

Strength Training and the Menstrual Cycle

Efectos del entrenamiento basado en el ciclo menstrual sobre la fuerza muscular, volumen muscular y parámetros de la célula muscular en mujeres con y sin anticonceptivos orales

Dissertation

Eunsook Sung

Ruhr-Universität Bochum - Fakultät für Sportwissenschaft - Mai 2012

INTRODUCCIÓN

En décadas pasadas, ha sido repetidamente verificado que las concentraciones de suero de hormona luteinizante (LH), hormona estimulante del folículo (FSH), estradiol (E2) y progesterona (Prg, P4) fluctúan durante el ciclo menstrual y que el nivel de androstenediona y testosterona alcanza su pico antes de, o en el momento de la ovulación (Longcope, 1986; Van Look y Baird, 1980). La fluctuación de hormonas durante el ciclo menstrual podría influir en la fuerza muscular y en la capacidad de entrenar la fuerza (Friden, Hirschberg y Saartok, 2003; Marsh y Jenkins, 2002).

Recientemente, el uso de anticonceptivos orales (OC) está aumentando. El número de atletas femeninas que usan OC también está aumentando por razones como el control de la natalidad, el manejo de síntomas premenstruales, la dismenorrea, la pérdida de menos sangre menstrual, el riesgo inferior de lesión musculoesquelética y período inconstante del ciclo menstrual, que podrían ofrecer beneficios a las atletas femeninas (Bennell, White y Crossley, 1999; Constantini, Dubnov y Lebrun, 2005; Wojtys, Huston, Boynton, Spindler y Lindenfeld, 2002). Debido a la ingesta de dosis fijas de E2 sintético y P4 en los OC, el E2 y P4 endógenos son suprimidos en mujeres que usan OC.

Puesto que el E2, P4 y otros esteroides sexuales son discutidos de ser factores importantes para la capacidad de fuerza, podría haber influencias diferentes, aún desconocidas, sobre la adaptación del entrenamiento de la fuerza tanto en usuaria sin OC como usuarias con OC. Al conocimiento de los autores, sólo un único estudio investigó la entrenabilidad de la fuerza durante el ciclo menstrual realizado por Reis y cols. (1995). Ellos reportan que el entrenamiento de la fuerza en la fase folicular es más eficaz en la fuerza muscular que el entrenamiento regular. Nuestro estudio piloto (Han y Sung, 1996) investigando la fuerza muscular y los parámetros microscópicos con muestras de biopsias musculares también demostró un pronunciado efecto después del entrenamiento basado en la fase folicular comparado al entrenamiento basado en la fase lútea. Parece haber más adaptación a la fuerza en el músculo esquelético en la fase folicular.

Por lo tanto, el objetivo de esta tesis fue investigar el perfil de las hormonas en la fase folicular y en la fase lútea del ciclo menstrual y los efectos de dos diferentes entrenamientos de fuerza basado en las fases menstruales- el entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular (FT) versus el entrenamiento de la fuerza basado en la fase lútea (LT)- sobre las medidas fisiológicas y microscópicas de la capacidad de fuerza. *Esta tesis sobre el 'Entrenamiento de la Fuerza y Ciclo Menstrual' es una parte de series de estudios sobre la Entrenabilidad y Ciclo Menstrual'. La otra parte estaba en el 'Entrenamiento de la resistencia y Ciclo Menstrual' y se llevó a cabo por el Ms Ahreum Han.*

ESTUDIO 1: EFECTOS DEL ENTRENAMIENTO DE LA FUERZA BASADO EN LA FASE FOLICULAR VERSUS LÚTEA EN MUJERES DESENTRENADAS

ABSTRACT

PURPOSE: Hormonal variations during the menstrual cycle may influence trainability of strength. For this reason, we investigated the effects of follicular phase-based (FT) strength training on muscle strength, muscle volume and microscopic parameters, comparing it to luteal phase-based (LT) strength training.

METHODS: Eumenorrheic women without oral contraception (N = 20) completed strength training on a leg press for three menstrual cycles. They trained one leg mainly in the follicular phase (FP) and the other leg mainly in the luteal phase (LP). Concentrations of 17-beta estradiol (E2), progesterone (P4), total testosterone (T), free testosterone (free T), and DHEA-s were analyzed in blood samples taken during FP and LP. Maximum isometric force

(Fmax), muscle diameter (Mdm), muscle fiber composition (No), fiber diameter (Fdm) and cell nuclei-to-fiber ratio (N/F) were analyzed before and after training.

