



QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS DE TEXTURA EM
ULTRASSONOGRAFIAS MÚSCULO-ESQUELÉTICAS PÓS-EXERCÍCIO

Thiago Torres da Matta

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Rio de Janeiro

Outubro de 2016

QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS DE TEXTURA EM
ULTRASSONOGRÁFIAS MÚSCULO-ESQUELÉTICAS PÓS-EXERCÍCIO

Thiago Torres da Matta

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE)
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Examinada por:

Profa. Liliam Fernandes de Oliveira, D.Sc

Prof. Roberto Macoto Ichinose, D.Sc.

Prof. André Victor Alvarenga, D.Sc.

Prof. Roberto Fares Simão Junior, D.Sc.

Prof. Jefferson da Silva Novaes, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

OUTUBRO DE 2016

Matta, Thiago Torres da

Quantificação de parâmetros de textura em ultrassonografias músculo-esqueléticas pós-exercício / Thiago Torres da Matta. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2016.

XIV, 102 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/
Programa de Engenharia Biomédica, 2016.

Referências Bibliográficas: p. 84-102.

1. Textura. 2. Ultrassonografia. 3. Dano muscular temporário. 4. Exercício excêntrico. I. Oliveira, Liliam Fernandes de. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

Dedicatória

Eu dedico a tese aos meus pais Jeanette e Arthur, à minha esposa Mariana e ao meu filho João.

Agradecimento

Agradeço especialmente à professora titular, orientadora e amiga D.Sc. Liliam Fernandes de Oliveira pela sabedoria compartilhada, dedicação, tempo, paciência e amizade. Outro agradecimento especial ao meu co-orientador D.Sc. Wagner Coelho de Albuquerque Pereira pelo empenho em contribuir e direcionar esta tese.

Aos professores que fizeram parte de toda minha formação acadêmica, desde a graduação até chegar ao término do doutorado, em especial aos D.Sc. Roberto Macoto Ichinose e D.Sc. Roberto Fares Simão Junior.

Aos meus familiares (avó Jesy e irmão Pedro) pelo amor, inspiração, confiança e incentivo.

Aos meus amigos de Laboratório de Biomecânica da EEFD/UFRJ (D.Sc. Marco Garcia, D.Sc. Luis Aureliano Imbiriba) e LAMFE do PEB/COPPE/UFRJ (D.Sc. Carolina Peixinho, M.Sc. Daniel Alves, M.Sc. Viviane da Glória, M.Sc. Kelly Lima e M.Sc. Raphael Oliveira), por me proporcionarem excelentes momentos de reflexão, ajuda e aprendizado durante toda jornada.

Agradeço também aos meus amigos, que em diversas discussões científicas, contribuíram para evolução e correção deste trabalho (D.Sc. Belmiro Salles, M.Sc. Pietro Mannarino, Ph.D. Gabriel Trajano, D.Sc. Daniel Umpierre, Ph.D. Vandr e Figueredo e M.Sc. Lucas Helal).

E pelo apoio financeiro, agradeço à CAPES e FAPERJ.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.).

QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS DE TEXTURA EM ULTRASSONOGRAFIAS MÚSCULO-ESQUELÉTICAS PÓS-EXERCÍCIO

Thiago Torres da Matta

Outubro/2016

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Programa: Engenharia Biomédica

O dano muscular temporário (DMT) após exercício excêntrico ocorre devido à microrupturas e desarranjo de estruturas miofibrilares do músculo esquelético, causando processo inflamatório que refletem em alterações no brilho de ultrassonografias podendo ser avaliado pela textura da imagem ao longo de alguns dias após a intervenção. Dois estudos foram realizados, um deles em mulheres e outro em homens, com a utilização de diversos marcadores para acompanhar o DMT até 96 h após intervenção excêntrica nos flexores do cotovelo. A ultrassonografia foi aplicada para avaliar o edema muscular e parâmetros de textura como a média da intensidade do eco pelo histograma de distribuição de *pixels* na escala de cinza no músculo braquial. Também foi aplicada a matriz de co-ocorrência de tons de cinza (GLCM) através de cinco descritores estatísticos como a correlação (*cor*), entropia (*coo*), desvio-padrão (*std*), contraste (*con*) e o segundo momento angular (*asm*). Como resultados relevantes para análise da textura das ultrassonografias, o experimento conduzido com mulheres apresentou alterações para o parâmetro *cor* com 128 e 256 tons de cinza a partir de 48h após intervenção excêntrica. O estudo com amostra masculina obteve confiabilidade das medidas das variáveis medidas satisfatória em dias distintos. Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos musculares dos flexores do cotovelo avaliados para nenhum marcador. Como efeito do DMT no tempo, os descritores *cor* e o *con* apresentaram-se sensíveis ao exercício proposto a partir de 48h até 72 h. A utilização de descritores da GLCM em ultrassonografias parece ser uma ferramenta promissora no auxílio do diagnóstico de DMT.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

TEXTURE ANALYSIS OF ULTRASOUND IMAGES ON THE QUANTIFICATION
OF THE MUSCLE DAMAGE INDUCED BY ECCENTRIC EXERCISE

Thiago Torres da Matta

October/2016

Advisor: Liliam Fernandes de Oliveira

Department: Biomedical Engineering

Exercise induced muscle damage (EIMD) by eccentric exercise in response to eccentric exercise is caused by micro disruption and disarrange of myofibrils and cytoskeletal structures of skeletal muscle, resulting in inflammatory processes that reflect on ultrasound image brightness, which can be assessed by texture parameters over a few days after the exercise intervention. Two experiments were applied, one with women and other with men, using many EIMD markers up to 96 hours after elbow flexors eccentric training. B-mode ultrasound images were used to assess the muscle edema and texture parameters such echo intensity by pixels distribution on grey level histogram in brachial muscle. Grey-level of co-occurrence matrix (GLCM) were applied through five statistical descriptors such as correlation (*cor*), entropy (*coo*), standard deviation (*std*), contrast (*con*) and second angular moment (*asm*). Presenting relevant results for ultrasound texture analysis, the experiment conducted with women presented statistical increases of GLCM parameter *cor* for 128 and 256 grey levels from 48 hours after the eccentric intervention. The experiment with men obtained a good reliability of all parameters with measurements on two different days. No significant differences were found on DMT parameters between different arm sites for any texture parameters. For EIMD time-effect, the descriptors *cor* and *con* GLCM parameters were significant increased at 48 h and 72 h. The GLCM descriptors parameters proved to be a sensitive and promising texture parameter for studying muscle damage.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|---------------|
| I. INTRODUÇÃO | 1 |
| Objetivos | 7 |
| II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| 2.1. Dano muscular temporário | 8 |
| 2.1.1. Fisiologia muscular | 8 |
| 2.1.2. Inflamação e regeneração tecidual | 12 |
| 2.2. Formas de avaliação do dano muscular temporário | 13 |
| 2.2.1. Avaliação clínica | 14 |
| 2.2.1.1. Produção de força voluntária | 14 |
| 2.2.1.2. Percepção de desconforto de início tardio | 16 |
| 2.2.1.3. Edema | 18 |
| 2.2.2. Medidas laboratoriais | 20 |
| 2.2.2.1. Biópsia | 20 |
| 2.2.2.2. Marcadores bioquímicos | 21 |
| 2.2.2.3. Textura de ultrassonografias | 22 |
| i. Intensidade do eco | 23 |
| ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza | 25 |
| 2.3. Dano muscular em diferentes comprimentos musculares | 29 |
| III. ESTUDO 1 | 33 |
| 3.1. Objetivos | 33 |
| 3.2. Materiais e métodos | 33 |
| 3.2.1. Estratégia de coleta de dados | 34 |
| 3.2.2. Amostra | 33 |
| 3.2.3. Procedimentos gerais | 33 |
| 3.2.4. Medida de torque máximo | 35 |
| 3.2.5. Medida de desconforto | 36 |
| 3.2.6. Aquisição de ultrassonografias | 36 |
| 3.2.6.1. Edema | 37 |
| 3.2.6.2. Análise da textura | 38 |

| | | |
|------------|---|----|
| i. | Intensidade do eco | 39 |
| ii. | Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza | 40 |
| 3.2.7. | Intervenção excêntrica | 40 |
| 3.2.8. | Análise estatística | 41 |
| 3.3. | Resultados | 41 |
| 3.3.1. | Medidas clínicas | 42 |
| 3.3.1.1. | Medida de torque máximo | 42 |
| 3.3.1.2. | Medida de desconforto | 42 |
| 3.3.2. | Medidas pela ultrassonografia | 44 |
| 3.3.2.1. | Espessura muscular | 44 |
| 3.3.2.2. | Medidas de textura | 44 |
| i. | Intensidade do eco | 45 |
| ii. | Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza | 46 |
| IV. | ESTUDO 2 | 49 |
| 4.1. | Objetivos | 49 |
| 4.2. | Materiais e métodos | 49 |
| 4.2.1. | Estratégia de coleta de dados | 49 |
| 4.2.2. | Amostra | 49 |
| 4.2.3. | Procedimentos gerais | 50 |
| 4.2.4. | Medida de torque máximo | 51 |
| 4.2.5. | Medida de desconforto | 52 |
| 4.2.6. | Aquisição de ultrassonografias | 53 |
| 4.2.6.1. | Edema | 54 |
| 4.2.6.2. | Análise de textura | 55 |
| i. | Intensidade do eco | 55 |
| ii. | Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza | 56 |
| 4.2.7. | Intervenção excêntrica | 57 |
| 4.2.8. | Análise estatística | 57 |
| 4.3. | Resultados | 59 |
| 4.3.1. | Confiabilidade e variabilidade das medidas | 59 |
| 4.3.2. | Estatística inferencial | 61 |
| 4.3.2.1. | Medidas clínicas | 61 |
| 4.3.2.1.1. | Medida de torque máximo | 61 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.2.1.2. .Medida de desconforto | 61 |
| 4.3.2.2. Medidas pela ultrassonografia | 63 |
| 4.3.2.2.1. Espessura muscular | 63 |
| 4.3.2.2.2. Medidas de textura | 64 |
| i. Intensidade do eco | 64 |
| ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza | 65 |
| V. DISCUSSÃO | 70 |
| CONCLUSÃO | 83 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 84 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Representação da anatomia músculo-esquelética e suas organizações. | 9 |
| Figura 2: Ilustração de sarcômeros (dois em série e dois em paralelo) com suas proteínas contráteis e estruturais. | 10 |
| Figura 3: Ultrassonografia de músculos do braço representando o edema muscular pela espessura dos flexores do cotovelo antes (pré) e 72 h após intervenção excêntrica. | 19 |
| Figura 4: Representação ilustrativa da IE medida em duas imagens pré (a) e 72 h após a intervenção excêntrica. (b) Histograma obtido pelo <i>software</i> livre <i>ImageJ</i> . | 24 |
| Figura 5: Exemplo do local adequado para marcação da ROI dos flexores do cotovelo ao longo de cinco medidas em momentos diferentes após treinamento excêntrico. Neste exemplo, a variação pode ser observada visualmente, por comparação das ROIs. | 25 |
| Figura 6: Determinação de GLCM (b) $m(i,j)$, a partir da imagem (a) $f(x,y)$ de dois tons de cinza (0 e 1, sendo o último mais escuro) para distância d de dois pixels e direção α vertical. A matriz $m(i,j)$ resulta em 10 pares $\{0,1\}$ e em $\{1,0\}$. | 27 |
| Figura 7: Delineamento experimental. CIVM – Contração isométrica voluntária máxima. | 34 |
| Figura 8: Imagem ilustrativa da posição do teste de CIVM de uma voluntária | 35 |
| Figura 9: Exemplo de aquisição de ultrassonografia dos flexores do cotovelo. | 37 |
| Figura 10: Exemplo da medição de EM de uma ultrassonografia dos flexores do cotovelo. | 38 |
| Figura 11: Apresentação da ROI (25x25 <i>pixels</i>) do músculo bíceps braquial (a). ROI do braquial analisada (b) ampliação da ROI para descritores de textura. | 39 |
| Figura 12: Exemplo do histograma de tons de cinza para avaliação da média e mediana da IE em processamento para 256 tons de cinza. | 39 |
| Figura 13: Exemplo de apresentação da GLCM de ultrassonografia do músculo braquial com 8 (a), 64 (b) e 256 (c) tons de cinza. | 40 |
| Figura 14: Valores de média e desvio padrão para o pico de torque (Nm) dos flexores do cotovelo. * - $p<0,05$ para a medida pré. | 42 |
| Figura 15: Valores de média e erro padrão para a EAV (mm) por palpação dos flexores do cotovelo. * - $p<0,05$ para a medida pré; † - $p<0,05$ para a medida 24 h. | 43 |

| | |
|--|----|
| Figura 16: Valores de média e erro padrão para a EAV (mm) através do alongamento dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré. | 43 |
| Figura 17: Valores de média e desvio padrão para a EM (cm) dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré; † - $p < 0,05$ para a medida 24 h; ‡ - $p < 0,05$ para a medida 48 h. | 44 |
| Figura 18: Valores de média e desvio padrão para a IE normalizado da ROI extraída do músculo braquial. * - $p < 0,05$ para a medida pós; † - $p < 0,05$ para a medida 24 h; ‡ - $p < 0,05$ para a medida 48 h. | 45 |
| Figura 19: Valores de <i>coo</i> (a) e <i>asm</i> (b) normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas. | 46 |
| Figura 20: Valores de <i>std</i> (a) e <i>con</i> (b) normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas. | 47 |
| Figura 21: Valores de <i>cor</i> normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas. | 48 |
| Figura 22: Delineamento experimental. CIVM – Contração isométrica voluntária máxima. | 51 |
| Figura 23: Imagem que ilustra a posição dos voluntários durante o teste de CIVM. | 52 |
| Figura 24: Representação da avaliação da DOMS através de um algômetro manual a 60, 70% e 80% dos flexores do cotovelo. | 53 |
| Figura 25: Exemplo de aquisição de imagem ideal para posterior análise apresentando a borda do úmero e a EM dos flexores do cotovelo. | 54 |
| Figura 26: ROI ampliada (a) usada para determinação do histograma de tons de cinza para quantificação da média da IE (b). | 55 |
| Figura 27: Ilustração da ultrassonografia (a) em 72 h após intervenção com a ROI do braquial e GLCM do braquial (b). | 56 |
| Figura 28: Valores de média e desvio padrão para o pico de torque (Nm) dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré. | 61 |
| Figura 29: Valores de EAV (mm) expressos em média para diferentes nos três comprimentos medidos para avaliação da DOMS por pressão padronizada. | 62 |
| Figura 30: Valores de média da EM normalizados dos flexores do cotovelo nos diferentes momentos e comprimentos musculares. | 63 |
| Figura 31: Valores de média para a IE normalizados para diferentes comprimentos do braquial. | 65 |

| | |
|---|----|
| Figura 32: Valores de média de <i>coo</i> normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial. | 66 |
| Figura 33: Valores de <i>asm</i> normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial. | 66 |
| Figura 34: Valores de <i>std</i> normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial. | 67 |
| Figura 35: Valores de <i>con</i> normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial. | 68 |
| Figura 36: Valores de <i>cor</i> normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial. | 69 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|------------------------|--|
| ANOVA | Análise de variância |
| <i>asm</i> | <i>Angular second moment</i> - Segundo momento angular |
| ASTA | Área de seção transversa anatômica |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| CC | Curva de complexidade |
| Ca²⁺ | Íon Cálcio |
| CCI | Coeficientes de correlação intraclasse |
| CF | Comprimento do fascículo |
| CK | Creatina quinase |
| CK-MM | Creatina quinase músculo-esquelética |
| CK-CC | Creatina quinase músculo-cardíaco |
| CK-BB | Creatina quinase cerebral |
| CIVM | Contração isométrica voluntária máxima |
| <i>con</i> | Contraste |
| <i>coo</i> | Entropia da matriz de co-ocorrência de níveis de cinza |
| <i>cor</i> | Correlação |
| CV% | Coeficiente de variação percentual |
| CIVM | Contração voluntária máxima |
| DMT | Dano muscular temporário |
| EAV | Escala analógica visual |
| EM | Espessura muscular |
| GLCM | <i>Grey level of Co-ocurrent Matrix</i> - Matriz de co-ocorrência de níveis de cinza |
| IC | Intervalo de confiança |
| IE | Intensidade do eco |
| Mb | Mioglobina |
| PAR-Q | Questionário de aptidão de atividade física |
| RMI | Ressonância Magnética por Imagem |
| ROI | Região de interesse |
| <i>std</i> | <i>Standard deviation</i> - Desvio padrão da GLCM |

I. INTRODUÇÃO

Os efeitos agudos de uma sessão de treinamento de força na unidade músculo-tendínea são bem documentados na literatura (Clarkson e Hubal, 2002; Paschalis *et al.*, 2005; Hyldahl e Hubal, 2014). Logo após uma sessão de exercício intenso, observa-se uma cascata de eventos fisiológicos que repercutem nas características funcionais como produção de força muscular e amplitude completa de movimento. As respostas fisiológicas levam à formação de edema local, ao aumento da produção de hormônios circulantes e às alterações de diversos marcadores bioquímicos e estruturais relacionados à lesão tecidual (Clarkson e Tremblay, 1988; Friden e Lieber, 2001; Hyldahl e Hubal, 2014).

Um dos efeitos agudos secundários ao treinamento de força mais estudados é o dano muscular temporário (DMT). O DMT se refere a um conjunto de alterações micro-estruturais agudas no tecido muscular causados por estímulos mecânicos de alta intensidade ou volume no exercício físico e perduram por aproximadamente uma semana (Clarkson e Tremblay, 1988; Friden e Lieber, 2001; Clarkson e Hubal, 2002). Supõe-se que o DMT é causado pela ruptura no retículo sarcoplasmático e túbulos transversos, assim como nas miofibrilas e nas estruturas do citoesqueleto, tais como a linha Z, alfa-actina e desmina (Friden e Lieber, 2001; Yu *et al.*, 2013). Estudos em humanos têm contribuído para entendimento do DMT através de diferentes formas de avaliação e análise. As intervenções agudas mais aplicadas para estudo do DMT são corridas de longa distância em declive (Sorichter *et al.*, 2001), exercícios de alongamento (Chen *et al.*, 2011) e principalmente exercícios de força excêntrica (Howatson *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012).

Marcadores indiretos são usados para determinação clínica e quantificação do DMT, como redução da amplitude de movimento (Chen *et al.*, 2009), da capacidade de produção de força voluntária (Iguchi e Shields, 2010) e aumento da percepção de desconforto muscular de início tardio (*Deleyed Onset Muscle Soreness - DOMS*) (Nosaka *et al.*, 2002). Marcadores sanguíneos bioquímicos como isoenzimas citoplasmáticas pela Mioglobina (Mb) e Creatina Quinase (CK) são estudados pela relação com o extravasamento de estruturas miofibrilares na corrente sanguínea ou mecanismos de regeneração tecidual (Sorichter *et al.*, 2001; Neubauer *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2012)

Através de estudos com animais e baseado na relação comprimento-tensão do músculo-esquelético, o DMT pode se apresentar mais acentuado em regiões do músculo com sarcômeros mais frágeis e em maiores comprimentos musculares (Warren *et al.*, 1993; Hunter e Faulkner, 1997). O processo de ruptura desses sarcômeros mais frágeis em detrimento dos mais fortes está pautado na teoria proposta por MORGAN (1990) de ruptura dos sarcômeros (*popping sarcomere*) na fase descendente da relação comprimento-tensão, principalmente durante a tensão passiva com o alongamento da miofibrila. Em geral, a literatura analisa o DMT em apenas em um sitio muscular (Saka *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012) e desta forma generaliza o único resultado para o que ocorre em todo músculo. Neste sentido, ainda não há esclarecimento científico sobre a homogeneidade do DMT ao longo do comprimento muscular.

Até o presente momento, foram encontrados apenas seis estudos que avaliaram o DMT em diferentes comprimentos musculares. Um por percepção de desconforto não-homogênea por pressão em seis locais dos flexores do cotovelo (Dierking *et al.*, 2000), desconforto por pressão e atividade mioelétrica dos músculos do quadríceps (Hedayatpour *et al.*, 2008) e edema homogêneo por circunferência do braço (Chen,

2003; Chen e Nosaka, 2006b). JUBEAU *et al.* (2012) compararam diferentes comprimentos musculares pelo DOMS e THIEBAUD *et al.* (2013) avaliaram o edema por circunferência e espessura muscular (EM) via ultrassom (US) em dois comprimentos e não encontraram variações estatísticas entre eles. Sendo assim, ainda não está esclarecido na literatura como o DMT se comporta em diferentes comprimentos musculares. Em intervenções crônicas, já foram encontradas alterações heterogêneas entre EM em diferentes comprimentos dos flexores do cotovelo (Matta *et al.*, 2011). Este fato também foi observado com base nas variações heterogêneas de fibras musculares ao longo do comprimento do bíceps braquial em contração isométrica (Pappas *et al.*, 2002). Desta forma, supõe-se que o DMT pode não ser homogêneo em diferentes comprimentos musculares.

Para avaliação do DMT local, a análise de ultrassonografias tem sido muito utilizada na pesquisa científica (Nosaka e Sakamoto, 2001; Chen e Nosaka, 2006b; Radaelli *et al.*, 2012), uma vez que é uma ferramenta não-invasiva e de baixo custo relativo quando comparada a outros instrumentos para aquisição de imagens. Uma aplicação desta técnica é a determinação do edema por uma imagem transversal, considerado um marcador indireto do DMT local (Nosaka e Sakamoto, 2001). Sem o uso do US, o edema tem sido estimado impropriamente pela circunferência do segmento e não do músculo (Gleeson *et al.*, 2003; Chapman *et al.*, 2006). Este parâmetro também pode ser quantificado em ultrassonografias pela área de seção transversa anatômica (ASTA) em duas dimensões (Foley *et al.*, 1999; Chan, Newton e Nosaka, 2012) ou pela EM por ultrassonografias (Radaelli *et al.*, 2012).

Além do edema, a ultrassonografia modo-B pode auxiliar na análise da textura de imagem do músculo, sendo assim considerado um marcador estrutural e local. A literatura sugere que o extravasamento de material das estruturas dos sarcômeros,

quando o músculo está lesionado e inflamado, altera o brilho da imagem de US (Proske e Morgan, 2001) deixando a imagem em tons de cinza mais próximos ao branco (Pillen *et al.*, 2006). Em doenças neuromusculares e processos regenerativos de lesões, o tecido muscular pode ser substituído por tecido fibroso, resultando em transições de tecidos com diferentes impedâncias acústicas (Kuo e Carrino, 2007). Como consequência, a imagem de músculos lesionados se diferenciaria por grandes reflexões a partir do feixe de US, o que explica a tonalidade mais clara nas ultrassonografias em distrofias musculares como a síndrome de *Duchenne* (Nielsen *et al.*, 2006; Pillen e Van Alfen, 2011). No intuito de quantificar essas alterações em ultrassonografias, a intensidade do eco (IE) média de uma região de interesse (*Region of interest* - ROI) da imagem tem sido amplamente usada na pesquisa aplicada à área de exercícios físicos para avaliação do DMT (Nosaka e Sakamoto, 2001; Pillen e Van Alfen, 2011; Radaelli *et al.*, 2012).

A variação relativa da IE nestes estudos é fornecida pelo histograma de distribuição de escalas de cinza dos valores dos *pixels* em uma dada ROI previamente selecionada e que normalmente varia entre um e quatro cm², dependendo do músculo estudado (Nosaka e Sakamoto, 2001; Pillen e Van Alfen, 2011; Chan *et al.*, 2012). Esta análise apresenta importantes limitações como a impossibilidade de avaliação de variações espaciais da ROI (Chen *et al.*, 2009). Neste sentido, outras estratégias mais complexas e robustas de análise da imagem podem ser aplicadas, como já foi realizado pela textura bidimensional de imagens em tumores mamários em ultrassonografias (Huber *et al.*, 2000; Alvarenga *et al.*, 2007).

A avaliação da textura bidimensional da imagem se baseia em diferentes técnicas de funções de variação espacial na intensidade dos *pixels* e que pode ser quantificada por variáveis estatísticas como Markoviano, a curva de complexidade (CC) e a matriz de co-ocorrência de níveis de cinza (*Grey Level of Co-ocurrence Matrix* -

GLCM) entre outras (Baheerathan *et al.*, 1999; Al-Janobi, 2001; Alvarenga *et al.*, 2007). Existem relatos na literatura que descrevem aproximadamente 1400 variáveis estatísticas de textura para auxiliar na caracterização de tumores de mama por ultrassonografias (Gómez *et al.*, 2014). Dentre as aplicações da análise da textura bidimensional em tecidos biológicos, podem ser citadas a análise de imagens microscópicas para distinção de fibrose hepática (Amin e Mahmoud-Ghoneim, 2011) e o acompanhamento longitudinal de imagens cerebrais por ressonância magnética (RM) de pacientes diagnosticados com *Parkinson* (Sikio *et al.*, 2015). Estudos com animais para caracterização de lesões musculares pela análise da textura de imagens por ressonância magnéticas por imagem (RMI) também são frequentes (Mahmoud-Ghoneim *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2013; Fan *et al.*, 2014).

