para AST ( $p = 0,895$ ) (Figura 7), e o teste de Wilcoxon para EM ( $p = 0,637$ ) (Figura 10), o teste de Levene revelou diferenças significantes nas variâncias das diferenças médias de ambos os parâmetros ( $p < 0,001$ ), indicando maior heterogeneidade no protocolo 2X (Figura 8 e 11, respectivamente). Além disso, os gráficos de Bland-Altman demonstraram maior dispersão dos dados (Figura 6 e 9, respectivamente), o que corrobora nossa hipótese de que a inclusão de duas aquisições independentes aumenta a variabilidade entre medições. A análise do ET e CV confirmou essa tendência, com o protocolo 2X apresentando valores substancialmente mais elevados em comparação ao protocolo 1X, tanto para AST (ET:

0,920 cm<sup>2</sup> vs. 0,510 cm<sup>2</sup>, respectivamente; CV: 4,151% vs. 2,313%, respectivamente) quanto para EM (ET: 0,120 cm vs. 0,051 cm, respectivamente; CV: 6,225% vs. 2,610%, respectivamente). Esses resultados reforçam que, nas avaliações por US, as fontes de erro associadas a aquisição das imagens e variabilidade biológicas apresentam grande influência nos valores obtidos (SILVA; SILVA; ANGLERI; SCARPELLI *et al.*, 2024). Por exemplo, o posicionamento e a pressão do transdutor, assim como a quantidade de gel aplicado, são cruciais para garantir uma visualização adequada das estruturas e podem variar quando duas imagens são adquiridas para o cálculo da reprodutibilidade. Dadas as circunstâncias inerentes à mensuração, em ambos os parâmetros de arquitetura muscular, a variação biológica também é considerada em distintas aquisições de imagens, pois o estado de hidratação e a atividade física prévia podem variar em diferentes dias (LOHMANN; HILLEBRECHT; SCHIEMANN; WARNEKE, 2024). Portanto, a variabilidade biológica e o processo de aquisição das imagens podem influenciar a variabilidade das mensurações em avaliações repetidas realizadas em momentos distintos (HOPKINS, 2000). Ao desconsiderar a influência da aquisição das imagens e variabilidade biológicas, como ocorre no protocolo 1X, a magnitude do erro de mensuração pode ser subestimada, resultando em interpretações equivocadas sobre as intervenções ou análises clínicas que requerem medidas de reprodutibilidade.

### **Comprimento do Fascículo e Ângulo de Penação**

As avaliações de CF e AP por US podem ser utilizadas para estimar mudanças estruturais no músculo esquelético (KWAH; PINTO; DIONG; HERBERT, 2013; NUNES; BLAZEVIK; SCHOENFELD; KASSIANO *et al.*, 2023). Ambas podem ser analisadas a partir de uma única imagem adquirida com o transdutor posicionado longitudinalmente. Para mensurar o CF no músculo VL, o método de extrapolação linear é comumente empregado devido à limitação do campo de visão do transdutor (BLAZEVIK; CANNAVAN; COLEMAN; HORNE, 2007; EMA; WAKAHARA; MIYAMOTO; KANEHISA *et al.*, 2013; NÓBREGA; UGRINOWITSCH; PINTANEL; BARCELOS *et al.*, 2018). Já a avaliação do AP está diretamente relacionada ao CF, pois depende da convergência dos fascículos com a aponeurose profunda, permitindo a mensuração do ângulo de penação em graus (BLAZEVIK; CANNAVAN; COLEMAN; HORNE, 2007). Os achados do presente estudo indicam que a reprodutibilidade das medidas de CF e AP é influenciada pelo protocolo adotado. O teste de Wilcoxon revelou diferenças significativas entre os protocolos 1X e 2X para ambos os parâmetros (Figura 13 e 16, respectivamente), o que está em consonância com os resultados do