RESULTS: Concentrations of T and free T were higher in FP compared to LP ($P < 0.05$). The increase in Fmax after FT was higher than after LT (267 N vs. 188 N, $P < 0.025$). FT also showed a higher increase in Mdm than LT (0.57 cm vs. 0.39 cm, $P < 0.025$). Moreover, we found significant increases in Fdm of fiber type II and in N/F only after FT; however, there was no significant difference from LT. With regard to change in fiber composition, no differences were observed between FT and LT.

CONCLUSIONS: FT showed a higher effect on muscle strength, muscle diameter and Fdm of fiber type II than LT. As a result, we recommend that eumenorrheic female athletes without oral contraception base the periodization of their strength training on their menstrual cycle.

1.1. INTRODUCCIÓN

Las mujeres entre las edades de aproximadamente 13 y 50 años experimentan un ritmo circamensual conocido como ciclo menstrual en el que las hormonas ováricas fluctúan previsiblemente durante 23–38 días en promedio (Oosthuyse y Bosch, 2010; Reilly 2000). El estradiol 17-beta (E2) alcanza el máximo antes de la ovulación y durante la fase lútea (FL), mientras la progesterona (P4) alcanza sus valores más altos durante la FL después de la ovulación (Van Look y Baird, 1980). En ambos sexos, los andrógenos son producidos por los órganos reproductivos y las glándulas adrenales. El andrógeno más importante secretado es la testosterona; las glándulas suprarrenales y los ovarios producen muy poca testosterona pero secretan andrógenos más débiles. En particular, la dehidroepiandrosterona (DHEA; y su sulfoconjugado) secretadas por las glándulas adrenales, y la androstenediona secretada por las glándulas adrenales y los ovarios son de importancia fisiológica en las mujeres (Enea, Boisseau, Fargeas-Gluck, Diaz y Dugue, 2011). En suma para el E2 y la P4, los andrógenos fluctúan también durante el ciclo menstrual. Los niveles de androstenediona y testosterona, por ejemplo, alcanzan sus picos antes de, o en el momento de la ovulación (Longcope, 1986).

La fluctuación de hormonas durante el ciclo menstrual puede influir en el rendimiento del ejercicio y la entrenabilidad de la fuerza muscular (Constantini, Dubnov y Lebrun, 2005,; Janse de Jonge, 2003; Lebrun, 1994). Durante los períodos perimenopáusico y postmenopáusico, una disminución llamativa en la fuerza muscular ocurre, que puede invertirse por la terapia de reemplazo de hormonas (HRT), sobre todo para los estrógenos, indicando que los estrógenos y gestágenos son moduladores-demuladores importantes de la fisiología muscular (Barros y Gustafsson, 2011). En realidad, un meta-análisis de datos de pacientes femeninas que reciben HRT confirmó los efectos beneficiosos de los estrógenos sobre la fuerza muscular (Greising, Baltgalvis, Lowe y Warren, 2009). La mayoría de los estudios con animales han demostrado que los roedores hembras suplementados con estrógenos exhiben menos lesión de las miofibras del músculo esquelético e inflamación después de una lesión muscular inducida por ejercicio.

En suma, el estrógeno también puede influir en los procesos de reparación post-daño a través de la activación y proliferación de células satélite (Enns y Tiidus, 2010). Aunque el rol de los andrógenos en la fisiología femenina no ha sido bien establecido, varios recientes ensayos clínicos han indicado que la suplementación de testosterona en dosis fisiológicas en mujeres deficientes de andrógenos, induce mejoras en la masa magra corporal. Estos efectos fisiológicos pueden ser críticos para el rendimiento deportivo. Sin embargo, el efecto de suplementación de testosterona en mujeres con concentraciones de andrógenos en suero dentro del intervalo de la referencia relacionado con la salud, no ha sido estudiado (Enea, Boisseau, Fargeas-Bluck, Diaz y Dugue, 2011).

Los mecanismos potenciales que subyacen a la acción del estrógeno permanecen inciertos. Entre otros, el hallazgo de 3 tipos de receptores del estrógeno (ERs) ha llevado al descubrimiento de que el estrógeno puede controlar la regulación de varios genes en la misma dirección y 'objetivos' moleculares (Enns y Tiidus, 2010; Lowe, Baltgalvis y Greising, 2010). Un reciente estudio que compara las mujeres postmenopáusicas con o sin uso de HRT, reportó que esas mujeres que usan HRT tenían una sobre-regulación significativamente mayor de la expresión de los genes pro-anabólicos tanto en reposo como después del ejercicio excéntrico (Dieli-Conwright, Spektor, Rice, Sattler y Schroeder, 2009). Es más, se ha postulado recientemente que el efecto beneficioso de los estrógenos sobre la fuerza muscular se cumple mejorando la calidad intrínseca del músculo esquelético, con lo cual las fibras son capaces de generar fuerza, es decir, miosina vinculada fuertemente a la actina durante la contracción (Lowe, Baltgalvis y Greising, 2010).