A literatura referente à análise de textura bidimensional do tecido muscular em humanos ainda é escassa (Turo *et al.*, 2013; Sikio *et al.*, 2014; Konig *et al.*, 2015; Molinari *et al.*, 2015). SIKIO *et al.* (2014) avaliaram a textura muscular por apenas quatro parâmetros de textura de GLCM, a partir de imagens de RMI em diferentes músculos do quadríceps em atletas de diferentes esportes, para discriminar esportes com características relacionadas ao impacto de membros inferiores. Até o presente momento, apenas TURO *et al.* (2013) mostraram que a textura pode ser aplicada para análise de músculos fora do padrão sadio. Entretanto, os autores estudaram apenas o parâmetro de entropia da GLCM na análise de ultrassonografias do músculo trapézio superior como forma de avaliação de síndrome miofascial e lesões cervicais crônicas, mostrando a sua eficácia para caracterizar indivíduos com síndromes patológicas. KONIG *et al.* (2015) apresentam a GLCM de ultrassonografias como uma ferramenta com bom potencial para avaliar imagens musculares, quando analisadas ROIs em diferentes posições e tamanhos de ultrassonografias no auxílio de diagnóstico de doença muscular dos

flexores do cotovelo. Mais recente, MOLINARI *et al.* (2015) caracterizaram tecido músculo-esquelético sadio por descritores de primeira ordem e binários usando ultrassonografias transversais de cinco músculos.

Como lacuna da literatura, identificou-se que a análise de descritores de textura bidimensional por ultrassonografia ainda não foi empregada para a caracterização do DMT, bem como os estágios de evolução deste processo em diferentes comprimentos do músculo.

OBJETIVOS

a. Objetivos gerais

O objetivo principal desta tese é avaliar o DMT em ultrassonografias dos músculos flexores do cotovelo, através de parâmetros de textura de imagens após uma sessão de treinamento de força excêntrica.

b. Objetivos específicos

- Avaliar o DMT em um comprimento muscular em mulheres destreinadas.
- Avaliar o DMT em diferentes comprimentos do braço em homens destreinados.
- Avaliar a evolução do DMT após uma sessão de treinamento de força excêntrica em apenas um comprimento muscular em mulheres destreinadas.
- Avaliar a evolução do DMT após uma sessão de treinamento de força excêntrica em diferentes comprimentos do braço em homens destreinados.
- Testar a confiabilidade e variabilidade das medidas entre dias do DMT em músculos sadios pelas variáveis: torque muscular isométrico; IE pela distribuição do histograma de escala de cinza; cinco parâmetros de textura para a GLCM como a entropia (*coo*), segundo momento angular (*asm*), desvio padrão (*std*), contraste (*con*) e correlação (*cor*) de imagens do músculo braquial.
- Acompanhar a evolução temporal das variáveis descritas ao longo de cinco dias nos instantes antes, imediatamente após o exercício e depois a 10 min, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h, com a inclusão da percepção de desconforto local induzida pela pressão padronizada em diferentes comprimentos dos flexores do cotovelo, assim como alongamento ou pressão manual.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo consiste em uma revisão bibliográfica do conteúdo relacionado ao dano muscular temporário causado pela realização de exercícios. Neste sentido, inicialmente a revisão visa esclarecer a questão fisiológica do DMT a partir da constituição muscular para posterior abordagem da inflamação e regeneração tecidual. O segundo item aborda as sinalizações do DMT através das formas de avaliação laboratoriais e clínicas mais comuns, e as manifestações típicas e os possíveis mecanismos responsáveis. Por fim, serão abordadas formas de processamento de ultrassonografias modo B como uma ferramenta útil e não-invasiva para avaliação do DMT.

2.1 Dano muscular temporário

2.1.1 Fisiologia muscular

O ventre de um músculo esquelético é formado por diversas fibras musculares agrupadas por um tecido conjuntivo chamado de epimísio. Cada fascículo, envolvido por outra camada de tecido conjuntivo, o perimísio, contém até centenas de fibras musculares alinhadas paralelamente e longitudinalmente. Uma única fibra, também envolvida por tecido conjuntivo, o endomísio, é composta por centenas a milhares de miofibrilas igualmente dispostas. Cada uma das miofibrilas possui milhares de sarcômeros em série, os quais são a unidade funcional de um músculo (Lieber e Friden, 2000) (Figura 1).

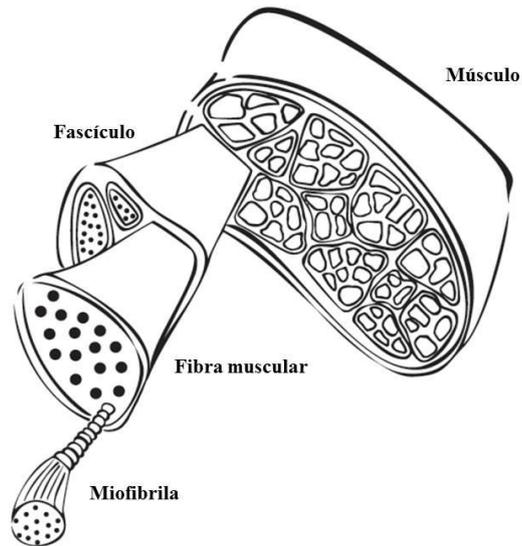


Figura 1: Representação da anatomia músculo-esquelética e suas organizações.

Os sarcômeros são compostos por várias proteínas, que atuam de acordo com a necessidade funcional do sistema durante a contração muscular. As proteínas actina, miosina e titina possuem papéis importantes na representação funcional da unidade contrátil ativa e passiva. Outras proteínas como a desmina possuem características estruturais que conectam o citoesqueleto entre a linha Z e o sarcolema (Friden e Lieber, 2001) (Figura 2).

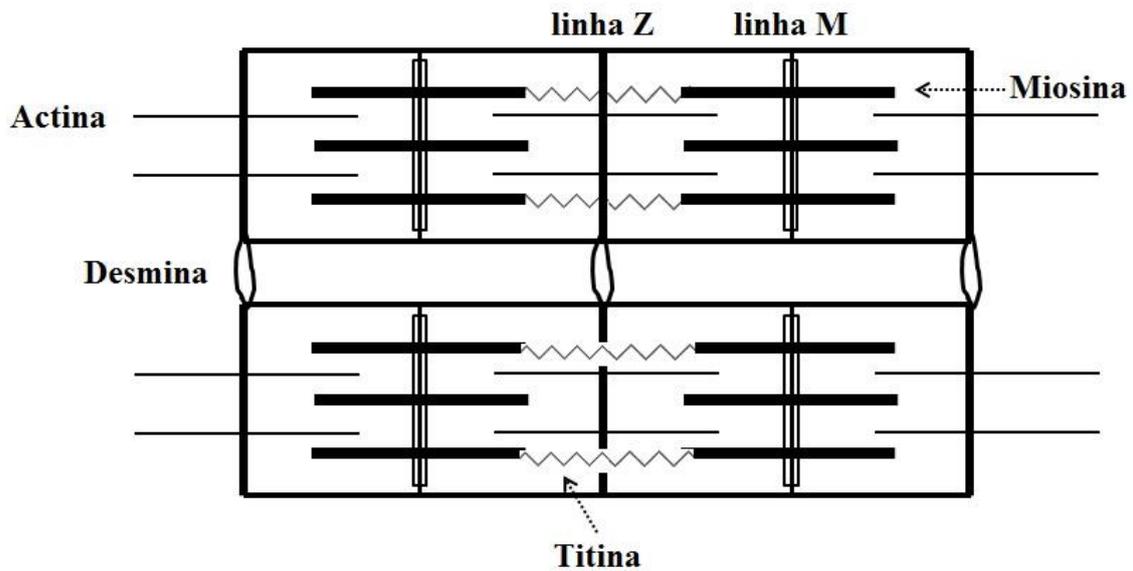


Figura 2: Ilustração de sarcômeros (dois em série e dois em paralelo) com suas proteínas contráteis e estruturais.

A organização dos sarcômeros nas fibras musculares e sua disposição ao longo do músculo caracterizam-no quanto à arquitetura muscular (Fukunaga *et al.*, 1997; Lieber e Friden, 2001), sendo classificados basicamente como músculos penados ou fusiformes. O músculo penado é caracterizado por possuir arranjo anatômico das fibras musculares em paralelo (lado a lado) e um ângulo entre a linha de ação de força gerada pelas fibras com a aponeurose profunda (ou tendão interno) do músculo (Gans, 1982; Lieber e Friden, 2001). Por meio desse arranjo, músculos penados permitem maior armazenamento de material contrátil (sarcômeros em paralelo), além de possuir fascículos curtos, comuns para produção de força (Kawakami *et al.*, 1995; Blazevich, 2006).

O músculo fusiforme possui as fibras musculares organizadas em série ligando o tendão proximal ao distal, alinhadas com a direção da ação da força sendo músculos mais longos que os penados (Lieber e Friden, 2001). Comparando músculos com a mesma massa, o músculo fusiforme possui menor quantidade de material contrátil

quando é comparado a um músculo penado com igual massa (Lieber e Friden, 2001). Sendo assim, as principais características do músculo fusiforme são: a grande excursão muscular (proporcional ao comprimento da fibra) e conseqüentemente, a produção de grandes velocidades de encurtamento durante contração e pouca força (Kawakami *et al.*, 1995; Lieber e Friden, 2001).

Quando um músculo é submetido a um grande stress mecânico como exercício excêntrico de alta intensidade, ocorre desorganização e rupturas no retículo sarcoplasmático e túbulos transversos, assim como nas miofibrilas ou estrutura do citoesqueleto (linha Z, alfa-actina e desmina) (Friden e Lieber, 2001; Yu *et al.*, 2013) (Figura 2), especialmente em indivíduos destreinados. As alterações estruturais são causadas pela tensão passiva de ações musculares voluntárias, principalmente em ações excêntricas (Proske e Morgan, 2001). Neste sentido, o processo da falha na reconexão entre as proteínas contráteis ocorre durante a ação excêntrica máxima acarretando rupturas no sarcômeros (Friden e Lieber, 2001; Peake *et al.*, 2005). Baseado na hipótese de estouro dos sarcômeros (*popping sarcomere*) mais frágeis, MORGAN (Morgan, 1990) entende que as rupturas se iniciam pelos sarcômeros mais frágeis até atingir os mais fortes (longitudinalmente e transversalmente).

As conseqüências dessas lacerações estruturais é o extravasamento de algumas proteínas no sangue, inflamação tecidual e um fenômeno fisiológico conhecido como DMT (Paulsen *et al.*, 2012). O DMT desencadeia diversos sintomas na região lesionada pelo processo inflamatório e conseqüente perda da função muscular (Peake *et al.*, 2005). Este processo de avaliação do DMT é bem documentado após contrações excêntricas aplicadas em modelos animais (Komulainen *et al.*, 1998; Komulainen *et al.*, 2000; Barash *et al.*, 2002). Sensação de dor, perda de força, redução da amplitude de

movimento e edema muscular após o esforço são os sintomas mais comuns observados como consequência do DMT.

2.1.2 Inflamação e regeneração tecidual

O sistema imune é acionado durante o processo inflamatório e regenerativo do músculo lesionado (Peake *et al.*, 2005). A inflamação é causada pela ruptura de estruturas miofibrilares e pelas alterações histológicas (Proske e Morgan, 2001; Paulsen *et al.*, 2012). Imediatamente após a laceração das estruturas musculares pelo exercício, neutrófilos são rapidamente mobilizados para a circulação e íons de cálcio (Ca^{2+}) passam a ter acesso livre ao sarcoplasma onde ativam vias proteolíticas relacionadas à degradação e reparo miofibrilar posterior (Proske e Morgan, 2001; Paulsen *et al.*, 2012). Durante esse processo, isoenzimas citoplasmáticas como a Mb e CK são liberadas no sangue (Peake *et al.*, 2005).

Após a ruptura dos sarcômeros, linfócitos são mobilizados e citocinas anti-inflamatórias são liberadas para o sistema circulatório (Peake *et al.*, 2005). Assim, os neutrófilos invadem o músculo esquelético imediatamente após o exercício e permanecem até 24-48h da mesma forma que os macrófagos, especialmente no perimísio (Toumi e Best, 2003; Peake *et al.*, 2005; Paulsen *et al.*, 2012). Neutrófilos e macrófagos contribuem para a degradação tecidual pelas reações com oxigênio e nitrogênio (Nguyen e Tidball, 2003) e também podem gerar citocinas pró-inflamatórias (Cannon e St Pierre, 1998; Toumi e Best, 2003). Todo esse processo acarreta alguns sinais histoquímicos inflamatórios comuns como o acúmulo de leucócitos (Paulsen *et al.*, 2012), gerando sintomas funcionais e respostas fisiológicas incomuns (Peake *et al.*, 2005; Howatson, Van Someren e Hortobagyi, 2007; Butterfield, 2010).

A regeneração do tecido necrosado se inicia a partir de duas horas após a instauração do dano muscular (Armstrong *et al.*, 1991), porém se efetiva entre 24-48h (Butterfield, 2010). Entretanto, em inflamações mais severas, a região lesionada começa a se regenerar a partir de 48h com a remoção da lesão tecidual pelos macrófagos e células satélites (Armstrong *et al.*, 1991; Peake *et al.*, 2005). As células satélites se localizam abaixo da lâmina basal e sarcolema (fora da membrana plasmática) e se estimuladas, desencadeiam regeneração miofibrilar (Paulsen *et al.*, 2012). As células satélites se proliferam abrangendo a área lesionada com aparente reorganização e fundindo as estruturas do sarcômero em até 10 dias (Friden, 1984; Butterfield, 2010; Paulsen *et al.*, 2012).

A repetição de exercícios gera adaptações e os efeitos principais de redução da função muscular são atenuados ou desaparecem (Chen, 2003; Peake, *et al.*, 2005; Butterfield, 2010). A resposta fisiológica pela repetição de intervenções de força pode ser analisada pela diminuição de até 45% da quantidade de neutrófilos circulantes na corrente sanguínea (Pizza *et al.*, 2001). Diversos estudos efetivam o conceito do efeito protetor de uma segundo estímulo de força, caracterizado pela diminuição dos sintomas e medidas que compõem a DMT (Clarkson e Sayers, 1999; Nosaka *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2012). O efeito protetor pode ser avaliado de acordo com diversas variáveis do treinamento de força ou características do estímulo através de medidas diretas ou indiretas do DMT (Chen *et al.*, 2013; Lau *et al.*, 2015).

2.2. Formas de avaliação do dano muscular temporário

De uma forma geral, é clara a associação da avaliação clínica à intensidade do DMT (Proske *et al.*, 2005), que pode ser causada por diversos fatores de intervenção, características da amostra, tipo de atividade ou organização das fibras musculares

(Totsuka *et al.*, 2002; Chen e Nosaka, 2006b; Chen *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2011). As formas de avaliação do DMT podem ser divididas em clínicas e exames laboratoriais.

2.2.1 Avaliação clínica

Após a ruptura das estruturas músculo-esqueléticas e suas consequências histoquímicas, alguns sinais clínicos podem ser observados e são utilizados para determinação e quantificação do DMT. A literatura científica é ampla quando associa o DMT aos marcadores indiretos relacionados ao exercício excêntrico (Brancaccio, Lippi e Maffulli, 2010). Grande parte dos estudos aplicados avaliam os sintomas clínicos clássicos como a perda de amplitude de movimento (Chen *et al.*, 2009), capacidade de produção de torque máximo (Iguchi *et al.*, 2010) e DOMS (Nosaka *et al.*, 2002).

2.2.1.1 Produção de força voluntária

A consequência do DMT pode ser facilmente percebida pela diminuição da produção de força voluntária (Hubal *et al.*, 2007). O declínio do torque máximo pós-intervenção é um dos marcadores indiretos mais confiáveis (Paulsen *et al.*, 2012). Imediatamente após a intervenção, fisiologicamente o DMT se mistura com a fadiga muscular e gera a perda de produção de força. A queda da produção de força voluntária pode alcançar valores extremos entre 90-50% da contração voluntária máxima (CVM) e este sintoma pode durar até duas semanas (Clarkson *et al.*, 2005; Paulsen *et al.*, 2012). Assim como outros marcadores do DMT, a recuperação da força muscular depende do tipo de estímulo causador (Jamurtas *et al.*, 2005; Umbel *et al.*, 2009), isto é, depende da intensidade e volume da intervenção.

Fatores relacionados à arquitetura muscular como organização das fibras musculares (Jamurtas *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2011) ou característica da amostra

(Flores *et al.*, 2011), também pode influenciar no DMT. A definição dos mecanismos responsáveis pela redução de força pelo DMT ainda não está clara na literatura, assim algumas hipóteses ainda são testadas pela comunidade científica (Hyldahl e Hubal, 2014).

Inúmeros fatores periféricos contribuem para essa consequência, como por exemplo: os efeitos metabólicos da fadiga através da ruptura de proteínas contráteis (Endoh *et al.*, 2005), o aumento da acidose e ruptura do sistema de excitação-acoplamento e os mecanismos lesivos causados pelo exercício pela falha de transmissão de componentes neurais centrais para geração da força muscular (Prior *et al.*, 2001; Proske *et al.*, 2005). Pouco se sabe sobre a restrição do *drive* neural desde o comando em níveis superiores do sistema nervoso central até a ativação muscular periférica, entretanto a teoria mais aceita ainda é baseada na proposta por WARREN *et al.* (1993). Os autores descrevem que a queda na produção de força ocorre pela disfunção dos canais de Ca^{2+} dificultando a passagem do estímulo para a excitação-contração muscular (Warren *et al.*, 1993; Warren *et al.*, 2000). O mecanismo de disfunção de excitação-acoplamento pode durar até três dias e é responsável por 75% da perda de força, aproximadamente (Warren *et al.*, 2002).

O desempenho do torque máximo ao longo do tempo após a instauração do DMT depende do tipo de intervenção a qual o indivíduo é submetido assim como a forma de avaliação do torque máximo em amplitudes articulares diferentes (Jones, *et al.*, 1989; Iguchi *et al.*, 2010; Skurvydas *et al.*, 2010). Contrações excêntricas acarretam em alterações da relação tensão-comprimento, principalmente na fase descendente, e conseqüentemente dependem da angulação a qual o grupamento é avaliado *in vivo* (Proske *et al.*, 2005).

De uma forma geral, a perda de desempenho na produção de força ocorre imediatamente após a intervenção, perdurando até duas semanas (Clarkson *et al.*, 2005; Paulsen *et al.*, 2012). Existe uma relação temporal determinável entre perda de força após a intervenção e os mecanismos responsáveis (Hubal *et al.*, 2007). Logo após a intervenção, a fadiga neural (interrupção da excitação-acoplamento) pode ser o principal mecanismo causador da diminuição na produção de força (Warren *et al.*, 2002). Estudos com avaliação das variáveis de estimulação magnética transcraniana e eletromiografia de superfície apresentam diminuição significativas de até 19% dos sinais (Prasartwuth *et al.*, 2006; Hubal *et al.*, 2007), entretanto parece que os sinais neurais se restabelecem 24 h após a DMT (Prasartwuth *et al.*, 2006). Associado à fadiga, o processo inflamatório pela ruptura estruturais do sarcômero durante alguns instantes após o exercício (Newham *et al.*, 1983). Sendo assim, perdura por até duas semanas e pode ser considerada como mecanismo tardio uma possível hipótese para a diminuição do desempenho de força máxima (Newham *et al.*, 1983; Jones *et al.*, 1989; Paulsen *et al.*, 2012).

2.2.1.2 Percepção de desconforto de início tardio

O parâmetro clínico mais perceptível é o DOMS. A sensação de DOMS após o exercício, sobretudo excêntrico, em indivíduos destreinados é proporcional ao tempo entre a intervenção e a avaliação (Howatson e Van Someren, 2008). Em geral o DOMS é mais proeminente em 24-48h pós-exercício, podendo durar até aproximadamente cinco dias (Howatson e Van Someren, 2008; Mizumura e Taguchi, 2016). Entretanto, a percepção de desconforto é uma medida subjetiva e sendo assim, dependente da avaliação individual e conseqüentemente apresenta grande variabilidade para uma

mesma magnitude do estímulo mecânico (Mizumura e Taguchi, 2016) e gênero (Dannecker *et al.*, 2012).

De acordo com a revisão de ARMSTRONG *et al.* (1991), três mecanismos são propostos como responsáveis pela sensação de dor causada pelo exercício: interrupção da homeostase de Ca^{2+} , rupturas da estrutura do sarcômero e aumento da sensibilidade das terminações nervosas. De certa forma, os três mecanismos podem atuar concomitantemente gerando o desconforto através da cascata desses eventos fisiológicos (Hyldahl e Hubal, 2014), sendo o último como amplificador de percepção-avaliação da dor.

O cenário da percepção do desconforto gerado pelo exercício pode ser resumido pela revisão de HYDAHL e HUBAL (2014). Através de uma cascata de eventos fisiológicos, os autores mostram que este se inicia pela liberação de proteínas das fibras musculares danificadas pelo exercício excêntrico (Hyldahl e Hubal, 2014). Em seguida, toxinas são liberadas na circulação e há recrutamento das células inflamatórias, que se infiltram novamente no tecido musculo-esquelético. Na sequência, ocorre a liberação de mediadores químicos como bradicinas e prostaglandinas (Murase *et al.*, 2010), mediadores que atuam sobre os nociceptores musculares amplificando a sensação de desconforto muscular (Woolf *et al.*, 1994).

Nos estudos relacionados ao DOMS, diferentes formas são aplicadas para quantificação. A forma mais comum de determinação do desconforto ocorre através de escalas analógicas e visuais, no qual o voluntário o determina em um valor em escala analógica visual (EAV) de 5, 10, 50 ou 100 mm (Aboodarda *et al.*, 2011; Thiebaud *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2013). Além disso, a literatura apresenta diferentes testes para determinar a dor, sendo os mais comuns o alongamento passivo ou a contração voluntária do grupamento muscular treinado (Nosaka *et al.*, 2002; Newton *et al.*, 2008)

e a marcha lenta no caso de membros inferiores (Mchugh e Nesse, 2008). Outra forma comum de teste seria pela palpação subjetiva e manual pressionando o ventre muscular com três dedos (Nosaka *et al.*, 2002). Entretanto parece que essa forma de pressionar a pele não é a mais controlada e ideal para avaliação científica. Sendo assim, a padronização da pressão pode ser uma estratégia interessante e viável com uso de uma célula de carga ou algômetro de pressão previamente determinada, por exemplo, 40N/cm² (Fischer, 1987; Jones *et al.*, 1987; Dierking *et al.*, 2000).

Os testes de alongar ou contrair o grupamento muscular, ou do movimento voluntário, podem ser considerados como medidas globais e simplificadas de indução ao desconforto no músculo como todo. Apenas o teste de palpação manual e ou pressão padronizada são capazes de realizar a avaliação local em diferentes sítios musculares (Dierking *et al.*, 2000; Hedayatpour *et al.*, 2008). Sendo assim, a avaliação da sensação de dor local ainda é uma medida pouco explorada pela literatura.

2.2.1.3 Edema

Outro efeito do DMT é a formação do edema local, considerado marcador indireto (Lefebvre *et al.*, 1995). O mecanismo responsável pela formação do edema muscular está associado à ruptura das estruturas acarretando processo inflamatório celular, conseqüente aumento da circulação sanguínea local e aumento da permeabilidade capilar (Clarkson e Hubal, 2002). Para a análise clínica, o edema é medido basicamente pela circunferência de todo segmento (Gleeson *et al.*, 2003; Chen e Nosaka, 2006b; Chen *et al.*, 2009). Medidas mais complexas como volume muscular do segmento via pletismografia também são usadas (Bobbert *et al.*, 1986).

Técnicas de imagem como tomografia computadorizada (TC), RMI ou US, são usadas para quantificar edema, baseadas em variáveis da arquitetura muscular (Foley *et*

al., 1999; Chan *et al.*, 2012; Radaelli *et al.*, 2012). Variáveis como ASTA de alguns músculos são facilmente medidas por ultrassonografia utilizando a ferramenta de extensão do campo de visão, que permite visualizar imagens panorâmicas (Ahtiainen *et al.*, 2010; Noorkoiv *et al.*, 2010). Da mesma forma, transversalmente ao músculo, a EM avaliada por ultrassonografias, também pode ser um parâmetro de avaliação do DMT local, considerando marcadores estruturais de imagem (Nosaka *et al.*, 2002; Radaelli *et al.*, 2012) (Figura 3).