teste de Levene (Figura 14 e 17, respectivamente), que apontou diferenças nas variâncias ( $p < 0,001$ ). Além disso, a análise de Bland-Altman demonstrou maior dispersão dos dados no protocolo 2X, corroborando a hipótese do estudo (Figura 12 e 15, respectivamente). A análise do ET e CV reforça essa tendência, com o protocolo 2X apresentando valores mais elevados em comparação ao protocolo 1X, tanto para CF (ET: 0,480 cm vs. 0,205 cm, respectivamente; CV: 6,879% vs. 3,000%, respectivamente) quanto para AP (ET: 1,148° vs. 0,550°, respectivamente; CV: 7,823% vs. 3,684%, respectivamente). Além dos cuidados metodológicos comuns a outras avaliações por US (i.e., AST e EM), a análise de imagens obtidas longitudinalmente não garante que o mesmo fascículo seja visualizado e quantificado em diferentes aquisições, tornando a obtenção do CF mais suscetível a variações. Adicionalmente, essa limitação pode impactar a precisão das medições do AP, uma vez que a sua determinação depende da convergência entre os fascículos (BLAZEVIK; CANNAVAN; COLEMAN; HORNE, 2007). Outro aspecto que merece destaque é que pequenas variações na orientação do transdutor podem resultar em diferenças significativas na visualização dos fascículos, o que ocorre especialmente quando múltiplas imagens são adquiridas (BLAZEVIK; CANNAVAN; COLEMAN; HORNE, 2007). Portanto, assim como nas demais avaliações por US (i.e., AST e EM), as fontes de erro inerentes à influência do avaliador e à variação biológica impactam a reprodutibilidade das medidas também do CF e AP.

## **LIMITAÇÕES**

Este estudo considerou comparar métodos de análise de reprodutibilidade da arquitetura muscular, considerando a influência do avaliador e a variabilidade biológica em um intervalo de tempo de 72h. É possível que esses valores de erros de mensuração sejam ainda maiores ao considerar períodos comuns em estudos de intervenção, os quais podem variar de 2 semanas (e.g., casos de desuso) até 3 a 6 meses (e.g., casos de intervenções com treinamento físico). De qualquer forma, nossos achados indicam que considerar esses fatores (influência do avaliador e variação biológica) são imperativos em estudos dessa natureza.

## **CONCLUSÃO**

O presente estudo demonstrou que a variabilidade das medidas de arquitetura muscular do vasto lateral é influenciada pelo protocolo de reprodutibilidade adotado. A inclusão de duas aquisições independentes de imagens resultou em maior variabilidade entre medições. Esses achados reforçam a importância de considerar as fontes de erro associadas ao avaliador e à variabilidade biológica ao interpretar mudanças na arquitetura muscular, especialmente em contextos clínicos e experimentais que dependem da precisão das medidas ultrassonográficas. Além disso, investigações adicionais são necessárias para determinar se períodos de tempo mais longos entre medições amplificam ainda mais essas diferenças, impactando a interpretação de intervenções sobre a morfologia muscular.

## REFERÊNCIAS

ATKINSON, G.; BATTERHAM, A. M. True and false interindividual differences in the physiological response to an intervention. **Exp Physiol**, 100, n. 6, p. 577-588, Jun 2015.

ATKINSON, G.; NEVILL, A. M. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine. **Sports Med**, 26, n. 4, p. 217-238, Oct 1998.

BETZ, T. M.; WEHRSTEIN, M.; PREISNER, F.; BENDSZUS, M. *et al.* Reliability and validity of a standardised ultrasound examination protocol to quantify vastus lateralis muscle. **J Rehabil Med**, 53, n. 7, p. jrm00212, Jul 6 2021.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, 1, n. 8476, p. 307-310, Feb 8 1986.

BLAZEVIČH, A. J.; CANNAVAN, D.; COLEMAN, D. R.; HORNE, S. Influence of concentric and eccentric resistance training on architectural adaptation in human quadriceps muscles. **J Appl Physiol** (1985), 103, n. 5, p. 1565-1575, Nov 2007.

EMA, R.; WAKAHARA, T.; MIYAMOTO, N.; KANEHISA, H. *et al.* Inhomogeneous architectural changes of the quadriceps femoris induced by resistance training. **Eur J Appl Physiol**, 113, n. 11, p. 2691-2703, Nov 2013.

FILIPPO, M.; LARS, A.-N.; MARIA, S.; SANDRA, A.-B. J. B. P. *et al.* Inter-rater and intra-rater reliability of ultrasound imaging for measuring quadriceps muscle and non-contractile tissue thickness of the anterior thigh. 5, n. 3, p. 037002, 2019.

FRANCHI, M. V.; LONGO, S.; MALLINSON, J.; QUINLAN, J. I. *et al.* Muscle thickness correlates to muscle cross-sectional area in the assessment of strength training-induced hypertrophy. **Scand J Med Sci Sports**, 28, n. 3, p. 846-853, Mar 2018.