Las acciones biológicas de los andrógenos son principalmente mediadas por el receptor del andrógeno (AR). Los complejos de AR actúan recíprocamente con varios factores (por ejemplo co-activadores o co-

represores) para modular la transcripción de los genes 'objetivo' de los andrógenos vía vinculación a las secuencias específicas de ADN. Los andrógenos también pueden regular la actividad celular vía un mecanismo no-genómico más rápido que involucra receptores de la membrana y/o receptores citosólicos. Estos receptores de esteroides pueden activar las moléculas de señalización intracelulares, como la proteína quinasa activada por mitógenos 1 (MAPK1), por mecanismos independientes de la transcripción (Enea, Boisseau, Fargeas-Bluck, Diaz y Dugue, 2011).

Sólo muy pocos datos que existen sobre los efectos fisiológicos de la P4 sobre la célula del músculo esquelético femenino. Los recientes estudios han encontrado que la oxidación de aminoácidos y la degradación de proteínas era mayor de forma consistente en la fase lútea (FL) comparado con la fase folicular (FF) en reposo y durante el ejercicio. Parece ser que la P4 es responsable del hallazgo consistente del mayor catabolismo de proteínas en la FL, mientras los estrógenos pueden reducir el catabolismo de proteínas (Oosthuyse & Bosch, 2010).

En conjunto, los datos existentes indican un estado más anabólico en la FF y en la fase peri-ovulatoria del ciclo menstrual comparado a un estado más catabólico en la FL. El único estudio de intervención de entrenamiento de la fuerza disponible que usa un entorno hormonal diferente de las FF y FL como moduladoras-demoduladoras de la adaptabilidad al entrenamiento, analizó los posibles efectos divergentes de los estímulos de entrenamiento en la FF o la FL sobre la cantidad de ganancia de fuerza en mujeres sanas (Reis, Frick y Schmidtbleicher, 1995). Los autores describieron una entrenabilidad ligeramente superior de la fuerza isocinética de los músculos de extensores de la rodilla de una pierna en siete mujeres jóvenes sanas cuando la pierna respectiva era principalmente entrenada durante cuatro semanas en la FF (cada dos días en la FF y una vez por semana durante el reposo del ciclo) comparado a una periodización del entrenamiento sin considerar ninguna de las fases del ciclo (cada tercer día a lo largo del ciclo entero). Como el número de mujeres era muy pequeño, y una de las mujeres tenía una insuficiencia de la fase lútea adicionalmente, el período de entrenamiento específico en una pierna fue corto (4 semanas), y ninguna muestra de biopsias musculares fue tomada, esos resultados son muy preliminares. A pesar de la amplia variabilidad inter-individual, sin embargo, todas las mujeres de este estudio mostraron adaptaciones superiores de la fuerza durante el entrenamiento basado en la fase folicular.

1.2. OBJETIVOS

El objetivo de este estudio fue investigar más los efectos de un entrenamiento de la fuerza de larga duración basado en la fase folicular (FT, folicular-training) sobre parámetros macroscópicos y microscópicos de las adaptaciones del músculo esquelético comparado al entrenamiento de la fuerza basado en la fase lútea (LT, luteal-training) en un estudio de intervención 'in vivo' de entrenamiento controlado en mujeres jóvenes sanas.

1.3. MÉTODOS

1.3.1. Sujetos

Veinte mujeres eumenorreicas sanas, con una media (\pm SD) de edad de 25.9 ± 4.5 años, altura de 164.2 ± 5.5 cm y peso corporal de 60.6 ± 7.8 kg, se ofrecieron a participar en este estudio. Las mujeres eran desentrenadas o moderadamente entrenadas y ellas no estaban realizando entrenamiento de la fuerza actualmente. Es más, ellas no habían estado tomando anticonceptivos orales o cualquier otro tratamiento hormonal durante el año anterior a la participación en este estudio y no habían tenido ninguna historia de cualquier desorden endócrino. Se reclutaron sólo mujeres que reportaban un ciclo menstrual regular.

Antes del estudio, las participantes estaban informadas sobre el propósito, procedimientos y riesgos del estudio y, firmaron su consentimiento informado cada participante. La aprobación para el protocolo experimental se obtuvo del Comité de Ética de Universidad Ruhr de Bochum, Alemania.