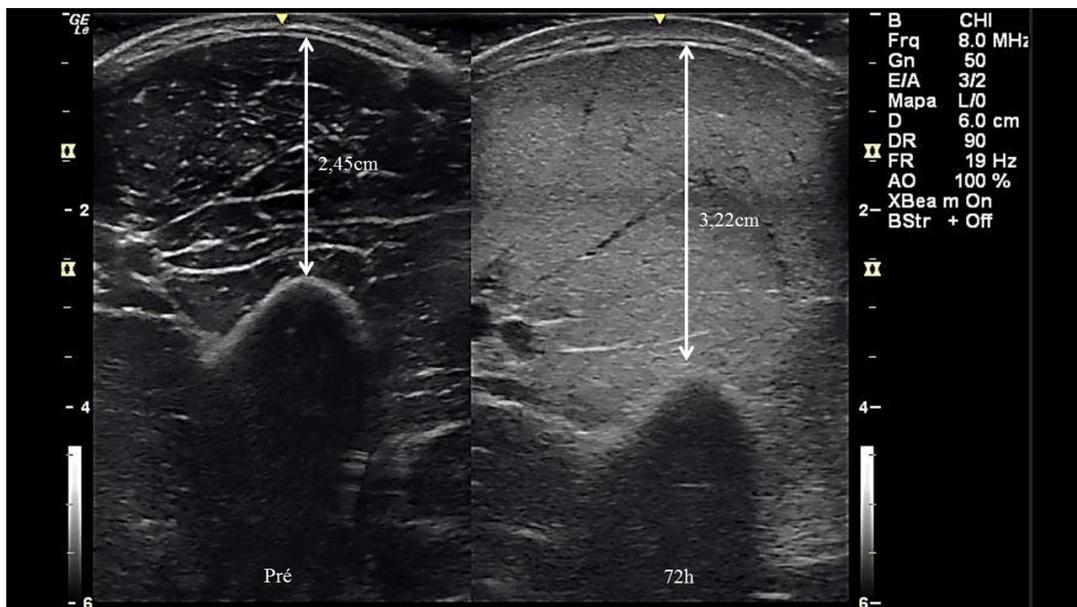


Figura 3: Ultrassonografia de músculos do braço representando o edema muscular pela espessura dos flexores do cotovelo antes (pré) e 72 h após intervenção excêntrica.

Dependendo da disposição das fibras no músculo, além do edema transversal esse fenômeno pode ser observado pelo aumento do tamanho da fibra muscular medido pelo comprimento do fascículo (CF), desta forma a deformação linear é transitória com encurtamento que pode durar até 10 minutos após de exercício extenuante de extensão do joelho (Csapo *et al.*, 2011). Neste sentido, para realizar a medida do CF, a imagem deve ser realizada com o transdutor alinhado longitudinalmente ao músculo. Caso o fascículo não possa ser completamente visualizado na imagem simples pelo tamanho do

transdutor, a literatura apresenta algumas formas para estimativa desse parâmetro (Erskine *et al.*, 2009; Guilhem *et al.*, 2011) ou pode ser aplicado pela ferramenta de extensão do campo de visão, evitando o erro de aproximadamente 14% (Noorkoiv *et al.*, 2010).

2.2.2. Medidas laboratoriais

2.2.2.1. Biópsia

Dentre as diferentes formas de avaliação do DMT, a microscopia eletrônica de imagens de biópsia com marcador de enzimas por imunohistoquímica pode ser considerada o marcador local direto e “padrão-ouro” para a DMT (Friden, 1984; Hortobagyi *et al.*, 1998; Clarkson e Hubal, 2002; Malm e Yu, 2012)

Quando submetido ao exercício de força, proteínas do citoesqueleto e sarcolema são danificadas e podem ser quantificadas pela microscopia ótica pela imagem da biópsia (Lieber e Friden, 1999; Orfanos *et al.*, 2016). A literatura apresenta estudos sobre desenvolvimento de ferramentas de medidas diretas e locais de DMT pela análise de estruturas do citoesqueleto com DMT como avaliação da linha Z (Malm e Yu, 2012), desmina (Barash *et al.*, 2002) e cadeia pesada de miosina (MHC) (Campos *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2013).

Embora seja uma técnica invasiva, a biópsia possibilita a avaliação de algumas medidas diretas do DMT que não podem ser medidas por outras ferramentas (Newham *et al.*, 1983). Entretanto o alto custo e capacitação de profissionais para uso dessa técnica podem ser importantes fatores limitantes.

2.2.2.2. Marcadores bioquímicos

É amplamente estudada a associação de diversos marcadores centrais indiretos que são liberados na corrente sanguínea secundariamente ao DMT (Nosaka e Clarkson, 1994; Wolf *et al.*, 2012; Brentano *et al.*, 2016). É comum a análise das variações da concentração de enzimas ou proteínas liberadas pela ruptura estrutural secundária ao DMT, como CK muscular ou Mb séricos (Brancaccio *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012). Como marcador de estresse oxidativo, a medida do lactato desidrogenase (LDH) é muito explorada pela literatura para determinação do DMT (Kanda *et al.*, 2013). Da mesma maneira, o DMT também pode ser quantificado através da dosagem de proteínas estruturais como alfa-actina (Martinez-Amat *et al.*, 2005), troponina-I e troponina-T (Sorichter *et al.*, 2001; Martinez-Amat *et al.*, 2005).

Alguns marcadores bioquímicos apresentados acima possuem limitações metodológicas (Friden e Lieber, 2001). A CK pode ser encontrada no músculo esquelético (CK-MM), cardíaco (CK-MB) e cerebral (CK-BB), sendo caracterizadas anormalidades se encontradas em altas taxas circulantes no sangue (Eston *et al.*, 1995). A CK-MM pode ser considerada como um dos marcadores sanguíneos mais comuns de DMT em estudos aplicados, principalmente pela facilidade de processamento (Eston *et al.*, 1995; Brancaccio *et al.*, 2010). Neste sentido, a CK-MM é usada por ser uma enzima intramuscular responsável pela manutenção dos níveis de adenosina trifosfato (ATP) durante a contração muscular, ou seja, em altas concentrações no sangue está associado à permeabilidade ou quebra das membranas envoltórias da célula muscular (Lieber e Friden, 2001). Porém, a alta variabilidade da CK pode provocar interpretações equivocadas nos estudos aplicados.

2.2.2.3. Textura de ultrassonografias

A ultrassonografia músculo-esquelética permite que se identifique facilmente as estruturas anatômicas (Pillen, 2010). Quando o pulso de US encontra tecidos com diferentes impedâncias acústicas (produto da densidade de um tecido pela velocidade com que o som se propaga), parte da onda é refletida produzindo ecos que são captados pelo transdutor receptor e transformados em uma sequência temporal de escala de cinza, formando a imagem em Modo-B a partir de linhas verticais justapostas (imagem em Modo-B) (Fish, 1990). As estruturas que não refletem o som aparecem com a cor preta na tela e são denominadas hipoecóicas. As interfaces dos tecidos com maior diferença de impedância acústica produzem ecos de maior amplitude, gerando os pontos mais claros (maiores valores na escala de cinza). Os tecidos cuja estrutura interna possui espalhadores geram um padrão de textura que se apresenta como regiões povoadas de pontos de várias tonalidades de cinza (aparência granulada). Os tecidos que possuem grande quantidade de espalhadores geram um padrão denominado hiperecóicos (Peetrons, 2002; Puthucheary *et al.*, 2015).

O músculo esquelético saudável de um voluntário destreinado, em geral, aparenta tonalidade mais escura pela estrutura hipoecóica além de ser constituído por pouco tecido fibroso e ocorrendo pouco espalhamento (Pillen e Van Alfen, 2011). Em doenças neuromusculares e processos regenerativos de lesões, o tecido muscular pode ser substituído por tecido fibroso além de músculo, resultando em transições com diferentes impedâncias acústicas, e conseqüentemente grandes reflexões do feixe de US. Isto explica o tom de cinza mais claro nas imagens em distrofias musculares como a de *Duchenne* (Pillen, 2010). Assim, alguns estudos sugerem que se o local avaliado estiver lesionado em níveis mais brandos, o extravasamento de material das estruturas dos sarcômeros alteraria a tonalidade da imagem adquirida, tornando-a mais próxima aos

tons de cinza mais claros (Proske e Morgan, 2001; Pillen *et al.*, 2006). O modo de quantificar a variação da tonalidade da imagem se torna parte integrante da literatura conhecida como textura da imagem. A quantificação da textura pode ser realizada por características de primeira ou segunda ordem como descrito a seguir.

i. Intensidade do eco

O histograma de distribuição de tons de cinza auxilia a quantificar a IE por expressões estatísticas de primeira ordem, normalmente aplicadas à medidas de tendência central (Caresio *et al.*, 2015). A sua aplicação em ultrassonografias tem sido usada como parâmetro de análise do estado do tecido muscular. A IE depende da diferença de impedância acústica entre os tecidos (Cerri *et al.*, 1980). A avaliação da IE pode ser realizada visualmente, porém este método se torna subjetivo e dependente da experiência do observador (Pillen *et al.*, 2006). A IE varia de acordo com a idade, gênero e nível de treinamento do indivíduo, o que dificulta determinar se as alterações nos níveis de cinza estão dentro da normalidade, de acordo com as variáveis em questão (Reimers *et al.*, 1996).

A IE é obtida a partir de recursos disponíveis em *softwares* comerciais ou em aplicativos gratuitos de análise de imagens e quantificada pelo valor médio do histograma de distribuição de *pixels* da escala de cinza na ROI (Pillen *et al.*, 2006). Os *pixels* em uma imagem são representados numa escala que varia de 0 a 255 tons de cinza em um sistema de representação de brilho que possui oito bits de resolução (Pillen e Van Alfen, 2011). Para exemplificar a medição da IE, a Figura 4 apresenta duas imagens e seus respectivos histogramas de escalas de cinza, com valores de média em geral usados para classificar a IE (Nosaka e Sakamoto, 2001; Chen e Nosaka, 2006b; Radaelli *et al.*, 2012).

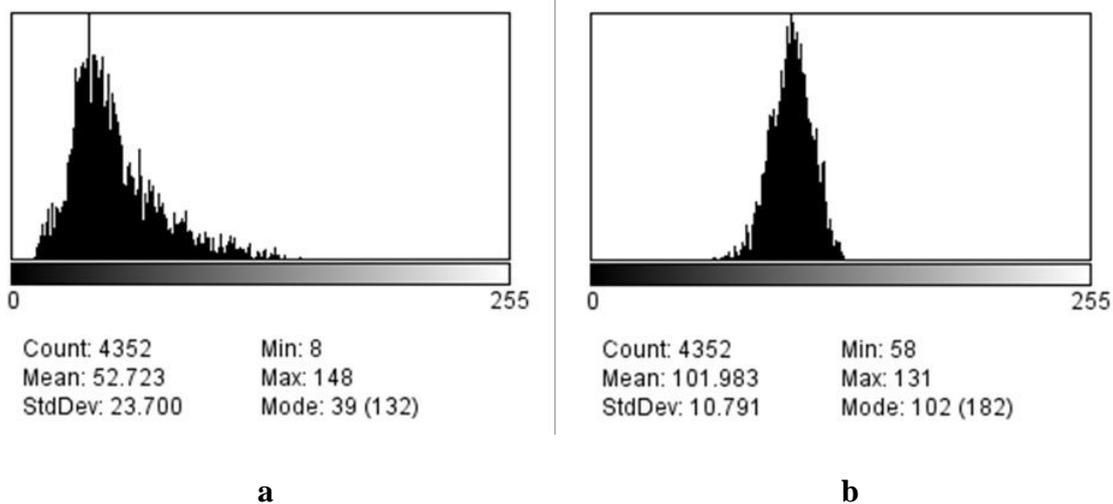
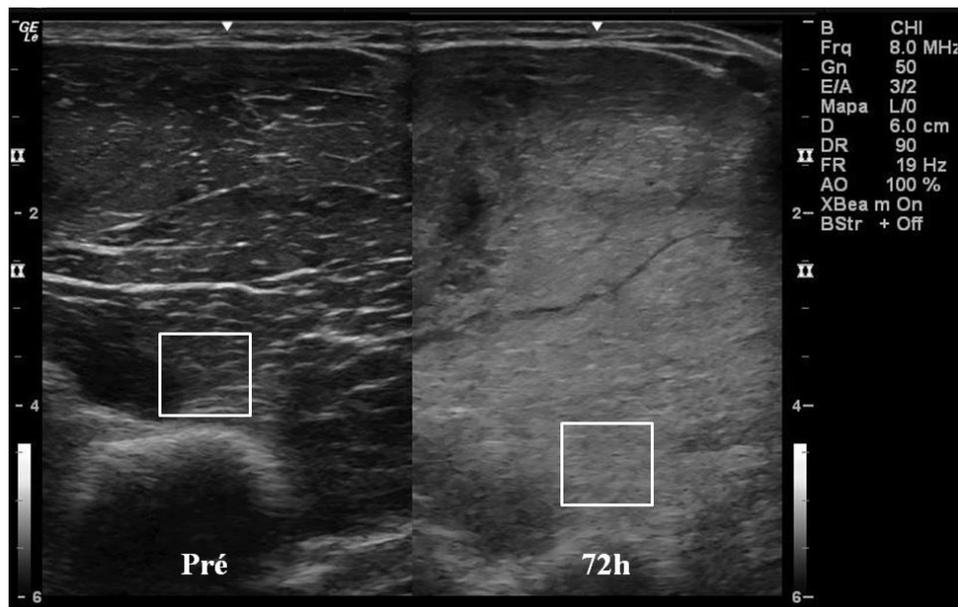


Figura 4: Representação ilustrativa da IE medida em duas imagens pré (a) e 72 h após a intervenção excêntrica. (b) Histograma obtido pelo *software* livre *ImageJ*.

Na análise da IE duas imagens podem apresentar distribuição espacial de *pixels* diferentes, porém com um mesmo histograma, já que este ignora a informação espacial. Isto pode tornar esta abordagem menos robusta para diagnóstico do DMT. Geralmente nesses estudos a metodologia da escolha da ROI é escassamente detalhada, principalmente quanto aos critérios de medição nos diferentes momentos de acompanhamento do DMT (Chen e Nosaka, 2006b). Diferente das imagens

apresentadas nos estudos anteriores, a posição ideal para escolha da ROI poderia partir de detalhamento de outras estruturas facilmente identificadas, como o úmero e aponeurose entre os músculos (Figura 5).

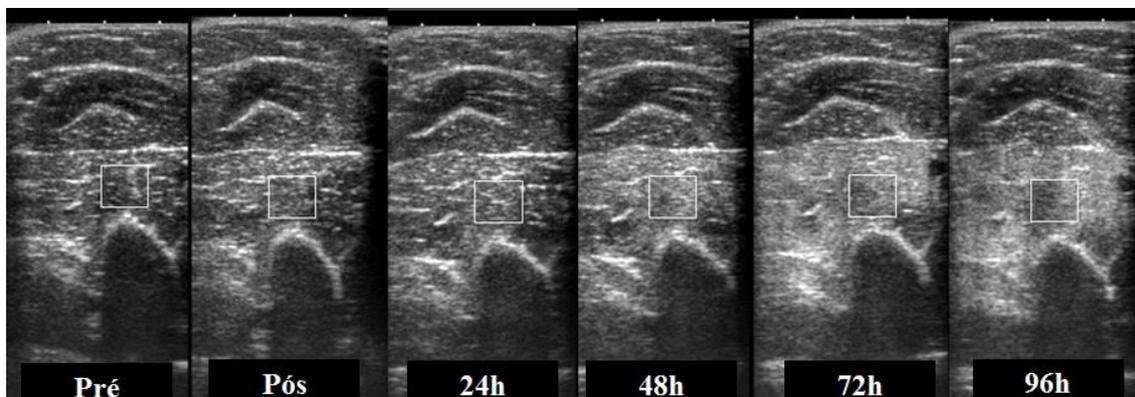


Figura 5: Exemplo do local adequado para marcação da ROI dos flexores do cotovelo ao longo de cinco medidas em momentos diferentes após treinamento excêntrico. Neste exemplo, a variação pode ser observada visualmente, por comparação das ROIs.

ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza

A avaliação da textura bidimensional da imagem se baseia em uma função de segunda ordem da variação espacial na intensidade dos *pixels* que pode ser quantificada por variáveis estatísticas (Baheerathan *et al.*, 1999; Al-Janobi, 2001; Alvarenga *et al.*, 2007). A determinação destas variáveis é gerada pela extração de informação de uma imagem por meio de definições de operações estatísticas sobre a posição relativa dos *pixels*, com o objetivo de quantificar alguma característica referente à variação nos níveis da escala de cinza e a sua distribuição espacial na imagem (Tourassi, 1999; Al-Janobi, 2001). A textura de uma imagem também pode ser definida pela relação estatística ou estrutural entre os *pixels*, fornecendo medidas de propriedades do tecido (Baheerathan *et al.*, 1999).

Essa ferramenta de análise de imagem já vem sendo usada em diversos tecidos humanos e sua aplicação auxilia ao diagnóstico de enfermidades. Dentre as aplicações da textura nos tecidos biológicos podemos citar estudos com a análise de imagens microscópicas para distinção de fibrose de fígado (Amin e Mahmoud-Ghoneim, 2011) ou acompanhamento longitudinal de imagens por RMI de pacientes diagnosticados com *Parkinson* (Sikio *et al.*, 2015). Ainda existem poucos relatos na literatura com o uso da análise da textura em ultrassonografias para avaliação músculo-esquelética. Para outros tecidos, por exemplo, a literatura possui estudos aplicados para a distinção entre tipos de tumores mamários como resultados complementares à mamografia (Alvarenga *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 2014). Entretanto, a literatura referente à caracterização da textura bidimensional de ultrassonografias de músculos esqueléticos ainda é escassa. Até o presente momento, apenas estudos com caracterização de síndromes miofaciais de trapézio superior (Turo *et al.*, 2012) e lesões cervicais crônicas do mesmo músculo (Turo *et al.*, 2013) são encontrados na literatura.

Neste sentido, a análise da textura bidimensional de ultrassonografias pode apresentar grande potencial para auxiliar na determinação de diferentes níveis de DMT. A utilização de medidas de tendência central de histograma de escalas de cinza talvez tenha suas limitações como ferramenta para avaliação da imagem (Huber *et al.*, 2000). Sendo assim, uma possível estratégia complementar ao processamento da imagem pela IE é a análise da textura bidimensional da imagem (Baheerathan, *et al.*, 1999).

A GLCM é uma das possibilidades para quantificação das características de uma imagem para textura. Os parâmetros obtidos a partir da GLCM são formas de caracterizar a posição relativa entre os *pixels* da imagem da ROI selecionada (Huber *et al.*, 2000). A GLCM é um histograma bidimensional de níveis de cinza ($G \times G$ níveis de cinza) de uma imagem $f(x,y)$ e tamanho $M \times N$ da ROI que descreve a ocorrência de

pares de *pixels* de valores $\{i,j\} \in [0,1,\dots,G-1]$, separados por uma distância d , numa determinada direção α (Al-Janobi, 2001) e dependente da quantidade de tons de cinza (Figura 6).

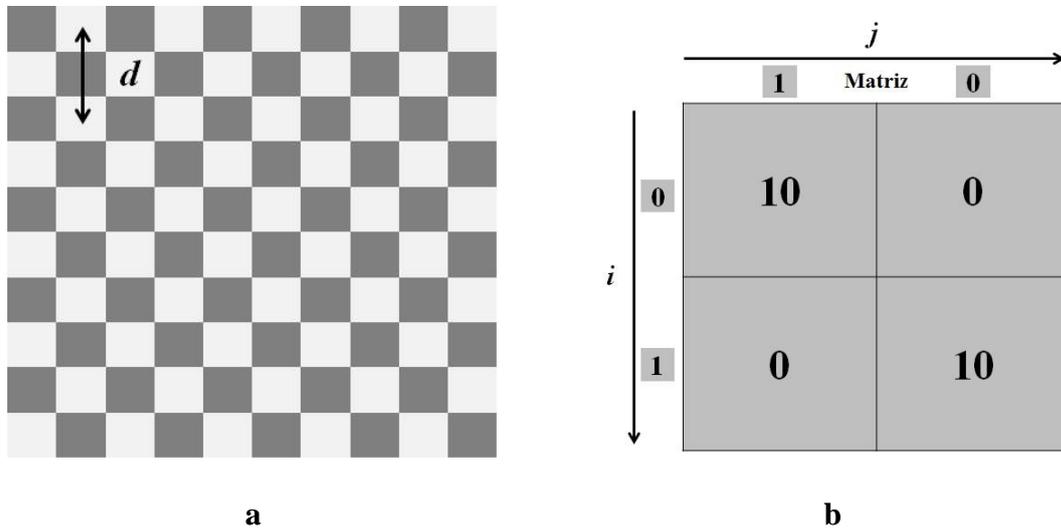


Figura 6: Determinação de GLCM (b) $m(i,j)$, a partir da imagem (a) $f(x,y)$ de dois tons de cinza (0 e 1, sendo o último mais escuro) para distância d de dois *pixels* e direção α vertical. A matriz $m(i,j)$ resulta em 10 pares $\{0,1\}$ e em $\{1,0\}$.

De acordo com o estudo de CLAUSI (2002), a quantidade de tons de cinza é um importante fator na GLCM. Em princípio, quanto maior a quantidade de tons de cinza, maior é a exatidão da informação da textura extraída da imagem (Clausi, 2002).

A partir da GLCM obtida dentro da ROI escolhida na imagem, alguns parâmetros estatísticos podem ser obtidos:

a) Entropia (*coo*)

A *coo* mede quão aleatória é a textura da imagem. Valores elevados de *coo* indicam uma distribuição aleatória de níveis de cinza da GLCM. A *coo* pode ser expressa por:

$$coo = - \sum_{i,j} m^2(i,j) \cdot \log[m^2(i,j)] \quad (\text{Equação 1})$$

b) Segundo momento angular (*asm*)

O *asm* mede a homogeneidade na transição entre níveis de cinza na textura da imagem. Uma maior homogeneidade ou um padrão regular de textura implica geralmente valores elevados de *asm*. O *asm* é obtido por:

$$asm = \sum_{i,j} m(i,j)^2 \quad (\text{Equação 2})$$

c) Desvio padrão (*std*)

O *std*, também chamado de grau de espalhamento dos níveis de cinza entre pares de *pixels*, é dado por:

$$std = \sqrt{1/G^2 \sum_{i,j} \langle m(i,j) - \bar{m} \rangle^2} \quad (\text{Equação 3})$$

onde *G* é o número de níveis de cinza presentes na imagem e *m* o valor médio da matriz *m(i,j)*.

d) Contraste (*con*)

O *con* é a medida da dispersão ou da variabilidade local da imagem. Imagens com muitas variações locais de níveis de cinza tendem a fornecer valores elevados de contraste. O *con* é dado por:

$$con = \sum_{i,j} (i - j)^2 \cdot m(i,j) \quad (\text{Equação 4})$$

e) **Correlação (*cor*)**

A *cor* é a medida da dependência local entre os níveis de cinza em uma textura. Valores elevados de *cor* são obtidos para regiões com elevada similaridade entre os níveis de cinza. A *cor* pode ser expressa por:

$$cor = \frac{\sum_{i,j} i \cdot j \cdot m(i,j) - m_x m_y}{\sigma_x \cdot \sigma_y} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde

$$\bar{m}_x = \sum_i i * (\sum_j m(i,j)|_{i=0,\dots,G-1}) \text{ e } \bar{m}_y = \sum_j j * (\sum_i m(i,j)|_{j=0,\dots,G-1})$$

$$\sigma_x^2 = \sum_i (\sum_j m(i,j)|_{i=0,\dots,G-1}) * (i - \bar{m}_x)^2 \text{ e}$$

$$\sigma_y^2 = \sum_j (\sum_i m(i,j)|_{j=0,\dots,G-1}) * (j - \bar{m}_y)^2$$

2.3. Dano muscular temporário em diferentes comprimentos musculares

A maioria dos estudos investiga o DMT em apenas um local do músculo (Cadore *et al.*, 2012; Yanagisawa *et al.*, 2015). Foram encontrados somente seis estudos com avaliações do DMT em mais de um comprimento muscular, todos identificados e descritos cronologicamente a seguir (Dierking *et al.*, 2000; Chen, 2003; Chen e Nosaka, 2006b; Hedayatpour *et al.*, 2008; Jubeau *et al.*, 2012; Thiebaud *et al.*, 2013).

DIERKING *et al.* (2000) realizaram um experimento em 40 mulheres destreinadas realizando contrações excêntricas com 140% da carga para uma repetição máxima concêntrica em uma barra livre para flexão de cotovelo. Como resultado principal, o indicador de DOMS por pressão foi maior na região próxima à junção miotendínea distal dos flexores do cotovelo do que em outros comprimentos do músculo, 72 h após a intervenção.

CHEN (2003) avaliou 16 homens jovens destreinados realizando 30 repetições excêntricas com 60°/s de velocidade angular constante em um dinamômetro isocinético. O autor avaliou apenas o edema pela circunferência do braço em quatro diferentes comprimentos do segmento (4, 6, 8, 10 cm do cotovelo). Como resultado, o autor afirma que não foram encontradas diferenças significativas entre as circunferências dos comprimentos do braço medidas e que as mesmas variaram 7%, aproximadamente.

O estudo de CHEN e NOSAKA (2006b) avaliou 41 homens e 10 mulheres, todos atletas de diversas modalidades. A intervenção foi composta por 30 repetições da fase excêntrica dos flexores do cotovelo sendo realizada com 100% do valor encontrado no teste de CIVM. Os autores avaliaram a circunferência do segmento em 4 e 8 cm da linha do cotovelo e não encontraram diferenças significativas entre os dois comprimentos do braço, entretanto relataram aumento significativo no comprimento de 8 cm em 48 h para a medida antes da intervenção. Quanto às medidas realizadas nas ultrassonografias, foi encontrado aumento de aproximadamente 20% para IE e EM. Entretanto, os autores não apresentaram se houve variação significativa entre os dois comprimentos musculares medidos.