HALONEN, E. J.; GABRIEL, I.; KELAHAARA, M. M.; AHTIAINEN, J. P. *et al.* Does Taking a Break Matter-Adaptations in Muscle Strength and Size Between Continuous and Periodic Resistance Training. **Scand J Med Sci Sports**, 34, n. 10, p. e14739, Oct 2024.

HAUN, C. T.; VANN, C. G.; ROBERTS, B. M.; VIGOTSKY, A. D. *et al.* A Critical Evaluation of the Biological Construct Skeletal Muscle Hypertrophy: Size Matters but So Does the Measurement. 10, 2019-March-12 2019. Perspective.

HOLLOWAY, T. M.; MCGLORY, C.; MCKELLAR, S.; MORGAN, A. *et al.* A Novel Amino Acid Composition Ameliorates Short-Term Muscle Disuse Atrophy in Healthy Young Men. **Front Nutr**, 6, p. 105, 2019.

HOPKINS, W. G. Measures of reliability in sports medicine and science. **Sports Med**, 30, n. 1, p. 1-15, Jul 2000.

JANSSEN, I.; HEYMSFIELD, S. B.; ROSS, R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. **J Am Geriatr Soc**, 50, n. 5, p. 889-896, May 2002.

- KWAH, L. K.; PINTO, R. Z.; DIONG, J.; HERBERT, R. D. Reliability and validity of ultrasound measurements of muscle fascicle length and pennation in humans: a systematic review. **J Appl Physiol** (1985), 114, n. 6, p. 761-769, Mar 15 2013.
- LI, R.; XIA, J.; ZHANG, X. I.; GATHIRUA-MWANGI, W. G. *et al.* Associations of Muscle Mass and Strength with All-Cause Mortality among US Older Adults. **Med Sci Sports Exerc**, 50, n. 3, p. 458-467, Mar 2018.
- LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BOTTARO, M.; CHACON-MIKAHIL, M. P. T. *et al.* Vastus Lateralis Muscle Cross-sectional Area Ultrasonography Validity for Image Fitting in Humans. 28, n. 11, p. 3293-3297, 2014.
- LOHMANN, L. H.; HILLEBRECHT, M.; SCHIEMANN, S.; WARNEKE, K. Stressing the Relevance of Differentiating between Systematic and Random Measurement Errors in Ultrasound Muscle Thickness Diagnostics. **Sports Med Open**, 10, n. 1, p. 89, Aug 15 2024.
- MARTIN-RODRIGUEZ, S.; GONZALEZ-HENRIQUEZ, J. J.; DIAZ-CONDE, J. C.; CALBET, J. A. L. *et al.* The relationship between muscle thickness and pennation angle is mediated by fascicle length in the muscles of the lower extremities. **Sci Rep**, 14, n. 1, p. 14847, Jun 27 2024.
- NÓBREGA, 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.
- NOORKOIV, M.; NOSAKA, K.; BLAZEVIČH, A. J. Assessment of quadriceps muscle cross-sectional area by ultrasound extended-field-of-view imaging. **Eur J Appl Physiol**, 109, n. 4, p. 631-639, Jul 2010.
- NUNES, J. P.; BLAZEVIČH, A.; SCHOENFELD, B.; KASSIANO, W. *et al.* Determining changes in muscle size and architecture following exercise training: One site does not fit all. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, 10/18 2023.
- POWERS, S. K.; LYNCH, G. S.; MURPHY, K. T.; REID, M. B. *et al.* Disease-Induced Skeletal Muscle Atrophy and Fatigue. **Med Sci Sports Exerc**, 48, n. 11, p. 2307-2319, Nov 2016.
- REEVES, N. D.; MAGANARIS, C. N.; NARICI, M. V. Ultrasonographic assessment of human skeletal muscle size. **European Journal of Applied Physiology**, 91, n. 1, p. 116-118, 2004/01/01 2004.
- SILVA, D. G. D.; SILVA, D. G. D.; ANGLERI, V.; SCARPELLI, M. C. *et al.* Application of Artificial Intelligence to Automate the Reconstruction of Muscle Cross-Sectional Area Obtained by Ultrasound. **Med Sci Sports Exerc**, 56, n. 9, p. 1840-1848, Sep 1 2024.
- STOKES, T.; TIMMONS, J. A.; CROSSLAND, H.; TRIPP, T. R. *et al.* Molecular Transducers of Human Skeletal Muscle Remodeling under Different Loading States. **Cell Rep**, 32, n. 5, p. 107980, Aug 4 2020.