1.3.2. Diseño experimental

Las participantes realizaron un programa de entrenamiento de la fuerza de los grupos musculares extensores de las rodillas de la pierna derecha y de la izquierda, separadamente para cada pierna, en una máquina de press de piernas en un período de tres ciclos menstruales cada uno. Las mujeres fueron divididas al azar en dos grupos según la fuerza muscular de una pierna para reducir efectos de preferencia de la pierna: un grupo (N = 10) principalmente entrenó la pierna izquierda durante la fase folicular (FT), mientras la pierna derecha fue principalmente entrenada durante la fase lútea (LT). El otro grupo (N = 10) principalmente entrenó la pierna derecha durante la FF (FT), mientras que la pierna izquierda fue entrenada durante la FL (LT). Para un mayor análisis, tanto las piernas entrenadas en la fase folicular como

las piernas entrenadas en la fase lútea, fueron tomadas juntas en el grupo de la pierna entrenada en FT o LT, respectivamente.

1.3.3. Programa del estudio

La extensión del estudio para cada participante era en base a la duración individual del ciclo menstrual. El estudio entero tomó 5 ciclos menstruales (2 ciclos de control seguidos por 3 ciclos de entrenamiento). Durante el período del estudio global, la integridad del ciclo individual fue analizada por mediciones diarias de la temperatura basal corporal.

En el primer ciclo de control, la integridad del ciclo menstrual individual se analizó por las mediciones de la temperatura basal corporal para las mujeres sin OC. En el segundo ciclo de control, muestras de sangre para el análisis de hormonas fueron tomadas de una vena cubital en el día 11 (FF tardía) y en el día 25 (FL tardía) del ciclo menstrual. Adicionalmente, la fuerza isométrica máxima de los músculos de la extensión de rodillas ($F_{m\acute{a}x}$) fue determinado en los mismos días. Es más, el diámetro (Mdm) de tres únicos músculos del músculo cuádriceps fue medido en el día 25, y se tomaron las biopsias musculares del músculo vasto externo en el día 27 (FL tardía) del segundo ciclo de control.

Durante los tres ciclos de entrenamiento, la $F_{m\acute{a}x}$ fue repetidamente medida durante cada ciclo en el día 25 en la FL. Durante el tercer ciclo de entrenamiento, se tomaron las muestras de sangre venosa de nuevo en los días 11 y 25, el Mdm fue determinado en el día 25, y se tomaron las biopsias musculares en el día 27.

1.3.3.1. Monitoreo de la integridad del ciclo menstrual

La fluctuación de la temperatura basal corporal fue usada para identificar las fases del ciclo menstrual incluyendo la ovulación para determinar individualmente el entrenamiento exacto y el programa de evaluación. Se instruyó a las mujeres para medir su temperatura basal corporal oralmente con un termómetro digital durante un minuto todas las mañanas a lo largo del período del estudio entero en el mismo momento antes de levantarse de la cama. La aparición de la ovulación fue definida cuando un aumento en la temperatura basal corporal de al menos 0.3 °C era medida (Kelly, 2006; Owen, 1975). Una de las mujeres era excluida del estudio si ningún aumento significativo en la temperatura basal corporal, es decir, ninguna ovulación, se descubría durante cualquiera de los 5 ciclos menstruales.

1.3.3.2. Programa de entrenamiento de la fuerza

Las mujeres completaron 3 ciclos de un programa de entrenamiento de la fuerza de una pierna con cantidades de entrenamiento diferentes de la pierna derecha e izquierda en la FF y en la FL, respectivamente, mientras el número total de sesiones de entrenamiento con una pierna en un ciclo menstrual se mantenía igual en la FF y en la FL. En principio, el entrenamiento se realizó 4 veces por semana: 3 veces por semana (típicamente en lunes, miércoles y viernes) bajo supervisión, en una máquina de press de piernas y una vez por semana (típicamente, el sábado) en sus casas con el propio peso corporal de la participante (sentadilla a una pierna). En los días en los cuales ambas piernas tenían que ser entrenadas separadamente, las participantes realizaban ejercicios para ambas piernas uno después del otro en un orden aleatorio. En el press de piernas, las participantes realizaron un entrenamiento de la fuerza submáximo (aproximadamente 80% de la fuerza máxima de la pierna respectiva) con 3 series de 8–12 repeticiones hasta el agotamiento y con 3–5 min de recuperación entre las series. El peso respectivo en la máquina del press de piernas era aumentado 10 kg en la siguiente sesión de entrenamiento si la participante podía realizar más de 12 repeticiones durante la última de las 3 series. La carga de cada sesión individual de entrenamiento de una pierna en la máquina de press de piernas fue documentada. En casa, las mujeres realizaron 3 series de 15–20 de sentadillas a una pierna con 3–5 min de recuperación entre las series.