HEDAYATPOUR *et al.* (2008) avaliaram 11 homens saudáveis até três dias após quatro séries de 25 repetições excêntricas para os extensores do joelho com velocidade angular de 60°/s. Os autores encontraram maiores sinais de DOMS na parte distal quando comparado ao trecho proximal dos extensores do joelho (vasto lateral e medial) a partir de pressão padronizada por um algômetro após dois e três dias da intervenção excêntrica. Os autores também avaliaram a distribuição do sinal eletromiográfico com o mesmo comportamento da percepção da dor do sinal no domínio do tempo, com o valor médio retificado. Entretanto, para a frequência mediana

os resultados dos sinais EMG obtidos foram opostos, com maiores valores para a parte proximal dos extensores do joelho.

CHEN *et al.* (2009) avaliaram 15 homens destreinados. A intervenção foi composta por quatro séries de 30 repetições da fase excêntrica dos flexores do cotovelo com velocidade angular de 90°/s. Os autores avaliaram a circunferência do segmento em 4, 6, 8 e 10 cm da linha do cotovelo e não apresentaram variações entre os comprimentos, em 8 cm do cotovelo a circunferência aumentou aproximadamente 4% em 72 h. Em relação às medidas realizadas nas ultrassonografias, foi encontrado aumento de cerca de 20% para EM.

JUBEAU *et al.* (2012) avaliaram DOMS em cinco diferentes comprimentos musculares, direcionando a avaliação para o bíceps braquial em três comprimentos e dois comprimentos para o braquial e braquiorradial de homens destreinados. As medidas foram realizadas por pressão manual e com auxílio de um algômetro de pressão padronizada. Houve variação significativa em 24 h e 48 h após contrações isométricas e eletroestimulação como intervenção. Entretanto não foram encontradas diferenças entre os diferentes locais do músculo.

O estudo mais recente que avaliou o DMT em diferentes comprimentos mediu o edema pela EM e circunferência em uma distância fixa de 10 cm da articulação do cotovelo e a 50% do comprimento do segmento em intervenção de baixa intensidade e com restrição parcial do fluxo sanguíneo (Thiebaud *et al.*, 2013). As variações significativas na EM foram percebidas apenas imediatamente após a intervenção, com resultados de aproximadamente 3% para 50% do comprimento do braço e 6% para 10cm da articulação do cotovelo. Para a circunferência, não foram encontradas diferenças significativas.

Com base nos achados, existe um forte indicativo de que o DMT pode não ser igualmente distribuído no músculo, entretanto outros marcadores locais ainda não foram testados ao longo do músculo.

III. ESTUDO 1

3.1. Objetivos

O principal objetivo do estudo 1 é avaliar o DMT em ultrassonografias dos músculos flexores do cotovelo de mulheres em cinco dias após uma sessão de treinamento de força excêntrica. O objetivo secundário é avaliar a textura das ultrassonografias em diferentes tons de cinza.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Estratégia de coleta de dados

O Estudo 1 foi baseado em uma coleta de dados realizada por um projeto de pesquisa liderado pelo professor D.Sc. Ronei Pinto e conduzido pelo aluno de doutorado M.Sc. Regis Radaelli, pesquisadores vinculados ao Laboratório de Pesquisa e Exercício da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os dados apresentados no Estudo 1 não foram usados com fins científicos até o presente momento pelos mesmos.

O envolvimento das voluntárias somente ocorreu após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, além da anamnese com preenchimento de um questionário para estratificação de risco e uma explicação detalhada dos procedimentos do presente estudo. A qualquer momento, as voluntárias estavam livres para abandonar o estudo.

3.2.2. Amostra

A amostra foi composta por doze mulheres saudáveis ($21,6 \pm 2,0$ anos de idade; $60,3 \pm 10,9$ kg de massa corporal; $162,1 \pm 5,8$ cm de estatura). As voluntárias não realizavam exercício físico sistemático para caracterizar a amostra destreinada. Outra característica da amostra é que as mulheres não possuíam nenhum histórico de lesão

musculoesquelética e não faziam uso contínuo de medicamentos ou suplementos alimentares.

3.2.3. Procedimentos gerais

Foram realizadas seis visitas por voluntária durante toda coleta de dados, conforme o delineamento experimental (Figura 7). Na primeira visita, as voluntárias foram informadas de todos os procedimentos e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido para participação no estudo. Na primeira visita foi realizada a familiarização e ajustes dos testes.

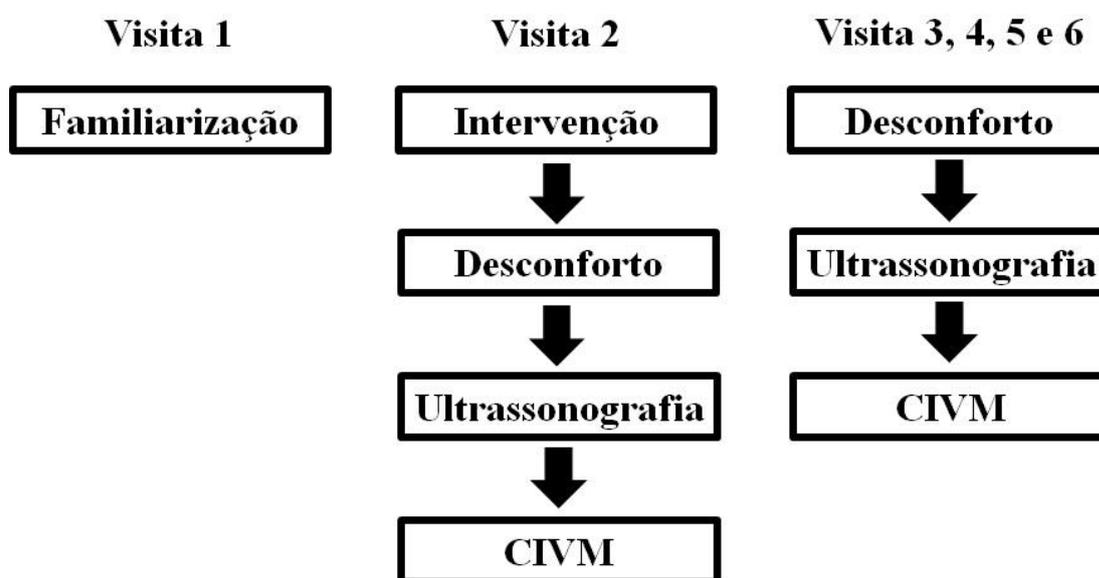


Figura 7: Delineamento experimental. CIVM – Contração isométrica voluntária máxima.

Após uma semana, na visita dois, foram realizadas medições de desconforto, CIVM. Na mesma visita, também foram realizadas as aquisições das ultrassonografias para análise de edema muscular, parâmetros de textura antes da intervenção. Nas vistas 3, 4, 5 e 6 (24 h, 48 h, 72 h e 96 h após a visita dois), foram realizadas as ultrassonografias, medições de escala de desconforto e teste de força pela CIVM.

3.2.4. Medida de torque máximo

O teste de CIVM foi realizado no dinamômetro isocinético (Cybex NORM dynamometer, Ronkonkoma, EUA) calibrado antes de todos os testes conforme as instruções do fabricante. As voluntárias realizaram os testes sentadas com seu cotovelo dominante apoiado ao banco *scott* (Sculptor, Porto Alegre, Brasil) com os ombros flexionados à 45° com posição ajustável para cada voluntária. O centro articular do cotovelo foi alinhado ao eixo rotacional do dinamômetro isocinético com o cotovelo flexionado à 60° (0° para cotovelo estendido) (Figura 8).



Figura 8: Imagem ilustrativa da posição do teste de CIVM de uma voluntária.

O teste consistiu em três tentativas durante cinco segundos de CIVM no ângulo articular descrito anteriormente, com três minutos de intervalo entre as tentativas. Todos os testes de força máxima foram realizados com incentivo verbal por parte dos avaliadores. O pico de torque (em Nm) alcançado nas três tentativas foi usado para análises posteriores

3.2.5. Medida de desconforto

O desconforto muscular dos flexores do cotovelo dominante foi quantificado por uma EAV contínua de 100 mm com valores entre 0 (mm) referindo-se a "sem desconforto" e 100 mm referindo-se a "muito, muito desconforto" (Jubeau *et al.*, 2012). Todos os testes foram realizados pelo mesmo avaliador experiente. O avaliador perguntava o nível de desconforto percebido na EAV logo após o músculo pressionado através de uma pressão subjetiva por três dedos durante três segundos a uma distância fixa de oito centímetros da articulação do cotovelo quando a voluntárias estavam na posição do teste de força (Chen *et al.*, 2010). Adicionalmente, o alongamento dos flexores do cotovelo também foi realizado para avaliação do DOMS usando a mesma EAV anterior, com ombros e punhos na mesma posição do teste de força. O procedimento ocorreu pela movimentação passiva de extensão do cotovelo.

3.2.6. Aquisição das ultrassonografias

As imagens foram obtidas por um US modo-B (Nemio XG ultrasound, Toshiba, Japão), 7,5 MHz de frequência operação linear e transdutor com 38 mm de comprimento. As imagens foram realizadas numa distância fixa de oito centímetros da articulação do epicôndilo lateral do cotovelo (Chen *et al.*, 2010) com sete cm de profundidade, taxa de amostragem com 32 fps e ganho de 90 dB (Figura 9). Durante a aquisição das imagens, o examinador orientava o transdutor perpendicularmente e transversalmente ao segmento das voluntárias com cotovelo estendido e braço relaxado ao longo do corpo. Foi usado gel à base de água para acoplamento acústico do transdutor gerando a redução da pressão do mesmo sobre o tecido.

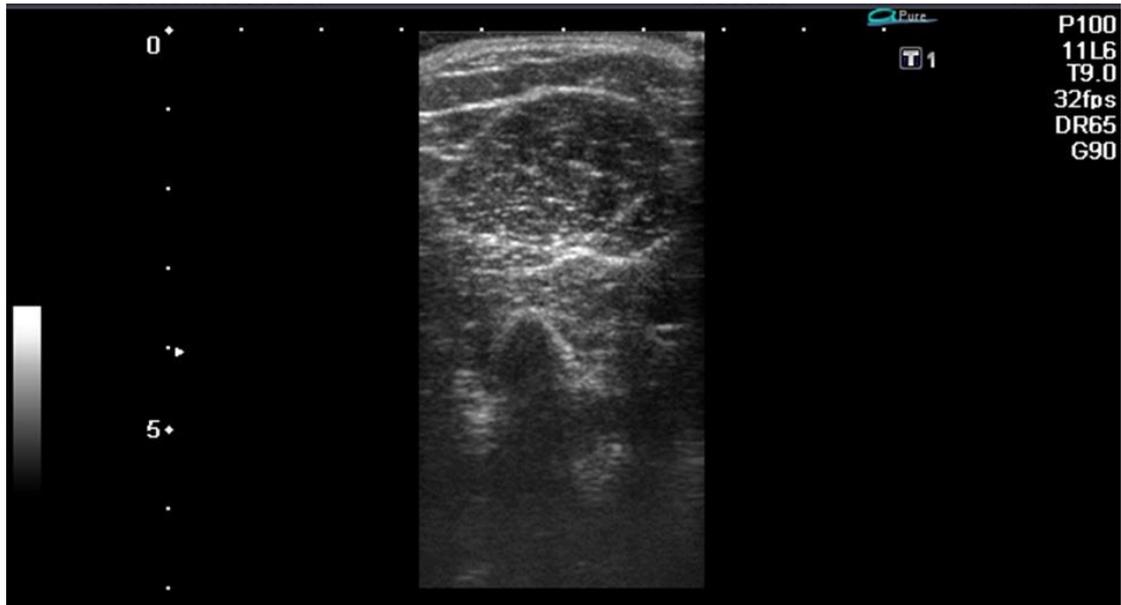


Figura 9: Exemplo de aquisição de ultrassonografia dos flexores do cotovelo.

Todas as imagens foram digitalizadas com resolução de 680 x 480 *pixels* no formato *Windows Bitmap* (.bmp) em 32 bits cada.

3.2.6.1 Edema

O edema foi medido via ultrassonografia transversal ao segmento pela EM dos flexores do cotovelo. A EM foi caracterizada pela distância vertical entre a divisão do tecido adiposo superficial até a borda superficial do osso úmero (Figura 10).

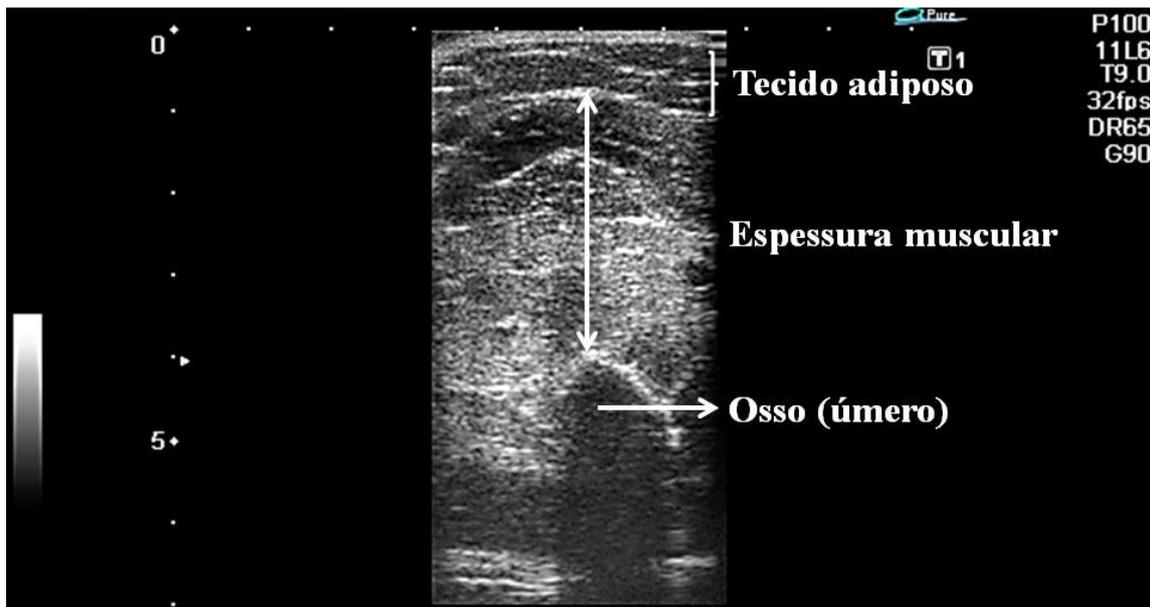


Figura 10: Exemplo da medição de EM de uma ultrassonografia dos flexores do cotovelo.

Para melhor definição da EM, as imagens foram tratadas aumentando o brilho e contraste e assim facilitando a visualização das estruturas desejadas. As medidas da EM e tratamentos das imagens foram realizadas por meio de um *software* de domínio público (*ImageJ* v.1.43, National Institutes of Health, EUA).

3.2.6.2 Análise da textura

A IE e variáveis de GLCM foram calculadas em uma rotina em *Matlab* (The MathWorks, Massachusetts, EUA) usando a ROI constante de 25 x 25 *pixels* de lado para o músculo braquial (Figura 11). As aponeuroses superficiais e profundas do músculo (próxima ao osso) foram identificadas para referência na seleção da ROI.

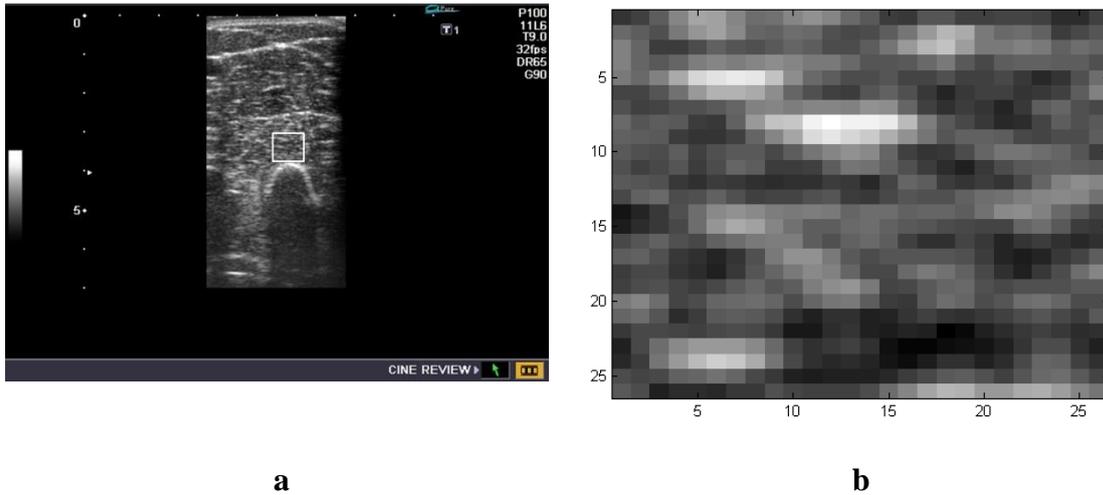


Figura 11: Apresentação da ROI (25x25 *pixels*) do músculo braquial (a). ROI do braquial analisada (b) ampliação da ROI para descritores de textura.

i. Intensidade do eco

A IE foi medida no histograma de escalas de cinza (0: preto e 255: branco). Para tal, foi adotada a média da distribuição de tons de cinza foram usadas para as medidas de cada ROI (Figura 12).

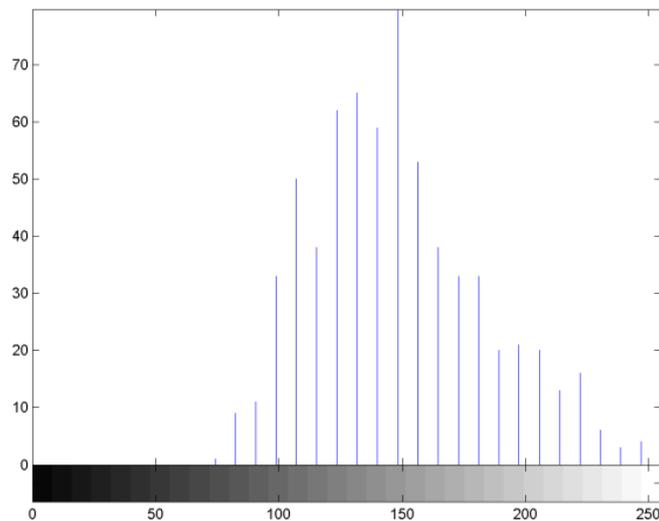


Figura 12: Exemplo do histograma de tons de cinza para avaliação da média e mediana da IE em processamento para 256 tons de cinza.

ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza

Foram usados cinco descritores de GLCM. Todas as medidas de textura foram realizadas com 8, 16, 32, 64, 128 e 256 tons de cinza.

A GLCM (Figura 13) foi aplicada no sentido vertical com deslocamento ($d = 3$) (Alvarenga *et al*, 2007) dos blocos de três pixels para baixo ($\alpha = 90^\circ$) (Gómez *et al*, 2015).

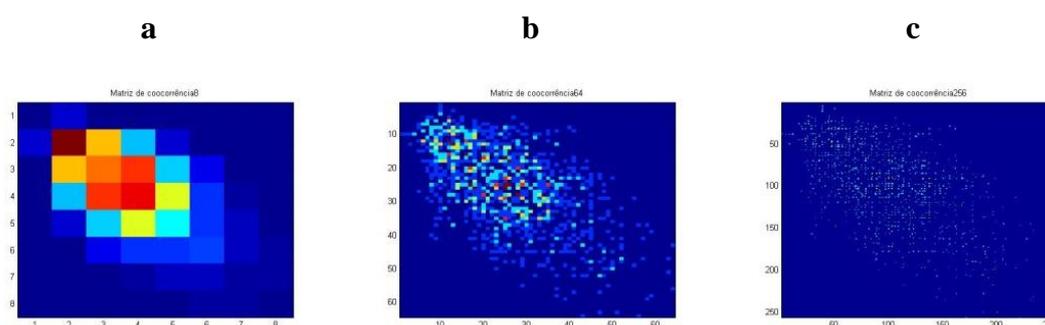


Figura 13: Exemplo de apresentação da GLCM de ultrassonografia do músculo braquial com 8 (a), 64 (b) e 256 (c) tons de cinza.

As variáveis calculadas para GLCM foram: entropia da matriz de co-ocorrência de níveis de cinza (*coo*), segundo momento angular (*asm*), desvio padrão da matriz de co-ocorrência de níveis de cinza (*std*), contraste (*con*) e correlação (*cor*).

3.2.7. Intervenção excêntrica

As voluntárias foram submetidas a um protocolo de exercício de flexão do cotovelo, realizado em um dinamômetro isocinético (Cybex NORM dynamometer, Ronkonkoma, EUA) no modo excêntrico. Antes da intervenção, as voluntárias realizaram uma série de 15 repetições submáximas com contrações concêntricas e excêntricas como forma de aquecimento articular. A intervenção consistiu em duas séries de 10 repetições máximas excêntricas com o braço dominante e velocidade

angular constante de 30°/s e 30 s de intervalo entre as séries. A amplitude articular adotada para o cotovelo foi de 100° (0° = completamente estendido). Em todas as repetições, as voluntárias receberam incentivo verbal.

3.2.8. Análise estatística

A normalidade da distribuição das medições foi analisada pelo teste de D'Agostino & Pearson omnibus (D'agostino *et al.*, 1990),

Para a estatística inferencial foi aplicada a análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas pelo fator tempo em todas as variáveis medidas. A normalização dos descritores de GLCM e média da IE foram realizadas pela medida inicial (pré). Para as variáveis pico de torque, EM e DOMS foram usados os valores absolutos. Quando encontradas diferenças significativas, foi aplicado o *post hoc* de *Bonferroni* para identificar as diferenças estatísticas. Foi adotado um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Todo procedimento estatístico foi realizado para os tons de cinza descritos para GLCM (8, 16, 32, 64, 128 e 256).

3.3. Resultados

3.3.1. Medidas clínicas

3.3.3.1 Medida de torque máximo

O valor do torque máximo reduziu significativamente logo após a intervenção excêntrica ($p=0,001$) e 24 h ($p=0,044$) (Figura 14).

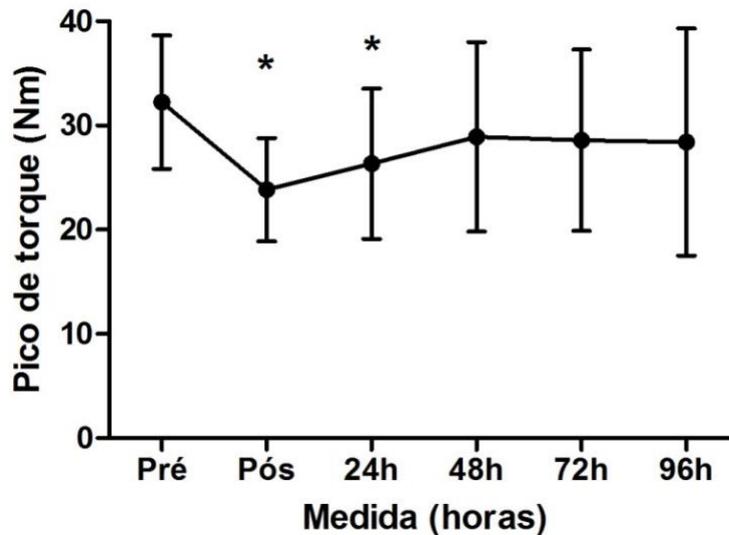


Figura 14: Valores de média e desvio padrão para o pico de torque (Nm) dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré.

3.3.1.2 Medida de desconforto

A medida de desconforto foi aplicada de duas formas (palpação e alongamento). Os resultados para a palpação da pele com aumento da percepção de desconforto entre a medida inicial e em 24 h ($p=0,023$) e 48 h ($p=0,012$). Também foram encontradas diferenças significativas entre as medidas pós e 24 h ($p=0,029$), como apresentado na Figura 15.

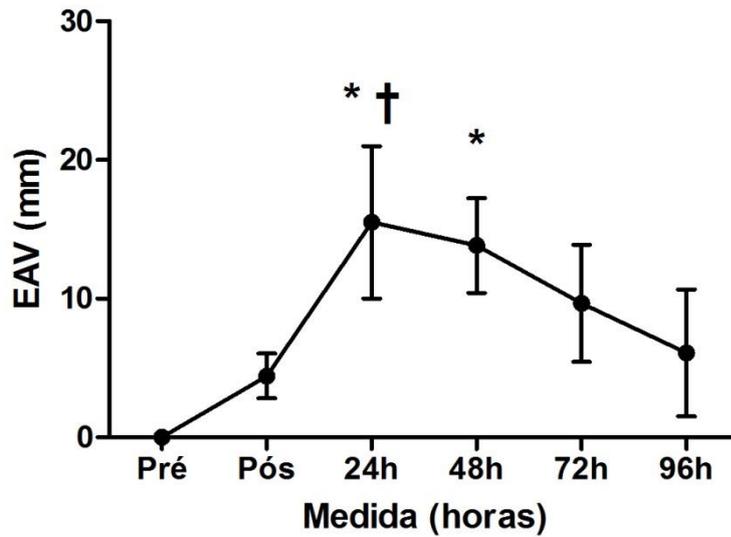


Figura 15: Valores de média e erro padrão para a EAV (mm) por palpação dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré; † - $p < 0,05$ para a medida pós.

Para as medições de desconforto com alongamento dos flexores do cotovelo, foram encontradas diferenças significativas em relação à medida inicial para 24 h ($p=0,045$) e 48 h ($p=0,024$) (Figura 16).

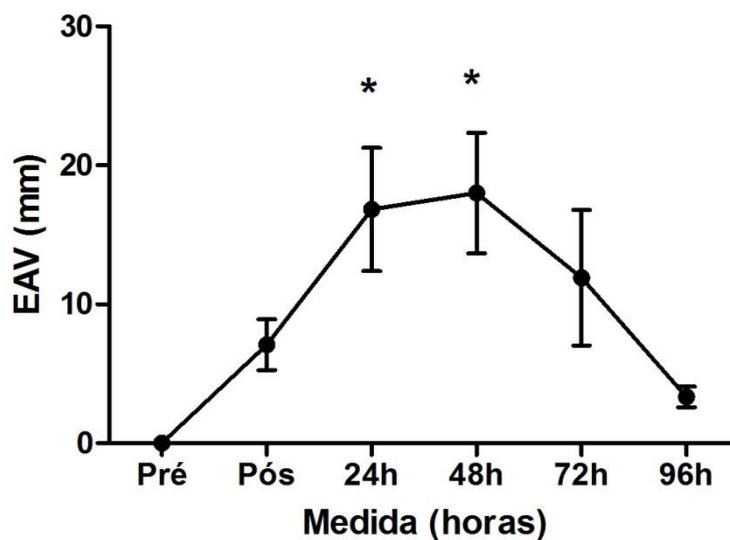


Figura 16: Valores da diferença média e erro padrão para a EAV (mm) através do alongamento dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré.

3.3.2. Medidas pela ultrassonografia

3.3.2.1 Espessura muscular

A EM dos flexores do cotovelo apresentou aumento significativo logo após a intervenção ($p=0,036$), 24 h ($p=0,001$) e 48 h ($p=0,010$). Também foram encontradas variações significativas em 24 h quando comparado às medidas pós e 72 h ($p=0,046$), assim como também houve diferença significativa entre 48 h e 96 h ($p=0,021$) (Figura 17).

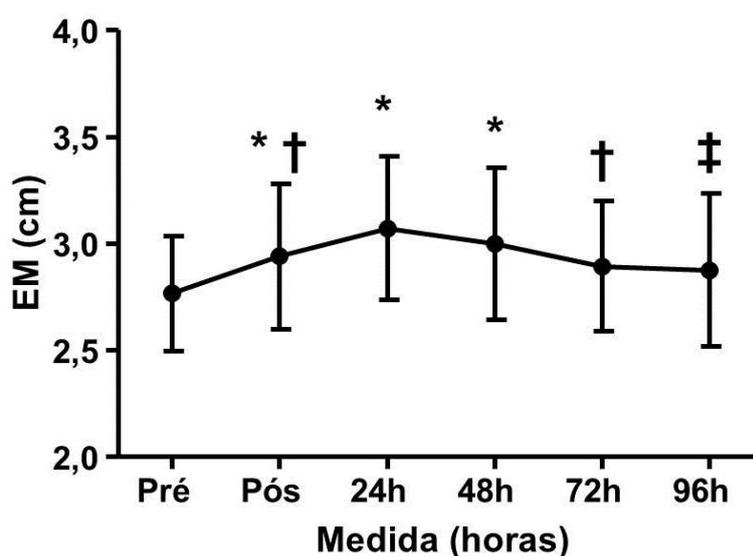


Figura 17: Valores de média e desvio padrão para a EM (cm) dos flexores do cotovelo.

* - $p<0,05$ para a medida pré; † - $p<0,05$ para a medida 24 h; ‡ - $p<0,05$ para a medida 48h.

3.3.2.2 Medidas de textura

Para as medidas de textura, os dados foram avaliados em valores normalizados pela medida inicial (antes da intervenção). Para agregar informação aos gráficos, foi apresentado um gráfico para cada parâmetro de GLCM ao longo das medidas realizadas

(pós, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h) incluindo todos os tons de cinza avaliados (8, 16, 32, 64, 128 e 256) assim como na ordem dos descritores apresentados na sessão anterior.

i. Intensidade do eco

Para a IE, foram encontradas diferenças significativas entre as medidas relativas quando comparadas as variações da IE pós e 72 h ($p=0,028$) e pós e 96 h ($p=0,003$). Também foram encontradas alterações significativas entre as variações percentuais entre 24 h e 72 h ($p=0,004$), assim como entre 24 h e 96 h ($p=0,003$). Foram encontradas variações estatisticamente significativas entre as medidas de IE normalizado realizadas em 48 h e 96 h ($p=0,003$) (Figura 18).

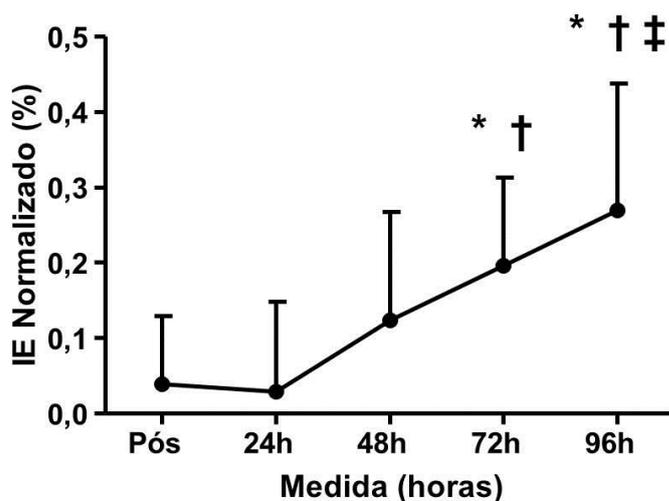


Figura 18: Valores de média e desvio padrão para a IE normalizado da ROI extraída do músculo braquial. * - $p<0,05$ para a medida pós; † - $p<0,05$ para a medida 24 h; ‡ - $p<0,05$ para a medida 48 h.

ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza

Nenhuma variação significativa foi identificada ao longo do tempo para as variáveis *coo* (Figura 19a), *asm* (Figura 19b), *std* (Figura 20a) e *con* (Figura 20b) em todos os tons de cinza avaliados.

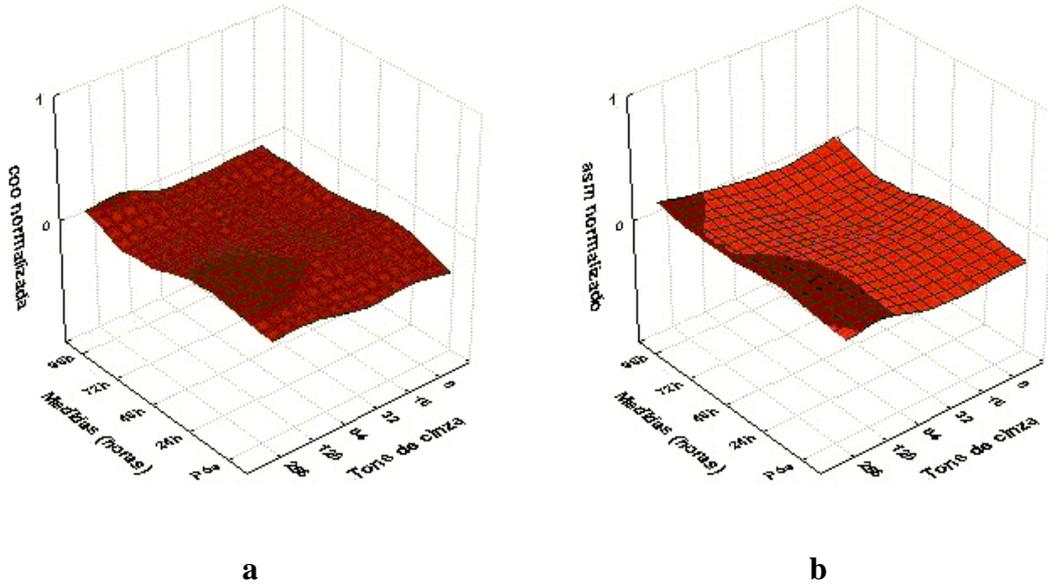


Figura 19: Valores de *coo* (a) e *asm* (b) normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas.

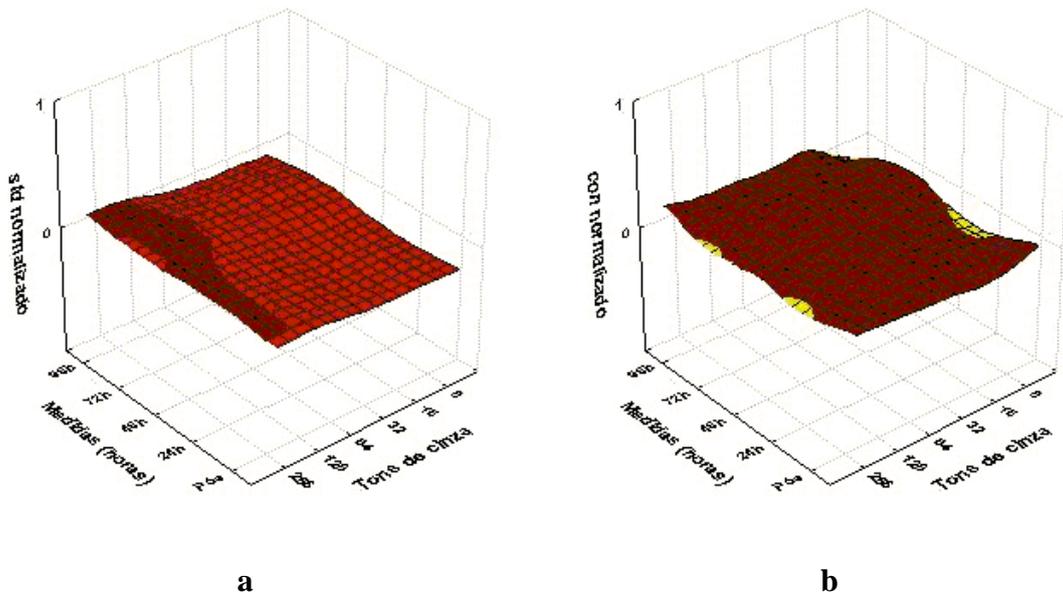


Figura 20: Valores de *std* (a) e *con* (b) normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas.

Para o parâmetro *cor* (Figura 21), foram encontradas variações significativas entre as pós e 48h ($p=0,042$), 72 h ($p=0,006$) e 96 h ($p=0,004$) em 256 tons de cinza. As medidas em 128 tons de cinza também apresentaram diferenças significativas entre as medidas pós e 48 h ($p=0,028$), 72 h ($p=0,008$) e 96 h ($p=0,002$). Para as demais quantidades de tons de cinza, não foram encontradas diferenças significativas.

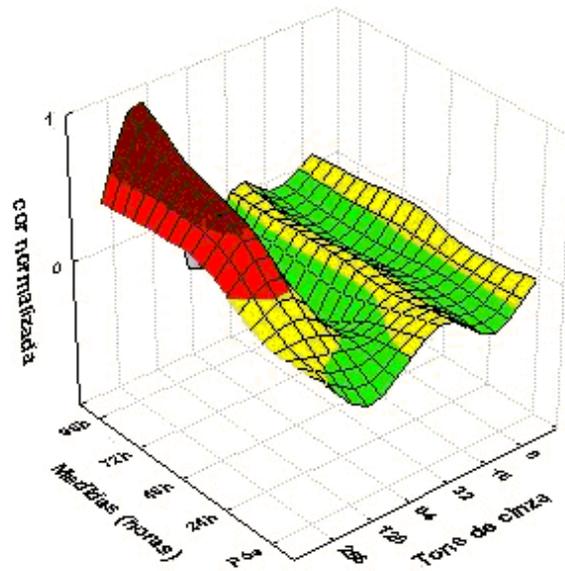


Figura 21: Valores de *cor* normalizados e expressos em média para diferentes tons de cinza nas medidas realizadas.

IV. ESTUDO 2

4.1. Objetivos

O principal objetivo do estudo 2 é avaliar o DMT em ultrassonografias dos músculos flexores do cotovelo em quatro dias após uma sessão de treinamento de força excêntrico em diferentes comprimentos musculares de homens destreinados. O objetivo secundário é avaliar a confiabilidade das medidas em dias diferentes.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Estratégia de coleta de dados

O segundo Estudo foi conduzido nas instalações do Laboratório de Análise de Movimento e Fisiologia do Exercício do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica (PEB/COPPE) da Universidade Federal do Rio de Janeiro pelos alunos e membros do próprio laboratório. Como diferencial do Estudo 1, foram realizadas aquisições de ultrassonografias e avaliação de DOMS em diferentes comprimentos musculares além da análise de confiabilidade e variabilidade das medidas de DMT em homens destreinados. O processamento da imagem para aquisição dos resultados de GLCM também foi diferente do Estudo 1.

4.2.2. Amostra

A amostra foi composta por 11 homens jovens, saudáveis e destreinados em treinamento de força. Suas características antropométricas estão descritas em média e desvio padrão (26,72 ± 5,51 anos de idade; 76,61 ± 11,67 Kg de massa corporal e 176,73 ± 5,52 cm estatura).

O experimento iniciou com um informativo aos voluntários apresentando todo o procedimento, riscos e benefícios dos testes. Após esse procedimento, os voluntários preencheram o questionário de aptidão de atividade física (PAR-Q) de aptidão física (ANEXO 2) e sendo aprovados, responderam anamnese e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (número 44100215.6.0000.5257) (ANEXO 3).

Para inclusão no estudo, todos os voluntários declararam estar destreinados em força para membros superiores há pelo menos um ano, não apresentarem qualquer tipo de lesão osteomioarticular nos membros superiores e não serem portadores de qualquer enfermidade crônica com necessidades especiais.

4.2.3. Procedimentos gerais

O estudo foi finalizado em cinco visitas para cada voluntário da amostra. Na primeira visita foram realizados testes e medidas para confiabilidade das medidas e familiarização dos testes de CIVM. Após uma semana (segunda visita), os voluntários foram submetidos à intervenção proposta pelo experimento que consistia em exercício excêntrico para os flexores do cotovelo. Ainda na segunda visita, foram avaliados os níveis de DOMS, CIVM e realizadas as aquisições das ultrassonografias para posterior análise. Todas as medições foram realizadas antes (pré), imediatamente após (pós) e 10 minutos depois (10 min) a intervenção excêntrica.

Nas visitas três, quatro e cinco (24, 48 e 72 horas após a terceira visita, respectivamente), os indivíduos foram submetidos à aquisição das ultrassonografias, CIVM e EAV (Figura 22).

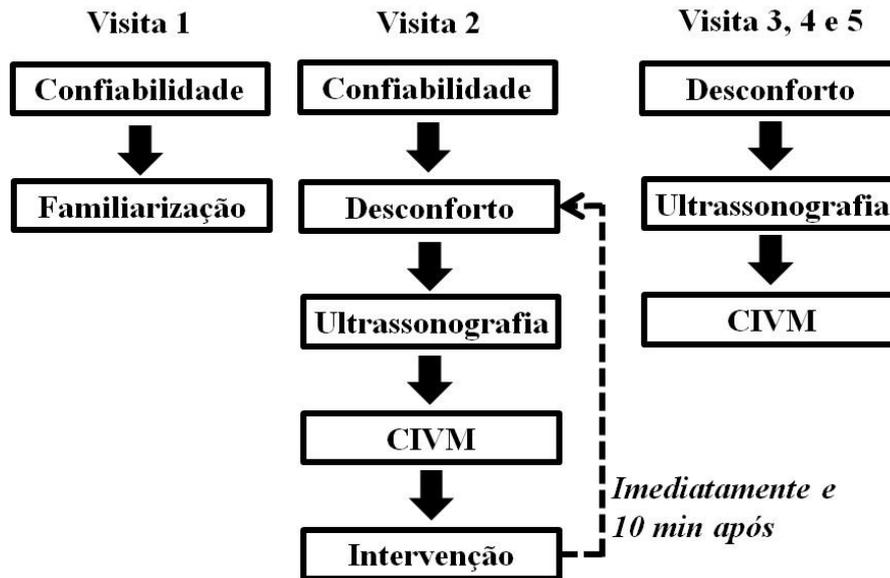


Figura 22: Delineamento experimental. CIVM – Contração isométrica voluntária máxima.

4.2.4. Medida de torque máximo

A força foi avaliada pelo pico de torque aplicado em testes de CIVM que foram realizados em um dinamômetro isocinético computadorizado no modo isométrico (Biodex 4 System Pro - *Biodex Medical Systems Inc*, Nova Iorque, EUA). O valor de pico de torque dos flexores do cotovelo foi obtido com os voluntários sentados no isocinético com 85° de flexão de quadril, cintura pélvica e o tronco imobilizado. O braço direito foi apoiado em um banco acolchoado a um ângulo de 45° de flexão do ombro (Chen *et al.*, 2011). A articulação do cotovelo foi fixada a 90° com a articulação radioulnar em supinação (Figura 23).



Figura 23: Imagem que ilustra a posição dos voluntários durante o teste de CIVM.

Os voluntários foram instruídos e incentivados verbalmente durante duas CIVMs, com cinco segundos de duração e separadas por 45 segundos de intervalo.

4.2.5. Medidas de desconforto

O DOMS dos flexores do cotovelo direito foi avaliado por uma EAV onde zero foi uma representação numérica para “sem desconforto” e 10 “muito, muito desconforto” (Gleeson *et al.*, 2003). Os voluntários avaliados foram perguntados sobre o nível de desconforto percebido na EAV após uma pressão controlada e padronizada de 60 N/cm^2 aplicado através de um algômetro manual (I7 Wooley Lane, NY, EUA.), a 60%, 70% e 80% do comprimento do braço (Figura 24), estimada pela distância entre o processo acromial e o epicôndilo lateral do úmero, assim como medidas realizadas por MATTA *et al.* (2011).



Figura 24: Representação da avaliação de DOMS através de um algômetro manual a 60%, 70% e 80% dos flexores do cotovelo.

4.2.6. Aquisição de ultrassonografias

As ultrassonografias foram adquiridas por um avaliador adaptado ao procedimento e com imagens do grupamento muscular estudado, foram realizadas por um aparelho de US (GE LOGIQ e, EUA) com transdutor linear de 40 mm, frequência de operação de oito MHz e seis cm de profundidade da imagem para assegurar a visualização do úmero. As ultrassonografias foram realizadas no formato estático, com o transdutor posicionado transversalmente e perpendicularmente ao braço dos voluntários. Todas as configurações foram mantidas ao longo de todo o experimento e para todos os voluntários, isto é, foco fixo em dois centímetros de profundidade, ganho de 50 dB e taxa de amostragem de 90 fps.

Para tentar minimizar os possíveis erros na aquisição das imagens, foi aplicada a menor pressão possível no transdutor. Foi utilizado um gel solúvel em água para o devido acoplamento acústico, evitando o contato direto do transdutor com a superfície da pele em todo procedimento de aquisição das imagens. Para definição de uma imagem

ideal foi necessária visualização dos flexores do cotovelo e a borda do úmero na imagem (Figura 25).

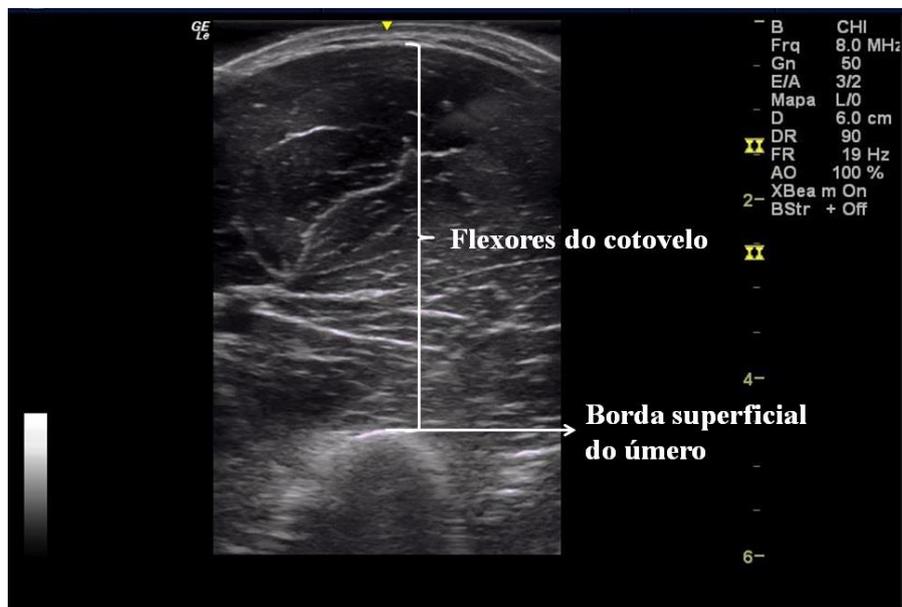


Figura 25: Exemplo de aquisição de imagem ideal para posterior análise apresentando a borda do úmero e a EM dos flexores do cotovelo.

Todas as imagens foram digitalizadas com resolução de 820 x 614 *pixels*, 96 dpi de resolução vertical e horizontal no formato *JPEG Image* (.jpeg) em 24 bits de intensidade cada.

4.2.6.1 Edema

O edema muscular foi medido pelas alterações da EM dos flexores do cotovelo, entendido como a distância entre a borda do úmero e a aponeurose superficial do bíceps braquial numa linha perpendicular (Figura 25). Os voluntários foram posicionados sentados com o segmento exercitado alinhado ao tronco, totalmente relaxado, com o cotovelo estendido e a articulação radioulnar em supinação.

O edema foi medido nos mesmos comprimentos usados para DOMS. Para análise das imagens foi usado um software de domínio público *Image J* v.1.43 (National Institutes of Health, EUA).

4.1.6.2 Análise de textura

i. Intensidade do eco

A média da IE no histograma de escala de cinza dos *pixels* (0 – preto e 255 – branco) (Figura 26b) foi calculada a partir da ROI previamente selecionada, medindo 50 x 50 *pixels* (Figura 26a). A média da IE foi medida em duas ultrassonografias usadas para análise da EM, a saber, 70% e 80% do comprimento do braço para o músculo braquial. Não foram realizadas medidas de textura a 60% do comprimento do braço pela imagem não comportar o tamanho da ROI estipulada (50 x 50 *pixels*).

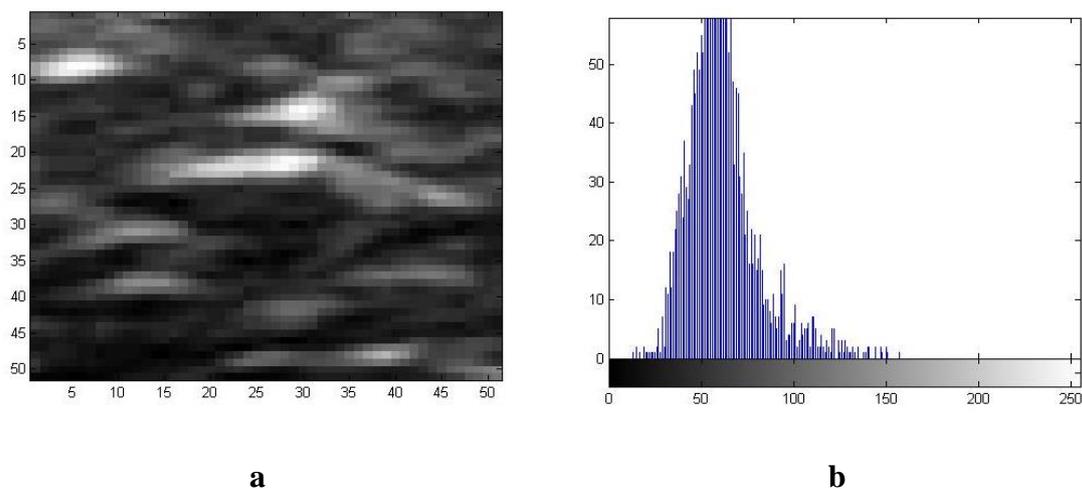


Figura 26: ROI ampliada (a) usada para determinação do histograma de tons de cinza para quantificação da média da IE (b).

ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza

Foram usados cinco descritores de GLCM. As aponeuroses superficiais e profundas do músculo (próxima ao osso) foram identificadas para referência na seleção da ROI. Todas as medidas de textura foram realizadas apenas para 256 tons de cinza (Figura 27). A GLCM foi aplicada no sentido vertical com deslocamento ($d = 10$) dos blocos de 10 *pixels* para baixo ($\alpha = 90^\circ$).

A escolha da quantidade de tons de cinza (256) e d ocorreu pela determinação de um critério desempenho e estabilidade da medida definido pela confiabilidade da medida ($ICCr > 0,650$) e menor coeficiente de variação percentual (CV%). Este procedimento foi realizado para todos os descritores de GLCM.

As variáveis calculadas para GLCM foram: *coo*, *asm*, *std*, *con* e *cor*.