Una pierna era principalmente entrenada en la FF (FT) y la otra pierna principalmente en la FL (LT). En el FT, las mujeres se entrenaron 8 veces en la FF y alrededor de la ovulación (típicamente entre el día 1 y día 14) y simplemente 2 veces en la FL para el FT durante un “típico” ciclo menstrual con una duración total de 28 días. En el LT, ellas se entrenaron 8 veces en la FL (típicamente entre el día 15 y día 28) y simplemente 2 veces en la FF.

Cuando el ciclo individual duraba menos de 28 días, el número de sesiones de entrenamiento era adaptado, por consiguiente, de tal manera que el número total de sesiones era el mismo para ambas piernas. Cuando el ciclo duraba mucho más tiempo que 28 días y el número de sesiones de entrenamiento con una pierna en el LT alcanzaba el número en el FT (por ejemplo típicamente $N = 10$), las mujeres continuaban su entrenamiento de la fuerza de una pierna con ambas piernas para una o dos sesiones para evitar las diferencias en el número total de sesiones de entrenamiento entre el FT y el LT en un único ciclo menstrual.

1.3.3.3. Hormone analysis

Venous blood was centrifuged after blood clotting, and the serum was kept frozen at -80°C until analysis. Each sample was analyzed for E2, P4, total testosterone (T) and free T, and dehydrotestosterone-sulfate (DHEA-s). E2, P4, T, and DHEA-s were assayed by immunochemistry (Elecsys[®] 1010 System, Roche Diagnostics GmbH), and free T was assayed by radioimmunoassay (Multi-Crystal LB 2111 gamma counter, Berthold Technologies GmbH & Co. KG).

1.3.3.4. Measurement of isometric muscle strength

Maximum isometric knee extension muscle strength (F_{\max}) of the right and left leg was measured separately once in late FP (day 11) and once in the late LP (day 25) in the second control cycle and in each training cycle. F_{\max} was determined on a leg press machine (Medizinische Sequenzgeräte, Compass, Germany) using a combined force and load cell (GSV-2ASD, ME-Messsysteme GmbH, Hennigsdorf, Germany). The intraclass correlation coefficient of repeated measurements (ICC) was 0.998, indicating a high internal consistency (reliability) of the system. Prior to testing the subjects underwent a 10-min warm-up period of aerobic, low-resistance ergometer cycling and were then familiarized with the test procedure and the testing position (knee angle: 90° , ankle angle: 90°) on the leg press. Each measurement was repeated three times with 30 s rest between the tests. The best result was selected for data analysis.

Due to time schedule issues, for subjects were not able to perform the maximum isometric strength tests during the training cycles, but were able to continue their strength training program without any reduction in training load. For the determination of the increase in F_{\max} over time, strength values of the different tests during the training cycles were compared with the mean of both measurements in the control cycle.

1.3.3.5. Determination of muscle diameter

Mdm of rectus femoris, vastus intermedius and vastus lateralis muscle of the right and left leg was measured by real-time ultrasound imaging prior to and after training at day 25 in LP of the second control cycle and the third training cycle analyzing the distances between the outer and inner muscle fasciae. Previous studies showed that muscle cross-sectional area might reliably be measured using real-time ultrasound imaging (Martinson & Stokes, 1991). We used a Vivid I CE 0344 ultrasound device (GE Medical System, Solingen, Germany) with a parallel scanner (8L-RS, 4.0–13.3 MHz), which provides 10 cm penetration depth of the sound wave and enables high quality analysis of deeper lying muscles. Subjects prevented long-lasting static muscular tension for at least 30 minutes prior to the measurement in order to avoid alterations in Mdm (Reimer, 2004). All subjects lay supine with outstretched legs on an examination table without any pad, cushion or pillow underneath. Ultrasound images were obtained exactly half-way between the spina iliaca anterior superior and the upper margin of the patella. The transducer was placed gently on the skin to avoid compression and distortion of the underlying tissue (Reimer, 2004). The transducer was held at angles of 90° towards the skin and towards the longitudinal direction of the muscles to ensure a clear cross-sectional image. The images were frozen on the screen to measure muscle diameter. The position of the transducer was recorded for each muscle to reproduce the exact position after training intervention. The mean of three measurements of each of the three analyzed muscles was taken for both legs and the sum of the 3 Mdm was calculated for both sides of the body. Reliability analysis was performed for Mdm determination. The obtained ICC was 0.997, indicating a high reliability of the ultrasound imaging of Mdm used in this study.