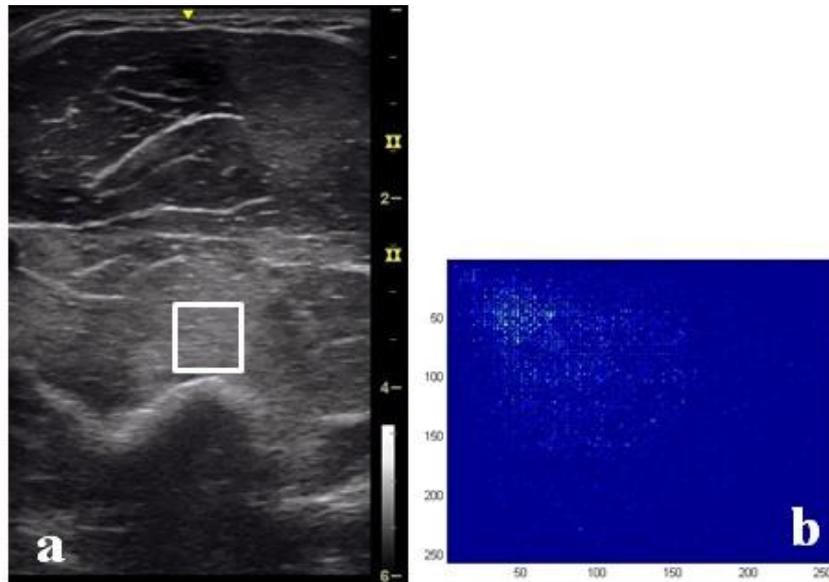


Figura 27: Ilustração da ultrassonografia (a) em 72 h após intervenção com a ROI do braquial e GLCM do braquial (b).

4.2.7. Intervenção excêntrica

Os voluntários foram submetidos a um protocolo de exercício para os flexores do cotovelo, realizado em um dinamômetro isocinético (Biodex 4 System Pro - *Biodex Medical Systems Inc*, Nova Iorque, EUA) no modo excêntrico. Os voluntários realizaram com o braço direito três séries de 10 repetições máximas de contração excêntrica a uma velocidade de 90°/s com dois minutos de intervalo entre as séries (Chapman *et al.*, 2006; Radaelli *et al.*, 2012). Após cada fase excêntrica, a articulação do cotovelo retornava passivamente à posição inicial auxiliada pelo avaliador. Os voluntários foram posicionados da mesma forma que estiveram nos testes de CIVM, com ombros em 45° e a articulação radioulnar em supinação. A amplitude de movimento foi de 90° de flexão do cotovelo, sendo 0° o ângulo articular que o cotovelo encontrava-se totalmente estendido (Barroso *et al.*, 2010; Thiebaud *et al.*, 2013).

4.2.8. Análise estatística

Antes de aplicar a estatística inferencial, foi realizada a análise de confiabilidade das medidas dos resultados das visitas iniciais antes da intervenção e medida pré. A confiabilidade das medidas foi representada pelo coeficiente de correlação intra-classe (CCIr) pelo modelo de efeito misto da ANOVA com dois fatores, CV% (Equação 6) e 95% do intervalo de confiança (IC) para todas as variáveis medidas em duas visitas diferentes pelo mesmo avaliador (Atkinson e Nevill, 1998; Hopkins, 2000).

$$CV\% = \frac{SD}{\bar{X}} \quad \text{Equação 6}$$

Onde SD é o desvio padrão e \bar{X} é a média amostral.

Foi aplicado o teste para a confirmação da distribuição normal pelo teste de D'Agostino & Pearson omnibus. Após a confirmação da normalidade da amostra, a ANOVA com medidas repetidas para os valores absolutos de torque dos flexores de

cotovelo foi aplicada para comparação entre as medidas. Para comparação da variação percentual em relação à medida inicial da EM (60%, 70% e 80% do comprimento do braço), IE e variáveis da GLCM entre comprimentos para o braquial (70% e 80% do comprimento do braço) em diferentes momentos, foi realizada a ANOVA com dois fatores. Em caso de observação de interações entre fatores, foi aplicado o *post-hoc* de *LSD Fisher* para a identificação das diferenças significativas. O nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi adotado para todos os procedimentos estatísticos.

4.3. Resultados

4.3.1. Confiabilidade e variabilidade das medidas

A confiabilidade e variabilidade para o pico de torque estão apresentadas em CV% = 23,76 e 24,82% para a primeira e segunda visita, respectivamente; CCIr = 0,993 e 95%IC entre 0,976 e 0,998.

Para as medidas das variáveis de GLCM nos diferentes comprimentos do braço, IE e EM, as medidas de confiabilidade e variabilidade estão apresentadas nas tabelas a seguir.

Tabela 1: Confiabilidade e variabilidade da medida para as variáveis de GLCM do músculo braquial no trecho médio (70%) em dois dias, os dados estão expressos em CV%, CCIr e 95%IC.

| Visita | <i>coo</i> | | <i>asm</i> | | <i>std</i> | | <i>con</i> | | <i>cor</i> | |
|--------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|----------------|-------|
| | 1 | 2 | 1* | 2* | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| CV% | 52,71 | 57,30 | 29,61 | 32,35 | 14,11 | 15,51 | 23,62 | 18,16 | 51,33 | 45,76 |
| CCIr | 0,985 | | 0,992 | | 0,988 | | 0,923 | | 0,700 | |
| 95%IC | 0,934 – 0,997 | | 0,963 – 0,998 | | 0,948 – 0,997 | | 0,658 – 0,983 | | -0,330 – 0,932 | |

* para distribuição não normal.

Tabela 2: Confiabilidade e variabilidade da medida para as variáveis de GLCM do músculo braquial no trecho distal (80%) em dois dias, os dados estão expressos em CV%, CCIr e 95%IC.

| Visita | <i>coo</i> | | <i>asm</i> | | <i>std</i> | | <i>con</i> | | <i>cor</i> | |
|---------------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|----------------|----------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| CV% | 55,79 | 53,77 | 32,50 | 34,15 | 16,71 | 17,93 | 19,83 | 23,74 | 72,40 | 72,61 |
| CCIr | 0,936 | | 0,967 | | 0,973 | | 0,944 | | 0,659 | |
| 95%IC | 0,780 – 0,991 | | 0,877 – 0,991 | | 0,899 – 0,993 | | 0,790 – 0,985 | | -0,695 – 0,908 | |

Tabela 3: Confiabilidade e variabilidade da medida do músculo braquial para a IE nos diferentes comprimentos do segmento em dois dias, dados expressos em CV%, CCIr e 95%IC.

| Visita | 70% | | 80% | |
|---------------|---------------|----------|---------------|----------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| CV% | 14,06 | 14,50 | 11,47 | 11,81 |
| CCIr | 0,944 | | 0,994 | |
| 95%IC | 0,790 – 0,985 | | 0,954 – 0,997 | |

Tabela 4: Confiabilidade e variabilidade da medida de EM dos flexores do cotovelo em dois dias, dados expressos em CV%, CCIr e 95%IC.

| Visita | 60% | | 70% | | 80% | |
|---------------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| CV% | 16,11 | 16,94 | 15,29 | 15,69 | 14,06 | 13,84 |
| CCIr | 0,986 | | 0,996 | | 0,993 | |
| 95%IC | 0,899 – 0,992 | | 0,986 – 0,999 | | 0,976 – 0,998 | |

4.3.2. Estatística inferencial

4.3.2.1. Medidas clínicas

4.3.2.1.1. Medida de torque máximo

O valor do torque máximo diminuiu significativamente logo após a intervenção excêntrica ($p < 0,05$) e continuou significativamente menor até 72 h (Figura 28).

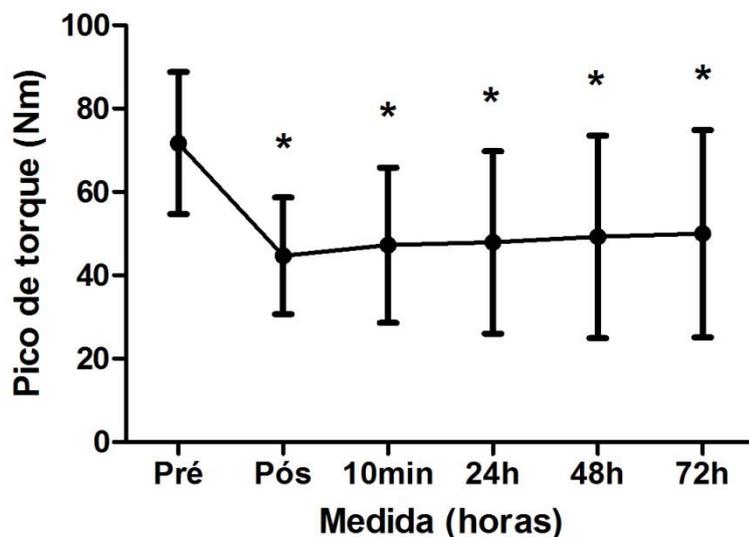


Figura 28: Valores de média e desvio padrão para o pico de torque (Nm) dos flexores do cotovelo. * - $p < 0,05$ para a medida pré.

4.3.2.1.2 Medida de desconforto

Não foram encontradas variações significativas para as medidas de DOMS entre os comprimentos estudados, de acordo com a Figura 29, com comportamento semelhante. Os resultados para DOMS apresentaram aumento significativo da percepção de desconforto no sitio proximal (60%) em relação à medida pré para 24 h ($p = 0,002$), 48 h ($p < 0,001$) e 72 h ($p < 0,001$) após a intervenção. Também foi encontrada variação estatística para as medidas 24 h ($p = 0,048$), 48 h ($p < 0,001$) e 72 h ($p < 0,001$) em relação à medida pós-intervenção. Adicionalmente, foram encontradas diferenças

significativas entre as medidas 10 min após e 24 h ($p=0,048$), 48 h ($p<0,001$) e 72 h ($p<0,001$).

Assim como a medida proximal do braço, houve aumento significativo de DOMS no comprimento intermediário (médio – 70%) entre as medidas pré e 24 h ($p=0,014$), 48 h ($p<0,001$) e 72 h ($p<0,001$) após a intervenção. Também foram encontradas diferenças significativas para as medidas em 48 h ($p<0,001$) e 72 h ($p<0,001$) em relação à medida pós-intervenção. Além dessas alterações, também foi encontrada variação estatística entre as medidas 10 min após e 48 h ($p<0,001$) e 72 h ($p=0,001$).

Semelhantes aos resultados dos outros comprimentos musculares, no trecho distal foram encontradas diferenças significativas para o DOMS em relação à medida pré para 24 h ($p=0,048$), 48 h ($p<0,001$) e 72 h ($p<0,001$) após a intervenção. Também foi encontrada variação estatística para as medidas pós-intervenção e 48 h ($p=0,001$) e 72 h ($p<0,001$) em relação à medida pós-intervenção. Igualmente, foram encontradas diferenças estatísticas entre as medidas 10 min e 48h ($p=0,001$) e 72 h ($p<0,001$).

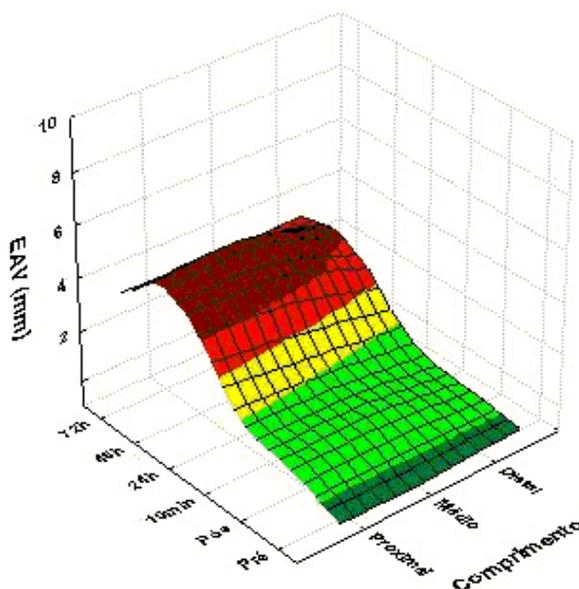


Figura 29: Valores de EAV (mm) expressos em média para diferentes nos três comprimentos medidos para avaliação do DOMS por pressão padronizada.

4.3.2.2. Medidas pela ultrassonografia

4.3.2.2.1. Espessura muscular

Não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes comprimentos musculares pelas EM normalizadas em nenhum momento medido (Figura 30). Quando comparadas as medidas ao longo do tempo para o comprimento proximal (60%), foram encontradas diferenças significativas entre as medidas em 72 h e imediatamente após ($p=0,016$), 10 min ($p=0,037$) e 24 h ($p=0,023$). Para o trecho médio dos flexores do cotovelo, houve aumento significativo da EM normalizada quando comparadas as medidas em 72 h e imediatamente após ($p=0,026$), 10 min ($p=0,015$) e 24 h ($p=0,014$). Para a avaliação da EM normalizada no comprimento distal dos flexores do cotovelo, não foram encontradas diferenças significativas.

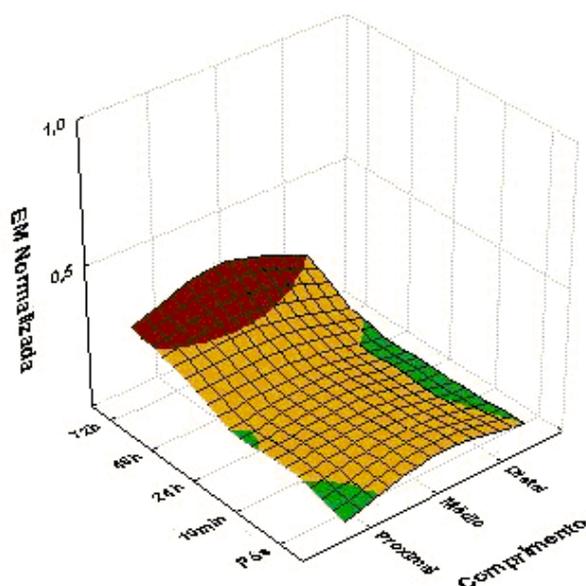


Figura 30: Valores de média da EM normalizados dos flexores do cotovelo nos diferentes momentos e comprimentos musculares.

4.3.2.2.2. Medidas de textura

Para as medidas de textura, os dados foram avaliados em valores absolutos e posteriormente normalizados pela medição inicial (antes da intervenção). Para agregar informação aos gráficos, foi apresentado um gráfico para cada parâmetro de GLCM ao longo das medidas realizadas (pós, 10 min, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h) em 256 tons de cinza assim como na ordem dos descritores apresentados na sessão anterior com os comprimentos musculares correspondentes.

i. Intensidade do eco

Para a IE normalizada (Figura 31), não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos musculares em nenhum momento em que as medições foram realizadas. Entretanto, quando comparadas as medidas ao longo do tempo em 70% do comprimento do braço, foram encontradas diferenças significativas das medidas de IE normalizada imediatamente após intervenção quando comparadas as variações em 48 h ($p=0,012$) e 72 h ($p<0,001$). Também foram encontradas diferenças significativas entre as medidas realizadas em 10 min e 48 h ($p=0,019$) e 72 h ($p<0,001$), assim como em 24 h quando comparado à 48 h ($p=0,010$) e 72 h ($p<0,001$). Também houve variação estatística entre as medidas em 48 h e 72 h ($p=0,039$).

Para o comprimento distal (80%), houve diferença estatística entre as variações de IE normalizada entre as medidas em 72 h e pós ($p=0,004$), 10 min ($p=0,001$) e 24 h ($p=0,019$).

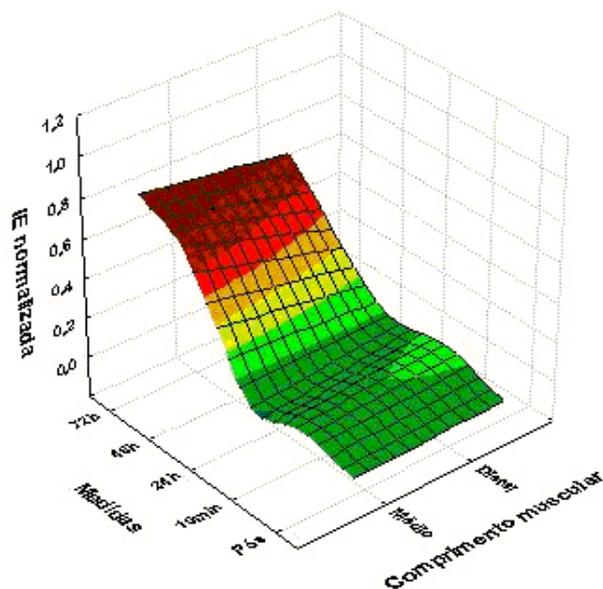


Figura 31: Valores de média para a IE normalizados para diferentes comprimentos do braquial.

ii. Matriz de co-ocorrência dos níveis de cinza

Os resultados de GLCM não apresentaram variação significativa entre os dois comprimentos do braço (70 e 80%) para nenhuma variável. Quanto à comparação das medidas ao longo do tempo para as variáveis *coo* (Figura 32), *asm* (Figura 33), *std* (Figura 34), não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em nenhum momento medido.

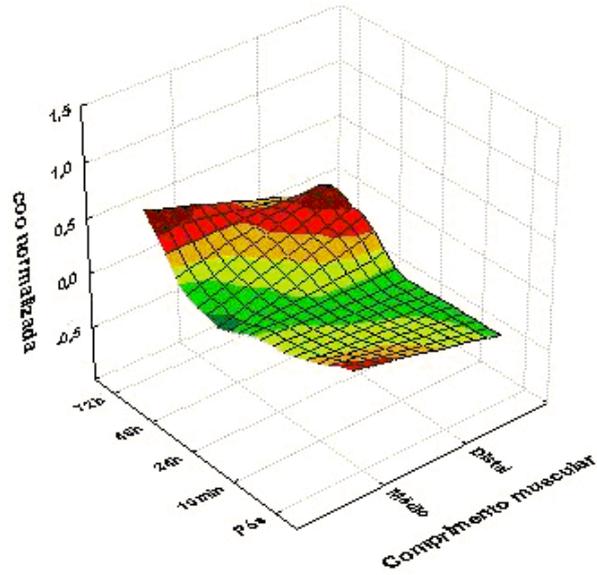


Figura 32: Valores de *coo* normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial.

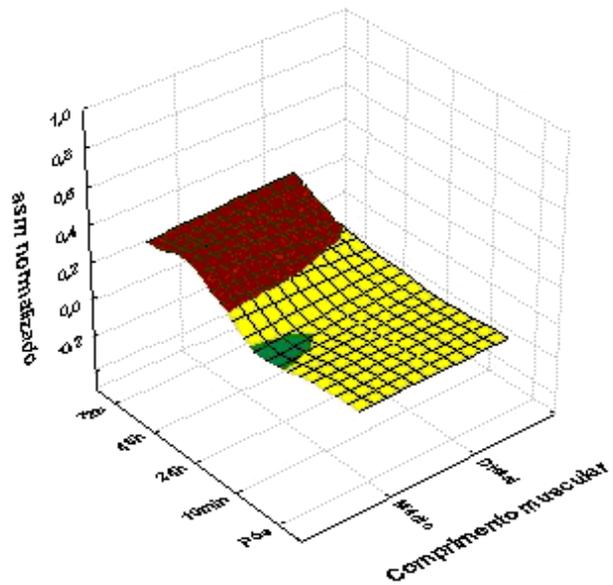


Figura 33: Valores de *asm* normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial.

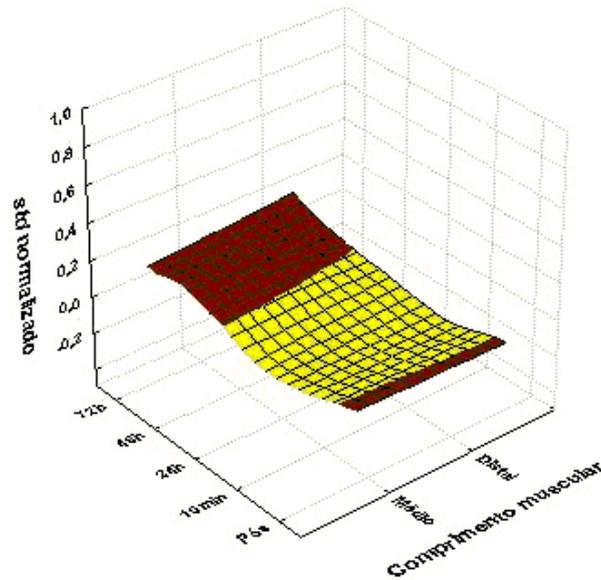


Figura 34: Valores de *std* normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial.

Os resultados do *con* normalizado apresentaram redução significativa para as medidas em 72 h quando comparadas com os valores encontrados imediatamente após a intervenção ($p=0,013$) e 24 h ($p=0,043$) para o comprimento médio (70%). Não foram encontradas diferenças significativas para as medidas realizadas à 80% do comprimento do braço (Figura 35).

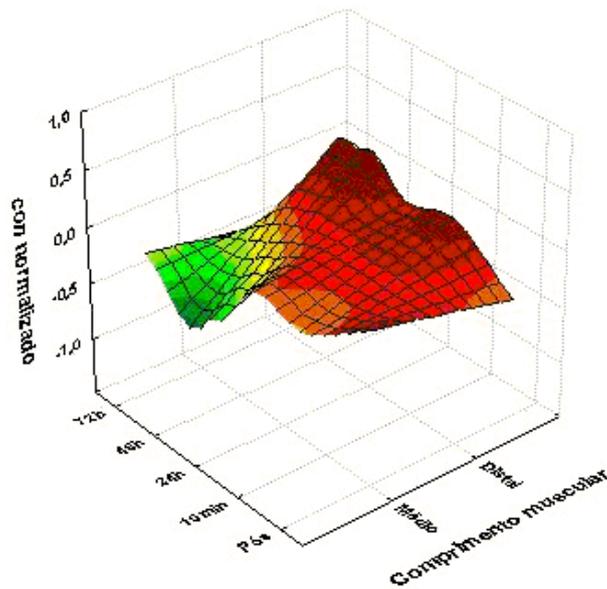


Figura 35: Valores de *std* normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial.

Os resultados obtidos para a *cor* normalizada apresentaram variações estatisticamente significantes para as medidas em 48 h ($p=0,049$) e 72 h ($p=0,014$) quando comparados aos valores imediatamente após a intervenção em 70% do comprimento do braço. Já no trecho distal, foram encontradas diferenças estatísticas entre as medidas pós e 48 h ($p=0,006$) e 72 h ($p=0,014$), assim como medidas realizadas 10 min após a intervenção e 48 h ($p=0,010$) e 72 h ($p=0,011$) (Figura 36).

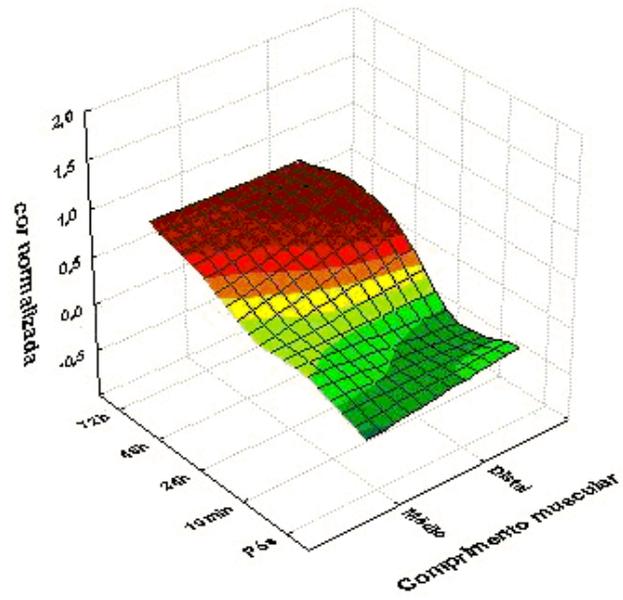


Figura 36: Valores de *cor* normalizados expressos em média para diferentes comprimentos do braquial.

V. DISCUSSÃO

O objetivo principal do estudo foi avaliar o processo de DMT dos flexores do cotovelo causado por uma sessão de treinamento de força excêntrico, através da análise quantitativa da textura em ultrassonografias. Neste sentido, marcadores funcionais como percepção de dor, perda de força voluntária e outros aplicados em laboratório, tais como edema e variáveis de textura de ultrassonografias, foram avaliados em até 96 h após exercícios excêntricos em mulheres destreinadas no Estudo 1 e em homens até 72 h no Estudo 2.

O músculo-esquelético saudável de um indivíduo destreinado apresenta tonalidade escura em ultrassonografias pela baixa capacidade de reflexão/espalhamento da onda de US do tecido muscular (Pillen, 2010). Fisiologicamente, as perturbações dos sarcômeros propagadas para as miofibrilas, fibras musculares e fascículos podem ser percebidas pela ultrasonografia modo-B pela inclusão de tecidos diferentes do músculo-esquelético (Pillen, 2010). Em análises visuais de ultrassonografias musculares, observa-se alteração do brilho para *pixels* mais próximos do tom branco como característica qualitativa em músculos lesionados (Huber *et al.*, 2000). A IE tem sido aplicada para quantificar diferentes níveis de lesões musculares (Peetrons, 2002; Trip *et al.*, 2009; Puthuchearry *et al.*, 2015), incluindo a lesão muscular mais branda como o DMT (Nosaka e Sakamoto, 2001; Chen e Nosaka, 2006b; Radaelli *et al.*, 2012).