Mdm of rectus femoris, vastus intermedius and vastus lateralis muscle of the right and left leg was measured by real-time ultrasound imaging prior to and after training at day 25 in LP of the 2nd control cycle and the 3rd training cycle analysing the distances between the outer and inner muscle fasciae. Previous studies showed that muscle cross sectional area might reliably be measured using real-time ultrasound imaging (Martinson et al. 1991). We used a Vivid I CE 0344 ultrasound device (GE Medical System, Solingen, Germany) with a parallel scanner (8L-RS, 4.0 – 13.3 MHz), which provides 10 cm penetration depth of the sound wave and enables high quality analysis of deeper lying muscles. Subjects prevented long-lasting static muscular tension for at least 30 minutes prior to the measurement in order to avoid alterations in Mdm (Reimer, 2004). All subjects lay supine on the back with stretched legs on an examination couch without any pad, cushion or pillow underneath. Ultrasound images were obtained exactly half-way between the spina iliaca anterior superior and the upper margin of the patella. The transducer was placed gently on the skin to avoid compression and distortion of the underlying tissue (Reimer, 2004). The transducer was held at angles of 90° towards the skin and towards the longitudinal direction of the muscles to ensure a clear cross-sectional image. The images were frozen on the screen to measure muscle diameter. The position of the transducer was recorded for each muscle to reproduce the exact position after training intervention. The mean of 3 measurements of each of the 3 analysed muscles was taken at both legs and the sum of the 3 Mdm was calculated for both sides of the body. Reliability analysis was performed for Mdm determination. The obtained ICC was 0.997, indicating a high reliability of the ultrasound imaging of Mdm used in this study.

Nine subjects volunteered to participate in muscle needle biopsies taken on day 27 of the second control cycle and of the third training cycle. After local anesthesia with 1% lidocaine and incision of the skin and fascia, percutaneous muscle biopsy samples (70–300 mg) were obtained from the vastus lateralis muscle of both the right and left leg by a standard needle biopsy technique (Bergström, 1962). Directly after sampling, the tissue was removed from the needle, mounted cross-sectionally in a Tissue-TEK[®] embedding medium, frozen in isopentane, put into an aluminum container, cooled further with liquid nitrogen, and stored at -80°C for subsequent analysis.

Thin sections (10 μm) of the frozen tissue were cut in a cryostat at -20°C and mounted on cover glasses for further staining. Histochemical analysis for the determination of muscle fiber types (types I and II) was performed with adenosine-triphosphatase (ATPase) staining procedures using an alkaline pre-incubation at pH 4.3 and 9.6 (Brooke et al. 1970). Moreover, muscle cell nuclei were stained with hematoxylin and eosin for nuclei-to-fiber ratio analysis (Yan, 2000). Fiber type counting and measurements were performed on photographs by two investigators to standardize the procedure. All fibers of one sample were counted and measured twice and the average of the two counts was taken for statistical analysis. If the variation between the two counts or measurements was greater than 1%, fibers were counted a third time and the average of the two counts with the smaller variation was used for analysis. For muscle fiber type classification, an average of 288 fibers from each sample was counted, the fiber type (Type I or Type II) identified, and the percentage of each type was calculated. For the determination of muscle fiber diameters (Fdm), an average of 62 fibers (range 20–119) from each fiber type was selected. Cellular diameters were determined using cell life science documentation software (Olympus Life and Material Science Europe GmbH, Germany).

1.3.4. Statistical Analysis

Data are presented as mean values with SD. Normality of distributions was proved by the Kolmogorov-Smirnov test. A one-Tailed paired t-test was used to evaluate differences in training workload, Fmax, Mdm, fiber composition, fiber diameter and muscle nuclei-to-fiber-ratio between values before (pre) and after the training intervention (post) (see below: a, b) and between FT and LT (see below: c), respectively. In all cases, P values < 0.025 were taken to indicate statistical significance. Statistics were tested with a hierarchical procedure: a) FTpost better than FTpre; b) LTpost better than LTpre; c) if a) significant: ΔFT better than ΔLT; if b) significant: ΔLT better than ΔFT (ΔFT: absolute difference between FTpre and FTpost, ΔLT: absolute difference between LTpre and LTpost). A two-Tailed paired t-test was used to compare hormone concentration between FP and LP and between prior to and after training and to compare training units between FT and LT for three training cycles. Significance was defined as P < 0.05. The intraclass correlation coefficient of repeated measurements (ICC) (McGraw et al. 1996) was determined to evaluate reliability of the determination of Fmax and Mdm.

1.4. RESULTADOS

1.4.1. Integridad del ciclo menstrual

La temperatura basal corporal mostró un aumento significativo durante la FL comparado a la FF en todos los 3 ciclos de entrenamiento de las 20 mujeres incluidas en el estudio.

1.4.2. Número de sesiones de entrenamiento

El número total de sesiones de entrenamiento con una pierna fue de aproximadamente. 28 sesiones por pierna y no fue diferente entre el FT y el LT (FT: N = 28.6±1.7; LT: N = 28.1±1.9; P > 0.05).

1.4.3. Carga de entrenamiento

La carga de entrenamiento promedia no difirió entre el FT y LT en el comienzo del período de entrenamiento (FT: 69.4±12.4 kg; LT: 68.1±10.5 kg, P > 0.05). La carga de entrenamiento fue continuamente ajustada según el aumento en la fuerza muscular del comienzo del período de entrenamiento hasta la última sesión de entrenamiento en el FT y en el LT. Debido a un aumento superior en la fuerza muscular, el aumento en la carga de entrenamiento fue ligeramente superior al final del FT comparado a LT (FT: 102.5±11.8 kg; LT: 97.5±13.4 kg, P < 0.05), y la carga de entrenamiento promedio también fue ligeramente superior durante el FT comparado a LT (FT: 88.1±9.8 kg; LT: 84.7±10.2 kg, P < 0.05).

1.4.4. Las concentraciones hormonales

No se encontraron ninguna diferencia significativa en las concentraciones en suero de E2 y DHEA-s entre los día 11 y día 25 del ciclo menstrual antes del entrenamiento, mientras que la P4 fue significativamente superior, y la T y la T libre estaban significativamente bajas en el día 25 comparado al día 11 (Tabla 1-1). Después del período de entrenamiento de la fuerza, el E2 y la P4 estaban significativamente superiores en el día 25 comparado al día 11, mientras las diferencias en la T y la T libre entre ambos días no fueron tan perceptibles, y la DHEA-s permaneció igual en ambos días. Tres meses de entrenamiento de la fuerza indujeron una disminución significativa en las concentraciones en suero de T y T libre en el día 11 sin ningún efecto en el día 25 o en las otras hormonas. El tipo de entrenamiento (FT vs LT) no tuvo efecto algún diferente en cualquiera de las hormonas (datos no mostrados).

Tabla 1-1: Las concentraciones en suero de E2, P4, DHEA-s, T y T libre en la fase folicular (FF, día 11) y en la fase lútea (FL, día 25) antes y después del entrenamiento de la fuerza (N = 20).

	Pre-Entrenamiento		Post-Entrenamiento	
	Fase Folicular (FF)	Fase Lútea (FL)	Fase Folicular (FF)	Fase Lútea (FL)
E2 (pg/ml)	124±104	114±71	92±70	142±41 †
P4 (ng/ml)	0.82±0.53	5.66±3.93 †	0.78±0.50	8.36±3.33†
DHEA-s (ug/ml)	2.65±1.13	2.52±0.83	2.55±0.73	2.58±0.73
T (ng/ml)	0.44±0.20	0.35±0.18 t	0.37±0.14 *	0.37±0.15
Free T (pg/ml)	2.57±0.86	1.94±0.62 t	2.14±0.62 *	2.06±0.60

E2: estradiol, P4: progesterona, T: testosterona, pre/post-entrenamiento: antes/después de 3 meses de entrenamiento de la fuerza.

*: P <0.05 post-entrenamiento vs pre-entrenamiento, †: P <0.05 FL vs FF.

1.4.5. La fuerza muscular isométrica máxima

La F_{máx} de los músculos de la extensión de rodillas aumentó significativamente (P <0.025) después de ambos tipos de periodización del entrenamiento comparado al nivel de pre-entrenamiento (Figura 1-1). El aumento absoluto en la F_{máx} fue significativamente menor después del LT (ΔLT: 188±98 N) comparado a FT (ΔFT: 267±101 N) (P <0.025).