Na presente tese foi selecionada a GLCM como ferramenta de análise da textura da imagem de segunda ordem, através da função espacial da intensidade dos *pixels* na ROI e descritores quantificados estatisticamente (Al-Janobi, 2001; Sivaramakrishna *et al.*, 2002). A GLCM é uma análise potencialmente mais robusta do que as estratégias de quantificação de textura já usadas pela literatura na avaliação do DMT (Chen e Nosaka,

2006b; Chen *et al.*, 2009; Radaelli *et al.*, 2012), por avaliar tanto a distribuição de tons de cinza dos *pixels* de uma ROI como as relações de *pixel* com o seu adjacente. Sendo assim, a hipótese inicial do Estudo 1 de aplicação da GLCM para avaliação da DMT foi confirmada apenas pelo parâmetro *cor* usando-se um $d = 3$, na direção de 90° considerando as imagens com 8, 16, 32, 64, 128 e 256 níveis de cinza. Para o Estudo 2, duas das cinco variáveis da GLCM (*cor* e *con*) foram sensíveis ao DMT na direção, 90° , com $d = 10$ *pixels* e 256 níveis de cinza.. Para auxiliar o acompanhamento da discussão da presente tese, os resultados das variáveis estão expostos em anexo (ANEXO 5).

O parâmetro *cor* se mostrou sensível ao DMT nas mulheres avaliadas para 128 e 256 tons de cinza a partir de 48h após a intervenção excêntrica e persistiu em 72 h e 96 h, como pode ser percebido pela Figura 21. Matematicamente, o aumento da *cor* reflete a similaridade da variação de tons de cinza, assim como descreve ALVARENGA *et al.* (2007). Embora a visão humana tenha baixo desempenho na interpretação da variação da textura de uma imagem isolada (Davies, 2008), foi possível observar essas diferenças na sequência das imagens de uma voluntária do Estudo 1 pela Figura 5, ao longo de 96 h após intervenção. Para o Estudo 2, além da *cor*, os valores relativos do *con* também expressaram diferenças estatísticas (Figura 35), desde 48 h a 72 h para a medição realizada no comprimento distal e proximal, respectivamente. Os valores do *con* se reduzem, conforme diminui a variação dos níveis de cinza da ROI (Alvarenga *et al.*, 2007) e esse fato pode ser claramente observado pelo aumento homogêneo de *pixels* próximos ao branco em ultrassonografias de músculos lesionados (Figura 3). Neste sentido, tanto o aumento da *cor* como a redução do *con* refletem o mesmo fenômeno observado no DMT.

Um detalhe importante dos resultados do Estudo 1 é o comportamento do parâmetro *cor* ao longo de 96 h após o exercício em diferentes quantidades de tons de

cinza avaliados. De uma forma geral, a GLCM é um histograma bidimensional de valores dependente dos níveis de cinza ($G \times G$), que traduz a posição do pixel na ROI em relação à distância (d) e direção (α) escolhida no processamento inicial (Huber *et al.*, 2000). Neste sentido, em apenas 128 tons de cinza (com 42% para 48 h, 56% para 72 h e 71% para 96 h) e em 256 tons de cinza (40% para 48 h, 47% para 72 h e 50% para 96 h), para a medida pós intervenção, foram encontrados aumentos significativos da *cor* a partir de 48h após a intervenção excêntrica. Esta resposta reforça a idéia de que a sensibilidade para avaliar o DMT pela textura apresenta dependência da quantidade de tons de cinza consideradas e sendo assim, um possível fator determinante para futuras análises (Clausi, 2002).

A análise da imagem ainda sofre influência da definição dos parâmetros de entrada para geração da matriz. A escolha do ângulo (α) de deslocamento para o *pixel* seguinte se baseou na direção vertical da geração do pulso de US para geração da imagem (Flores *et al.*, 2015). Para a distância (d) entre dois pixels, a escolha do Estudo 1 foi baseada em outros estudos para análise de ultrassonografias para classificação de tumores mamários para 32 tons de cinza (Alvarenga *et al.*, 2007; Alvarenga *et al.*, 2010; Alvarenga *et al.*, 2012), com base na resolução lateral e axial do transdutor. Para o Estudo 2, a escolha de d foi de 10 *pixels* na tentativa de minimizar a instabilidade da medida percebida em imagens com maior resolução e maior ROI após diversas combinações entre d e o número de tons de cinza. Esse fato pode ser observado pelos resultados de confiabilidade das medidas, vide tabelas 3 e 4.

Para o Estudo 1, exceto o *cor*, todos os outros parâmetros da GLCM não tiveram alterações significativas dos seus valores relativos à medida inicial ao longo de 96 h. Para o Estudo 2, além do *cor*, o *con* também gerou alterações significativas pelo resultado normalizado, confirmando a hipótese inicial de variações desses descritores de

GLCM. O parâmetro *con* mostrou-se sensível apenas para o Estudo 2. Pode ser que o aumento do tamanho da ROI, assim como do valor *d* tenha influenciado nos resultados. Foram encontradas reduções de até 55% do valor do parâmetro *con*, após 72 h do comprimento médio e 31% no distal e, da mesma forma para *cor*, com variações de até 87% na imagem distal e 68% na média. De acordo com algumas imagens expostas no Estudo 2 ao longo da tese (Figuras 3 e 4), pode-se perceber *pixels* com tons de cinza similares. Estatisticamente, o *con* pode ser descrito como resultado da dispersão da variação dos valores de intensidade dos *pixels* da ROI, logo esperava-se que seus valores diminuíssem com o tempo após a intervenção. Isso de fato ocorreu e pode ser visto na Figura 3 em um participante do Estudo 2, antes e 72 h após a intervenção. O *con* é o parâmetro mais usado para avaliação de tecidos humanos para auxílio no diagnóstico de tumores mamários juntamente com a *cor* (Garra *et al.*, 1993; Sivaramakrishna *et al.*, 2002).

Embora não tenha sido encontrado na literatura nenhum estudo sobre análise da textura de ultrasonografias para acompanhamento do DMT, alguns estudos se baseiam em outras técnicas para caracterizar o tecido músculo-esquelético (Turo *et al.*, 2012; Sikio *et al.*, 2014; König *et al.*, 2015; Molinari *et al.*, 2015). Desses estudos, apenas KÖNIG *et al.* (2015) apresentaram uma proposta de análise de músculo (bíceps braquial) em pacientes com miosites através de um sistema de auxílio ao diagnóstico computadorizada. Os autores variaram o tamanho ROI de acordo com a imagem obtida do bíceps braquial e relataram que o tamanho da ROI é relevante na análise realizada, através de melhores resultados para sensibilidade, exatidão e especificidade em maiores ROIs. Para quase todas as amostras usadas no Estudo 1, as ROIs (25 x 25 *pixels*) ocupavam o maior espaço possível nas ultrasonografias com limites próximos ao músculo braquial exposto. Além disso, foram dispensadas aproximadamente 30% das

amostras por não comportarem a ROI adotada na área do braquial das mulheres saudáveis e destreinadas. Este fator limitante foi corrigido no Estudo 2 com a determinação da ROI de 50 x 50 *pixels* para homens.

Quanto à IE para avaliação da textura da imagem, foi considerada a média do histograma de distribuição de *pixels*. A primeira publicação sobre o uso da média de IE para avaliação do DMT foi o estudo de NOSAKA e SAKAMOTO (2001). Neste artigo os autores apresentam grande similaridade entre a avaliação da média de IE e T2 por RM após 24 repetições excêntricas para os flexores do cotovelo. Baseado nos resultados das avaliações das imagens, os autores afirmam que a análise de ultrassonografias poderia ser uma técnica válida e não invasiva para estudo do DMT. O efeito fisiológico do DMT é expresso como variação da IE nos primeiros dias após o exercício como parte do processo inflamatório causado pela ruptura de estruturas do citoesqueleto (Nosaka e Sakamoto, 2001). A partir dessa afirmação, diversos estudos também se utilizaram da IE para avaliar o DMT (Nosaka *et al.*, 2005; Chapman *et al.*, 2008; Radaelli *et al.*, 2012).

Os resultados do Estudo 1 mostram que a IE apresentou aumento significativo de 19,6% em 72 h e 27% em 96 h em relação à medida imediatamente pós intervenção excêntrica. Para o Estudo 2, o aumento significativo da média de IE do braquial chegou a 36 e 62% em 48 h e 72 h, respectivamente, no comprimento médio. As variações estatísticas no trecho distal chegaram a aproximadamente 28% e 52% em 48 h e 72 h, respectivamente. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos musculares. As variações relativas e significativas da IE no Estudo 1 corroboram com achados dos estudos de CHEN *et al.* (2011; 2013), nos quais foi realizada intervenção em homens destreinados e houve variação entre 20-23% da IE do braquial no terceiro dia pós intervenção excêntrica e 23-30% após quatro dias. Já a

variação encontrada no Estudo 2 está mais próxima aos achados do estudo publicado por NOSAKA *et al.* (2005), que mostrou a variação da média da IE foi superior a 40% em relação à medida inicial pós 72 h e 96 h. Tais diferenças podem estar relacionadas à quantidade de repetições excêntricas durante a intervenção proposta, com duas séries de 24 repetições excêntricas para os flexores do cotovelo em relação ao Estudo 1. Os resultados do Estudo 1 diferem dos encontrados por RADAELLI *et al.* (2012) para a variação da IE, em mulheres destreinadas com 25% de repetições a mais e encontraram variação da média da IE de aproximadamente 10% em relação à medida inicial do músculo braquial. A explicação para tais diferenças pode estar relacionada ao tipo de intervenção usada no estudo de RADAELLI *et al.* (2012) que se baseou em contrações concêntricas. A literatura aponta que contrações excêntricas acarretam resultados mais expressivos para o DMT quando comparados à contrações concêntricas (Willoughby *et al.*, 2003; Iguchi *et al.*, 2010).

A literatura se baseia em uso da média de distribuição de *pixels* na escala de tons de cinza como descritor de IE (Radaelli *et al.*, 2012; Palmer *et al.*, 2015; Lopez *et al.*, 2016). Entretanto, qualitativamente foi observada uma redução na dispersão dos valores encontrados ao longo do tempo, após a intervenção excêntrica em ambos os estudos. Como proposta diferenciada de utilização da IE em futuras análises de textura com DMT, medidas de dispersão do histograma da imagem também devem ser incluídas, como descritor, como desvio-padrão ou variância.

O processo inflamatório é causado pela ruptura das estruturas miofibrilares com consequente aumento da circulação sanguínea local para que as células satélites possam regenerar o dano tecidual causado pelo exercício, gerando edema muscular (Clarkson e Hubal, 2002). Nos dois estudos da tese, o edema foi avaliado pela EM dos flexores do cotovelo (bíceps braquial e braquial) pela ultrassonografia, músculos fusiformes. Neste

sentido, esses músculos possuem a organização estrutural dos seus sarcômeros alinhados em série (Friden e Lieber, 1992)

Os resultados do Estudo 1 apresentaram aumento de aproximadamente 6% para EM logo após a intervenção excêntrica, chegando a 11% no dia seguinte e 8,3% para 48h após a intervenção excêntrica. Entretanto, os resultados do Estudo 1 diferem do único estudo encontrado com valores de EM dos flexores de cotovelo realizado com mulheres (Flores *et al.*, 2011). Neste caso, os autores encontraram variações significativas de 8% da EM dos flexores do cotovelo logo após a intervenção e surpreendente redução significativa da mesma em 24 h. Já os resultados do Estudo 2 apresentaram variações iniciais de aproximadamente 10-15% até 48h e chegando a 25% da EM em 72 h. Houve variações significativas para os dois comprimentos musculares avaliados em 72 h e sem diferenças entre os três comprimentos musculares avaliados quando comparados entre eles. Esses resultados corroboram os achados de CHAMPAN *et al.* (2008) e CHEN e NOSAKA (2006b) em experimentos realizados em homens destreinados com aumento de até 11% após o treinamento excêntrico em apenas um comprimento muscular. Usando protocolo de contrações submáximas em homens destreinados, THIEBAND *et al.* (2013) encontraram variações de apenas 6% um dia após a intervenção.

Embora o músculo braquial seja penado (Hodges *et al.*, 2003) e outras variáveis da arquitetura muscular pudessem ser medidas, apenas a EM foi usada para avaliação do edema. Outra possibilidade de medição do edema em músculos penados após intervenção excêntrica do treinamento de força é por meio do CF, isto é, avaliação do edema no sentido das fibras musculares ou em série. O CF é um parâmetro da arquitetura muscular longitudinal em músculos penados que já foi investigado após intervenção em cicloergômetro excêntrico, com aumento do CF do músculo vasto

lateral (Penailillo *et al.*, 2015). Em contrapartida, imediatamente após a realização de contrações concêntricas no treinamento de força, ocorre a redução significativa do CF do vasto lateral (Csapo *et al.*, 2011). Neste sentido a avaliação do edema em série ainda pode ser explorado em futuros estudos.

Um dos efeitos funcionais do DMT é a perda da capacidade de produção de força voluntária a qual pode durar até uma semana (Paulsen *et al.*, 2012). Esse fenômeno fisiológico ocorre imediatamente após a intervenção excêntrica pelo desarranjo das miofibrilas e consequente incapacidade de transmissão neural (Butterfield, 2010). O processo de desorganização e ruptura estrutural inviabiliza a realização de pontes cruzadas para completar o processo de contração muscular. Essa reação se soma à possível fadiga pós exercício de alta intensidade (Iguchi *et al.*, 2010). De acordo com as bases da mecânica muscular, mais especificamente a relação força-velocidade, o exercício excêntrico usado no protocolo de indução ao DMT é capaz de gerar maior força voluntária (Reeves *et al.*, 2009) e assim maior indução à fadiga local em um imediato teste de CIVM (Proske e Allen, 2005; Hubal *et al.*, 2007; Hyldahl e Hubal, 2014).

Desta forma, foi observado que a força relativa teve um decréscimo de 25% dos flexores de cotovelo imediatamente após a intervenção excêntrica e se manteve por mais 24 h (aproximadamente 18%) no Estudo 1 (Figura 15). Os resultados do Estudo 1 apresentaram queda apenas nas primeiras 24 h após a intervenção realizada em mulheres e medidas posteriores não alcançaram diferenças estatísticas em relação à medida inicial. Em mulheres, a literatura revela quedas significativas de até 10-15% na CIVM dos flexores do cotovelo até 96 h após intervenção excêntrica, para intervenções com maior volume de treinamento do que o Estudo 1 (Flores *et al.*, 2011; Radaelli *et al.*, 2012). Esses achados corroboram com a provável relação da queda de produção de

força com a quantidade de repetições para uma sessão de exercícios (Paddon-Jones e Abernethy, 2001; Chen e Nosaka, 2006a; Howatson *et al.*, 2007). Para os homens no Estudo 2, foi observada queda de 37% na pico de torque isométrico logo após a intervenção excêntrica em relação à medida inicial, mantendo-se significativamente menor em aproximadamente 32% até 72 h. Para homens, a queda significativa da capacidade de produção de força pode demorar até duas semanas para retorno à condição inicial, em casos extremos em intervenções de maior volume de treino do que o aplicado no Estudo 2 (Clarkson *et al.*, 2005; Paulsen *et al.*, 2012).

A intervenção excêntrica para os flexores de cotovelo realizada com mulheres no Estudo 1 gerou recuperação mais rápida da produção de força, quando comparada ao Estudo 2 realizado com homens. Embora refutado por alguns estudos (Stupka *et al.*, 2000; Hicks *et al.*, 2016), grande parte da literatura corrobora com a comparação gerada entre os dois estudos da presente tese para alguns marcadores de DMT (Borsa e Sauer, 2000; Sewright *et al.*, 2008; Wolf *et al.*, 2012). Uma vez que a intervenção e o teste de força foram semelhantes, duas possíveis razões podem justificar esses achados embora não tenham sido investigadas. A primeira é a questão hormonal, já que mulheres produzem o estrógeno como hormônio feminino como consequência da propriedade oxidante acionada pela ruptura estrutural (Tiidus, 1995). A segunda pode estar relacionada ao fator motivacional ou psicológico empregado em experimentos de força em diferentes gêneros. Neste sentido, é notório que experimentos com testes laboratoriais realizados com homens e membros superiores gerem maior incentivo do que com mulheres e com isso, respostas ao DMT com resultados distintos.

Outra resposta fisiológica muito estudada no DMT são as DOMS, que começam a ser investigadas em 1977 por ABRAHAM (1977), apresentando três possíveis mecanismos causadores. A hipótese mais aceita é a de ruptura do citoesqueleto e

consequente recrutamento de células inflamatórias e mediadores químicos que causam a sensação de desconforto (Wool *et al.*, 1994). O Estudo 1 avaliou as DOMS através da EAV entre 0 e 100 de duas formas, uma local com pressão manual durante três segundos e realizada por avaliador experiente. A outra avaliação de DOMS foi gerada pelo movimento passivo de extensão do cotovelo para alongar as estruturas danificadas com o exercício excêntrico.

As duas formas de avaliação de DOMS usadas no Estudo 1 apresentaram respostas semelhantes, com valores extremos entre 24 e 48h após a intervenção excêntrica e decréscimo nas avaliações seguintes. No Estudo 2, a avaliação de DOMS pela EAV de 10mm foi padronizada por um algômetro em três comprimentos do braço, diferente da palpação avaliador-dependente do Estudo 1. Os resultados dos estudos conduzidos na presente tese corroboram o que a literatura apresenta, tanto para palpação (Chapman *et al.*, 2008; Aboodarda *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2013) realizada em homens destreinados, como para o alongamento passivo dos flexores do cotovelo (Chen e Nosaka, 2006a; Radaelli *et al.*, 2012). Entretanto, foram encontrados poucos relatos com amostra composta por mulheres destreinadas. RADAELLI *et al.* (2012) e FLORES *et al.* (2011) encontraram resultados semelhantes com os do Estudo 1 com maiores valores em 24 e 48h pela palpação dos flexores do cotovelo.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos musculares analisados no Estudo 2, entretanto as DOMS tiveram seus maiores valores entre 24 h e 72 h após a intervenção excêntrica. Corroborando os achados do Estudo 2, JUBEAU *et al.* (2012) também não encontraram diferenças significativas na EAV para DOMS em diferentes comprimentos do braço. No referido estudo foi utilizado um algômetro de pressão após DMT causado por exercício isométrico ou eletroestimulação, isto é, de menor intensidade do que a intervenção proposta na presente tese. Entretanto,

os resultados de DIERKING *et al.* (2000) diferem do presente estudo. Os autores mostram que os DOMS foram predominantes no terço distal dos flexores do cotovelo após 72 h da intervenção composta por 20% mais repetições excêntricas que as realizadas no Estudo 2. Tais diferenças podem estar associadas à EAV usada pelos autores, com apenas três classificações para DOMS. De acordo com os achados do Estudo 2, é possível afirmar que as DOMS parecem ocorrer de forma homogênea ao longo dos flexores do cotovelo quando a pressão usada na pele é padronizada.

Uma das perguntas da presente tese se baseia na análise do DMT em diferentes comprimentos musculares. Sabe-se que músculos com diferentes organizações de arranjos dos fascículos musculares reagem ao DMT de formas distintas, como por exemplo, flexores de cotovelo e extensores do joelho que são grupamentos musculares com tamanho de fibra/fascículos diferentes (Chen *et al.*, 2011). De acordo com a hipótese de *popping* dos sarcômeros, sarcômeros mais frágeis em série se rompem com mais facilidade e músculos com maiores fibras musculares são mais suscetíveis à rupturas (Morgan, 1990). Aprofundando a motivação do Estudo 2, a literatura já mostrou que a variação crônica da EM no trecho proximal dos flexores do cotovelo é significativamente maior que no trecho distal (Matta *et al.*, 2011). Esse fato pode ser explicado por esse trecho do comprimento muscular apresentar maior encurtamento durante a contração muscular. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos musculares para nenhuma variável local medida.

Outras limitações de ambos os estudos podem ser pontuadas como as pequenas amostras selecionadas tanto para mulheres no Estudo 1 pelo tamanho da ROI para análise e o tamanho da amostra de homens no Estudo 2. Talvez amostras maiores reproduzam resultados diferentes. A avaliação do DMT por marcadores sanguíneos,

usados em pesquisa relacionada ao tema fisiológico, também podem ser incluídos em próximos estudos.

Outra limitação do Estudo 1 foi a falta da análise de confiabilidade e variabilidade das medidas para todas as variáveis. Este fato foi corrigido no Estudo 2, com resultados de confiabilidade e variabilidade entre dois dias pelo mesmo avaliador apresentados nas tabelas 1 a 7. Para todas as variáveis medidas, a confiabilidade resultou em dados confiáveis de acordo com a classificação de Cicchetti e Sparrow (1981) com $CCI_r \geq 0,600$. Apenas um estudo sobre confiabilidade da medida de análise de textura bidimensional em ultrassonografias foi encontrado na literatura (Da Silva Pereira Junior *et al.*, 2015), apresentando boa confiabilidade para algumas variáveis de CC.

Quanto à variabilidade dos dados expressa pelo CV%, os resultados mostram que a *cor* e *coo* da GLCM apresentaram maior instabilidade nas medições realizadas em dois dias distintos, com CV% de aproximadamente 45-72% para *cor* e 52-57% para *coo*. Já as outras variáveis medidas não apresentaram variabilidade relevante.

Um fator importante para a aplicação futura da GLCM está relacionado aos resultados específicos da quantidade de tons de cinza encontrados no Estudo 1. Parece que são fundamentais no mínimo 128 tons de cinza para observar alterações na *cor* no DMT. A aplicação das estratégias de quantificação da textura para avaliação de ultrassonografias, tanto pela GLCM como pela IE, também pode ser realizada com auxílio de *softwares* comerciais para análise de imagens.

O estudo do processo de DMT é geralmente realizado no campo prático na tentativa de explicar os mecanismos de ação para cada tipo de medida, para estudar como o DMT responde aos diferentes estímulos e tratamentos. Para o futuro da pesquisa do DMT, é fundamental direcionar a forma de avaliação local e não-invasiva

adequadamente. Neste sentido a presente tese teve como objetivo aplicar conceitos de análise de ultrassonografias pela GLCM para avaliação do DMT após intervenção excêntrica. De uma forma geral, a GLCM parece ser uma ferramenta sensível e confiável para análise do DMT.

CONCLUSÃO

O objetivo principal da presente tese foi avaliar o DMT através dos descritores de textura de ultrassonografias dos flexores do cotovelo após o treinamento excêntrico. Como resultado principal do Estudo 1, o parâmetro correlação (*cor*) em 128 e 256 tons de cinza foi sensível às alterações a partir de 48 h após intervenção excêntrica em mulheres destreinadas, enquanto a média da IE só apresentou variações em 72 h.

No Estudo 2, além do *cor*, o parâmetro contraste (*con*) também apresentou alterações sensíveis para análise de ultrassonografias com DMT. Sendo assim, os resultados do Estudo 2 sugerem que a *cor* e *con* da GLCM podem ser usados na ultrassonografia para avaliação do DMT. Esses achados sugerem que esses parâmetros podem ser mais sensíveis para detecção do DMT do que a média da IE que mostrou grande variação após a intervenção. Os resultados do estudo 2 também sugerem que o DMT é homogêneo ao longo dos flexores do cotovelo.

A aplicação da análise da textura bidimensional em ultrassonografias no tecido músculo-esquelético mostrou-se uma ferramenta promissora de avaliação do DMT. Neste sentido, algumas variações nos parâmetros de GLCM (*d* e α) ainda podem ser estudadas para aperfeiçoar o emprego da mesma, assim como a aplicação e associação de outros descritores de textura. Outras questões metodológicas, como diferentes comprimentos musculares, músculos com diferentes organizações das fibras, amostras com diferentes características e variações da posição do transdutor para aquisição da imagem demandam investigações futuras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOODARDA, S. J. et al. Muscle strength and damage following two modes of variable resistance training. **J Sports Sci Med**, v. 10, n. 4, p. 635-42, 2011.

ABRAHAM, W. M. Factors in delayed muscle soreness. **Med Sci Sports**, v. 9, n. 1, p. 11-20, Spring 1977.

AHTIAINEN, J. P. et al. Panoramic ultrasonography is a valid method to measure changes in skeletal muscle cross-sectional area. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 2, p. 273-279, 2010.

AL-JANOBI, A. Performance evaluation of cross-diagonal texture matrix method of texture analysis. **Pattern Recognition**, v. 34, n. 1, p. 171-180, 2001.

ALVARENGA, A. V. et al. Assessing the performance of morphological parameters in distinguishing breast tumors on ultrasound images. **Med Eng Phys**, v. 32, n. 1, p. 49-56, 2010.

ALVARENGA, A. V. et al. Assessing the combined performance of texture and morphological parameters in distinguishing breast tumors in ultrasound images. **Med Phys**, v. 39, n. 12, p. 7350-8, 2012.

ALVARENGA, A. V. et al. Complexity curve and grey level co-occurrence matrix in the texture evaluation of breast tumor on ultrasound images. **Med Phys**, v. 34, n. 2, p. 379-87, 2007.

AMIN, A.; MAHMOUD-GHONEIM, D. Texture analysis of liver fibrosis microscopic images: a study on the effect of biomarkers. **Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)**, v. 43, n. 3, p. 193-203, 2011.

ARMSTRONG, R. B.; WARREN, G. L.; WARREN, J. A. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. **Sports Med**, v. 12, n. 3, p. 184-207, 1991.

ATKINSON, G.; NEVILL, A. M. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine. **Sports Med**, v. 26, n. 4, p. 217-38, 1998.

BAHEERATHAN, S.; ALBREGTSEN, F.; DANIELSEN, H. E. New texture features based on the complexity curve. **Pattern Recognition**, v. 32, n. 4, p. 605-618, 1999.

BARASH, I. A. et al. Desmin cytoskeletal modifications after a bout of eccentric exercise in the rat. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 283, n. 4, p. R958-63, 2002.

BARROSO, R. et al. Effect of eccentric contraction velocity on muscle damage in repeated bouts of elbow flexor exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 35, n. 4, p. 534-40, 2010.

BLAZEVICH, A. J. Effects of physical training and detraining, immobilisation, growth and aging on human fascicle geometry. **Sports Med**, v. 36, n. 12, p. 1003-17, 2006.

BOBBERT, M. F.; HOLLANDER, A. P.; HUIJING, P. A. Factors in delayed onset muscular soreness of man. **Med Sci Sports Exerc**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 1986.

BORSA, P. A.; SAUERS, E. L. The importance of gender on myokinetic deficits before and after microinjury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 5, p. 891-6, 2000.

BRANCACCIO, P.; LIPPI, G.; MAFFULLI, N. Biochemical markers of muscular damage. **Clin Chem Lab Med**, v. 48, n. 6, p. 757-67, 2010.

BRENTANO, M. A. et al. Muscle Damage And Muscle Activity Induced By Strength Training Super-Sets In Physically Active Men. **J Strength Cond Res**, 2016.

BUTTERFIELD, T. A. Eccentric exercise in vivo: strain-induced muscle damage and adaptation in a stable system. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 38, n. 2, p. 51-60, 2010.

CADORE, E. L. et al. Echo intensity is associated with skeletal muscle power and cardiovascular performance in elderly men. **Exp Gerontol**, v. 47, n. 6, p. 473-8, 2012.

CAMPOS, G. E. et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, 2002.

CANNON, J. G.; ST PIERRE, B. A. Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. **Mol Cell Biochem**, v. 179, n. 1-2, p. 159-67, 1998.

CARESIO, C. et al. Muscle echo intensity: reliability and conditioning factors. **Clin Physiol Func Imag**, v. 35, n. 5, p. 393-403, 2015.

CERRI, G.; MAGALHÃES, J. A.; MAGALHÃES, A. The use of ultrasonography and computerized tomography of the abdomen. **Rev Hosp das Clínicas**, v. 35, n. 6, p. 290, 1980.

CHAN, R.; NEWTON, M.; NOSAKA, K. Effects of set-repetition configuration in eccentric exercise on muscle damage and the repeated bout effect. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 7, p. 2653-61, 2012.

CHAPMAN, D. W. et al. Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 27, n. 8, p. 591-8, 2006.

CHAPMAN, D. W. et al. Comparison between old and young men for responses to fast velocity maximal lengthening contractions of the elbow flexors. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p. 531-9, 2008.

CHEN, C. H. et al. Effects of flexibility training on eccentric exercise-induced muscle damage. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 3, p. 491-500, 2011.

CHEN, T. C. Effects of a second bout of maximal eccentric exercise on muscle damage and electromyographic activity. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 2, p. 115-21, 2003.

CHEN, T. C. et al. Potent protective effect conferred by four bouts of low-intensity eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 5, p. 1004-1012, 2010.

CHEN, T. C. et al. Effect of two maximal isometric contractions on eccentric exercise-induced muscle damage of the elbow flexors. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 6, p. 1545-54, 2013.

CHEN, T. C. et al. Muscle damage responses of the elbow flexors to four maximal eccentric exercise bouts performed every 4 weeks. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 2, p. 267-75, 2009.

CHEN, T. C. et al. Attenuation of eccentric exercise-induced muscle damage by preconditioning exercises. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 11, p. 2090-8, 2012.

CHEN, T. C. et al. Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 2, p. 211-223, 2011.

CHEN, T. C.; NOSAKA, K. Effects of number of eccentric muscle actions on first and second bouts of eccentric exercise of the elbow flexors. **J Sci Med Sport**, v. 9, n. 1-2, p. 57-66, 2006a.

CHEN, T. C.; NOSAKA, K. Responses of elbow flexors to two strenuous eccentric exercise bouts separated by three days. **J Strength Cond Res**, v. 20, n. 1, p. 108-16, 2006b.

CHEN, T. C. et al. Low-intensity eccentric contractions attenuate muscle damage induced by subsequent maximal eccentric exercise of the knee extensors in the elderly. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 4, p. 1005-15, 2013

CICCHETTI, D. V.; SPARROW, S. A. Developing criteria for establishing interrater reliability of specific items: applications to assessment of adaptive behavior. **Am J Ment Defic**, v. 86, n. 2, p. 127-37, 1981.

CLARKSON, P. M. et al. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. **J Appl Physiol (1985)**, v. 99, n. 1, p. 154-63, 2005.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 81, n. 11 Suppl, p. S52-69, 2002.

CLARKSON, P. M.; SAYERS, S. P. Etiology of exercise-induced muscle damage. **Can J Appl Physiol**, v. 24, n. 3, p. 234-248, 1999.

CLARKSON, P. M.; TREMBLAY, I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 65, n. 1, p. 1-6, 1988.

CLAUSI, D. A. An analysis of co-occurrence texture statistics as a function of grey level quantization. **Can J Rem Sens**, v. 28, n. 1, p. 45-62, 2002.

CSAPO, R.; ALEGRE, L. M.; BARON, R. Time kinetics of acute changes in muscle architecture in response to resistance exercise. **J Sci Med Sport**, v. 14, n. 3, p. 270-4, 2011.

D'AGOSTINO, R. B.; BELANGER, A.; D'AGOSTINO JR, R. B. A suggestion for using powerful and informative tests of normality. **The American Statistician**, v. 44, n. 4, p. 316-321, 1990.

DA SILVA PEREIRA JUNIOR, N. et al. Reliability of ultrasound texture measures of Biceps Brachialis and Gastrocnemius Lateralis muscles' images. **Clin Physiol Funct Imaging**, 2015.

DANNECKER, E. A. et al. Sex differences in exercise-induced muscle pain and muscle damage. **The Journal of Pain**, v. 13, n. 12, p. 1242-1249, 2012.

DAVIES, E. Introduction to texture analysis. **Handbook of texture analysis**, p. 1-31, 2008.

DIERKING, J. K. et al. Validity of diagnostic ultrasound as a measure of delayed onset muscle soreness. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 30, n. 3, p. 116-22; discussion 123-5, 2000.

ENDO, T. et al. Effects of muscle damage induced by eccentric exercise on muscle fatigue. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 7, p. 1151-6, 2005.

ERSKINE, R. M. et al. In vivo specific tension of the human quadriceps femoris muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 6, p. 827-38, 2009.

ESTON, R. G.; MICKLEBOROUGH, J.; BALZOPoulos, V. Eccentric activation and muscle damage: biomechanical and physiological considerations during downhill running. **Br J Sports Med**, v. 29, n. 2, p. 89-94, 1995.

FAN, Z. et al. Characteristics of magnetic resonance imaging biomarkers in a natural history study of golden retriever muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**, v. 24, n. 2, p. 178-91, 2014.

FISCHER, A. A. Reliability of the pressure algometer as a measure of myofascial trigger point sensitivity. **Pain**, v. 28, n. 3, p. 411-4, 1987.

FISH, P. **Physics and Instrumentation of Diagnostic Medical Ultrasound**. Wiley, 1990.

FLORES, D. F. et al. Dissociated time course of recovery between genders after resistance exercise. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 11, p. 3039-44, Nov 2011.

FLORES, W. G.; DE ALBUQUERQUE PEREIRA, W. C.; INFANTOSI, A. F. C. Improving classification performance of breast lesions on ultrasonography. **Pattern Recognition**, v. 48, n. 4, p. 1125-1136, 2015.

FOLEY, J. M. et al. MR measurements of muscle damage and adaptation after eccentric exercise. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 6, p. 2311-2318, 1999.

FRIDEN, J. Muscle soreness after exercise: implications of morphological changes. **Int J Sports Med**, v. 5, n. 2, p. 57-66, 1984.

FRIDEN, J.; LIEBER, R. L. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 24, n. 5, p. 521-30, 1992.

FRIDEN, J.; LIEBER, R. L. Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. **Acta Physiol Scand**, v. 171, n. 3, p. 321-6, 2001.

FUKUNAGA, T. et al. Muscle architecture and function in humans. **J Biomech**, v. 30, n. 5, p. 457-63, 1997.

GANS, C. Fiber architecture and muscle function. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 10, p. 160-207, 1982.

GARRA, B. S. et al. Improving the distinction between benign and malignant breast lesions: the value of sonographic texture analysis. **Ultrason Imaging**, v. 15, n. 4, p. 267-85, 1993.

GLEESON, N. et al. Effects of prior concentric training on eccentric exercise induced muscle damage. **Br J Sports Med**, v. 37, n. 2, p. 119-125, 2003.

GÓMEZ, W.; PEREIRA, W.; INFANTOSI, A. Improving classification performance of breast lesions on ultrasonography. **Pattern Recognition**, 2014.

GUILHEM, G.; CORNU, C.; GUEVEL, A. Muscle architecture and EMG activity changes during isotonic and isokinetic eccentric exercises. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 11, p. 2723-33, 2011.

HEDAYATPOUR, N. et al. Sensory and electromyographic mapping during delayed-onset muscle soreness. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 2, p. 326-34, 2008.

HICKS, K. M. et al. Muscle Damage following Maximal Eccentric Knee Extensions in Males and Females. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0150848, 2016.

HODGES, P. W. et al. Measurement of muscle contraction with ultrasound imaging. **Muscle Nerve**, v. 27, n. 6, p. 682-92, 2003.

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

HORTOBAGYI, T. et al. Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 84, n. 2, p. 492-8, 1998.

HOWATSON, G.; VAN SOMEREN, K.; HORTOBAGYI, T. Repeated bout effect after maximal eccentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 28, n. 7, p. 557-63, 2007.

HOWATSON, G.; VAN SOMEREN, K. A. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. **Sports Med**, v. 38, n. 6, p. 483-503, 2008.

HUBAL, M. J.; RUBINSTEIN, S. R.; CLARKSON, P. M. Mechanisms of variability in strength loss after muscle-lengthening actions. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 3, p. 461-8, 2007.

HUBER, S. et al. Relevance of sonographic B-mode criteria and computer-aided ultrasonic tissue characterization in differential/diagnosis of solid breast masses. **Ultrasound Med Biol**, v. 26, n. 8, p. 1243-52, 2000.

HUNTER, K. D.; FAULKNER, J. A. Pliometric contraction-induced injury of mouse skeletal muscle: effect of initial length. **J Appl Physiol (1985)**, v. 82, n. 1, p. 278-83, 1997.

HYLDAHL, R. D.; HUBAL, M. J. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. **Muscle Nerve**, v. 49, n. 2, p. 155-70, 2014.

IGUCHI, M.; SHIELDS, R. K. Quadriceps low-frequency fatigue and muscle pain are contraction-type-dependent. **Muscle Nerve**, v. 42, n. 2, p. 230-8, 2010.

JAMURTAS, A. Z. et al. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, n. 2-3, p. 179-85, 2005.

JONES, D.; NEWHAM, D.; TORGAN, C. Mechanical influences on long- lasting human muscle fatigue and delayed- onset pain. **J Physiol**, v. 412, n. 1, p. 415-427, 1989.

JONES, D. A.; NEWHAM, D. J.; CLARKSON, P. M. Skeletal muscle stiffness and pain following eccentric exercise of the elbow flexors. **Pain**, v. 30, n. 2, p. 233-42, 1987.

JUBEAU, M. et al. Comparison in muscle damage between maximal voluntary and electrically evoked isometric contractions of the elbow flexors. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 2, p. 429-38, 2012.

KANDA, K. et al. Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation. **Exerc Immunol Rev**, v. 19, p. 72-85, 2013.

KAWAKAMI, Y. et al. Training-induced changes in muscle architecture and specific tension. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 72, n. 1-2, p. 37-43, 1995.

KOMULAINEN, J. et al. Controlled lengthening or shortening contraction-induced damage is followed by fiber hypertrophy in rat skeletal muscle. **Int J Sports Med**, v. 21, n. 2, p. 107-12, 2000.

KOMULAINEN, J. et al. The disruption of myofibre structures in rat skeletal muscle after forced lengthening contractions. **Pflugers Arch**, v. 436, n. 5, p. 735-41, 1998.

KONIG, T. et al. Ultrasound texture-based CAD system for detecting neuromuscular diseases. **Int J Comput Assist Radiol Surg**, v. 10, n. 9, p. 1493-503, 2015.

KUO, G. P.; CARRINO, J. A. Skeletal muscle imaging and inflammatory myopathies. **Curr Opin Rheumatol**, v. 19, n. 6, p. 530-5, 2007.

LAU, W. Y. et al. Reduced muscle lengthening during eccentric contractions as a mechanism underpinning the repeated-bout effect. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 308, n. 10, p. R879-86, 2015.

LEFEBVRE, H. et al. Non-invasive quantification of organ damage. **Comparative Haematology International**, v. 5, n. 2, p. 120-124, 1995.

LIEBER, R. L.; FRIDEN, J. Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. **J Sci Med Sport**, v. 2, n. 3, p. 253-65, 1999.

LIEBER, R. L.; FRIDEN, J. Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture. **Muscle Nerve**, v. 23, n. 11, p. 1647-66, 2000.

LIEBER, R. L.; FRIDEN, J. Clinical significance of skeletal muscle architecture. **Clin Orthop Relat Res**, n. 383, p. 140-51, 2001.

LOPEZ, P. et al. Echo intensity independently predicts functionality in sedentary older men. **Muscle Nerve**, 2016.

MAHMOUD-GHONEIM, D. et al. Texture analysis of magnetic resonance images of rat muscles during atrophy and regeneration. **Magn Reson Imaging**, v. 24, n. 2, p. 167-71, 2006.

MALM, C.; YU, J. G. Exercise-induced muscle damage and inflammation: re-evaluation by proteomics. **Histochem Cell Biol**, v. 138, n. 1, p. 89-99, 2012.

MARTINEZ-AMAT, A. et al. Release of alpha-actin into serum after skeletal muscle damage. **Br J Sports Med**, v. 39, n. 11, p. 830-4, 2005.

MATTA, T. et al. Strength training's chronic effects on muscle architecture parameters of different arm sites. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 6, p. 1711-7, 2011.

MCHUGH, M. P.; NESSE, M. Effect of stretching on strength loss and pain after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 3, p. 566-73, 2008.

MIZUMURA, K.; TAGUCHI, T. Delayed onset muscle soreness: Involvement of neurotrophic factors. **J Physiol Sci**, v. 66, n. 1, p. 43-52, 2016.

MOLINARI, F. et al. Advances in quantitative muscle ultrasonography using texture analysis of ultrasound images. **Ultrasound Med Biol**, v. 41, n. 9, p. 2520-32, 2015.

MORGAN, D. L. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. **Biophys J**, v. 57, n. 2, p. 209-21, 1990.

MURASE, S. et al. Bradykinin and nerve growth factor play pivotal roles in muscular mechanical hyperalgesia after exercise (delayed-onset muscle soreness). **The journal of neuroscience**, v. 30, n. 10, p. 3752-3761, 2010.

NEUBAUER, O.; KONIG, D.; WAGNER, K. H. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p. 417-26, 2008.

NEWHAM, D. J. et al. Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions. **Clin Sci (Lond)**, v. 64, n. 1, p. 55-62, 1983.

NEWTON, M. J. et al. Comparison of responses to strenuous eccentric exercise of the elbow flexors between resistance-trained and untrained men. **J Strength Cond Res**, v. 22, n. 2, p. 597-607, 2008.

NGUYEN, H. X.; TIDBALL, J. G. Expression of a muscle-specific, nitric oxide synthase transgene prevents muscle membrane injury and reduces muscle inflammation during modified muscle use in mice. **J Physiol**, v. 550, n. Pt 2, p. 347-56, 2003.

NIELSEN, P. K. et al. Quantitative ultrasound tissue characterization in shoulder and thigh muscles--a new approach. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 7, p. 2, 2006.

NOORKOIV, M. et al. In vivo assessment of muscle fascicle length by extended field-of-view ultrasonography. **J Appl Physiol**, v. 109, n. 6, p. 1974-1979, 2010.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P. M. Effect of eccentric exercise on plasma enzyme activities previously elevated by eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 69, n. 6, p. 492-7, 1994.

NOSAKA, K.; NEWTON, M.; SACCO, P. Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. **Scand J Med Sci Sports**, v. 12, n. 6, p. 337-46, 2002.

NOSAKA, K. et al. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 5, p. 746-53, 2005.

NOSAKA, K.; SAKAMOTO, K. Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 1, p. 22-9, 2001.

NOSAKA, K. et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 9, p. 1490-5, 2001.

ORFANOS, Z. et al. Breaking sarcomeres by in vitro exercise. **Sci Rep**, v. 6, p. 19614, 2016.

PADDON-JONES, D.; ABERNETHY, P. J. Acute adaptation to low volume eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 7, p. 1213-9, 2001.

PALMER, T. B. et al. Reliability of panoramic ultrasound imaging in simultaneously examining muscle size and quality of the hamstring muscles in young, healthy males and females. **Ultrasound Med Biol**, v. 41, n. 3, p. 675-84, 2015.

PAPPAS, G. P. et al. Nonuniform shortening in the biceps brachii during elbow flexion. **J Appl Physiol**, v. 92, n. 6, p. 2381-2389, 2002.

PASCHALIS, V. et al. Equal volumes of high and low intensity of eccentric exercise in relation to muscle damage and performance. **J Strength Cond Res**, v. 19, n. 1, p. 184-8, 2005.

PAULSEN, G. et al. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exerc Immunol Rev**, v. 18, p. 42-97, 2012.

PEAKE, J.; NOSAKA, K.; SUZUKI, K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. **Exerc Immunol Rev**, v. 11, p. 64-85, 2005.

PEETRONIS, P. Ultrasound of muscles. **Eur Radiol**, v. 12, n. 1, p. 35-43, 2002.

PENAILILLO, L.; BLAZEVIK, A. J.; NOSAKA, K. Muscle fascicle behavior during eccentric cycling and its relation to muscle soreness. **Med Sci Sports Exerc**, v. 47, n. 4, p. 708-17, 2015.

PILLEN, S. Skeletal muscle ultrasound. **Eur J Transl Myol**, v. 20, n. 4, p. 145-156, 2010.

PILLEN, S.; VAN ALFEN, N. Skeletal muscle ultrasound. **Neurol Res**, v. 33, n. 10, p. 1016-24, 2011.

PILLEN, S. et al. Skeletal muscle ultrasonography: Visual versus quantitative evaluation. **Ultrasound Med Biol**, v. 32, n. 9, p. 1315-21, 2006.

PIZZA, F. X.; BAYLIES, H.; MITCHELL, J. B. Adaptation to eccentric exercise: neutrophils and E-selectin during early recovery. **Can J Appl Physiol**, v. 26, n. 3, p. 245-53, 2001.

PRASARTWUTH, O. et al. Length-dependent changes in voluntary activation, maximum voluntary torque and twitch responses after eccentric damage in humans. **J Physiol**, v. 571, n. Pt 1, p. 243-52, 2006.

PRIOR, B. M. et al. Biarticular and monoarticular muscle activation and injury in human quadriceps muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, n. 1-2, p. 185-90, 2001.

PROSKE, U.; ALLEN, T. J. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 33, n. 2, p. 98-104, 2005.

PROSKE, U.; MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **J Physiol**, v. 537, n. Pt 2, p. 333-45, 2001.

PUTHUCHEARY, Z. A. et al. Qualitative Ultrasound in Acute Critical Illness Muscle Wasting. **Crit Care Med**, v. 43, n. 8, p. 1603-11, 2015.

RADAELLI, R. et al. Time course of strength and echo intensity recovery after resistance exercise in women. **J Strength Cond Res**, v. 26, n. 9, p. 2577-84, 2012.

REEVES, N. D. et al. Differential adaptations to eccentric versus conventional resistance training in older humans. **Exp Physiol**, v. 94, n. 7, p. 825-33, 2009.

REIMERS, C. D. et al. Calf enlargement in neuromuscular diseases: a quantitative ultrasound study in 350 patients and review of the literature. **J Neurol Sci**, v. 143, n. 1-2, p. 46-56, 1996.

SAKA, T. et al. Difference in the magnitude of muscle damage between elbow flexors and knee extensors eccentric exercises. **J Sports Sci Med**, v. 8, n. 1, p. 107-15, 2009.

SEWRIGHT, K. A. et al. Sex differences in response to maximal eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 2, p. 242-51, 2008.

SIKIO, M. et al. Influence of exercise loading on magnetic resonance image texture of thigh soft tissues. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 34, n. 5, p. 370-6, 2014.

SIKIO, M. et al. MR image texture in Parkinson's disease: a longitudinal study. **Acta Radiol**, v. 56, n. 1, p. 97-104, 2015.

SIVARAMAKRISHNA, R. et al. Texture analysis of lesions in breast ultrasound images. **Comput Med Imaging Graph**, v. 26, n. 5, p. 303-7, 2002.

SKURVYDAS, A.; BRAZAITIS, M.; KAMANDULIS, S. Prolonged muscle damage depends on force variability. **Int J Sports Med**, v. 31, n. 2, p. 77-81, 2010.

SORICHTER, S. et al. Release of muscle proteins after downhill running in male and female subjects. **Scand J Med Sci Sports**, v. 11, n. 1, p. 28-32, 2001.

SORICHTER, S. et al. Creatine kinase, myosin heavy chains and magnetic resonance imaging after eccentric exercise. **J Sports Sci**, v. 19, n. 9, p. 687-91, 2001.

STUPKA, N. et al. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 89, n. 6, p. 2325-32, 2000.

THIEBAUD, R. S. et al. Effects of low-intensity concentric and eccentric exercise combined with blood flow restriction on indices of exercise-induced muscle damage. **Interv Med Appl Sci**, v. 5, n. 2, p. 53-9, 2013.

TIIDUS, P. M. Can estrogens diminish exercise induced muscle damage? **Can J Appl Physiol**, v. 20, n. 1, p. 26-38, 1995.

TOTSUKA, M. et al. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. **J Appl Physiol** (1985), v. 93, n. 4, p. 1280-6, 2002.

TOUMI, H.; BEST, T. M. The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury? **Br J Sports Med**, v. 37, n. 4, p. 284-6, 2003.

TOURASSI, G. D. Journey toward computer-aided diagnosis: role of image texture analysis. **Radiology**, v. 213, n. 2, p. 317-20, 1999.

TRIP, J. et al. Muscle ultrasound measurements and functional muscle parameters in non-dystrophic myotonias suggest structural muscle changes. **Neuromuscul Disord**, v. 19, n. 7, p. 462-7, 2009.

TURO, D. et al. Ultrasonic tissue characterization of the upper trapezius muscle in patients with myofascial pain syndrome. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc**, v. 2012, p. 4386-9, 2012.

TURO, D. et al. Ultrasonic characterization of the upper trapezius muscle in patients with chronic neck pain. **Ultrason Imaging**, v. 35, n. 2, p. 173-87, 2013.

UMBEL, J. D. et al. Delayed-onset muscle soreness induced by low-load blood flow-restricted exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 107, n. 6, p. 687-95, 2009.

WANG, J. et al. A computerized MRI biomarker quantification scheme for a canine model of Duchenne muscular dystrophy. **Int J Comput Assist Radiol Surg**, v. 8, n. 5, p. 763-74, 2013.

WARREN, G. L.; FENNESSY, J. M.; MILLARD-STAFFORD, M. L. Strength loss after eccentric contractions is unaffected by creatine supplementation. **J Appl Physiol** (1985), v. 89, n. 2, p. 557-62, 2000.

WARREN, G. L. et al. What mechanisms contribute to the strength loss that occurs during and in the recovery from skeletal muscle injury? **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 32, n. 2, p. 58-64, 2002.

WARREN, G. L. et al. Excitation failure in eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle. **J Physiol**, v. 468, p. 487-99, 1993.

WILLOUGHBY, D. S.; VANENK, C.; TAYLOR, L. Effects of concentric and eccentric contractions on exercise-induced muscle injury, inflammation, and serum IL-6. **J Exerc Physiol**, v. 6, n. 4, p. 8-15, 2003.

WOLF, M. R. et al. Sex differences in creatine kinase after acute heavy resistance exercise on circulating granulocyte estradiol receptors. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 9, p. 3335-40, 2012.

WOOLF, C. J. et al. Nerve growth factor contributes to the generation of inflammatory sensory hypersensitivity. **Neuroscience**, v. 62, n. 2, p. 327-31, 1994.

YANAGISAWA, O. et al. Effect of exercise-induced muscle damage on muscle hardness evaluated by ultrasound real-time tissue elastography. **Springerplus**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2015.

YU, J. G. et al. Re-evaluation of sarcolemma injury and muscle swelling in human skeletal muscles after eccentric exercise. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e62056, 2013.