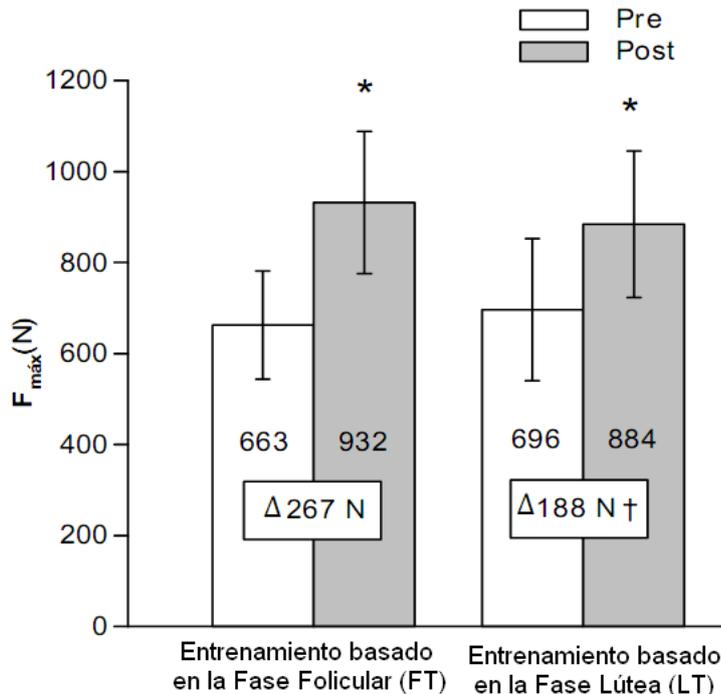


FIGURA 1-1: La F_{máx} antes y después de 3 meses de entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular (FT) o basado en la fase lútea (LT) (N = 20); Pre: antes del entrenamiento, Post: después del entrenamiento, *: P <0.025 post-entrenamiento vs pre-entrenamiento, †: P <0.025 FT vs LT.

La F_{máx} aumentó progresivamente durante el FT y LT comparado a la media de ambas mediciones en el ciclo de control, aparte del primer test de fuerza en el LT en el que el aumento ligero en la F_{máx} no alcanzó un nivel de significación (Figura 1-2). De la primera medición en el primer ciclo de entrenamiento, el aumento en el FT fue significativamente mayor comparado al LT y permaneció elevado en la misma magnitud a lo largo del período de entrenamiento restante.

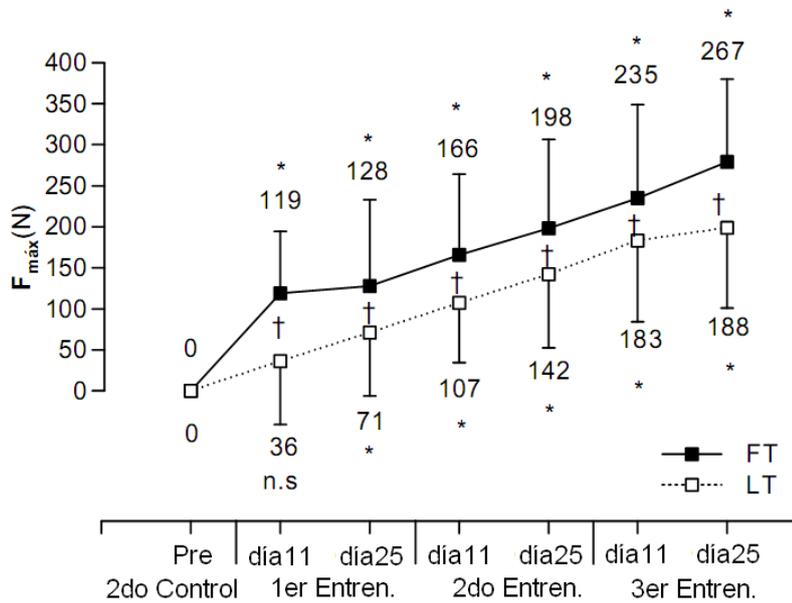


FIGURA 1-2: Aumento en la F_{máx} comparado al valor de pre-entrenamiento durante el entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular (FT) o basado en la fase lútea (LT) (NO = 18). Pre: antes del entrenamiento, Control: ciclo de control, Entren.: entrenamiento, n.s.: no significativo; *: P <0.025 comparado a pre-entrenamiento, †: P <0.025 FT vs LT.

1.4.6. Diámetro del músculo

La suma del Mdm de los tres músculos aumentó significativamente (P <0.025) después de ambos tipos de periodización del entrenamientos comparado al nivel de pre-entrenamiento (Figura 1-3). El aumento absoluto en el Mdm fue significativamente menor después del LT (Δ LT: 0.39±0.38 cm) comparado al FT (Δ FT: 0.57±0.54 cm) (P <0.025, Figura 1-3).

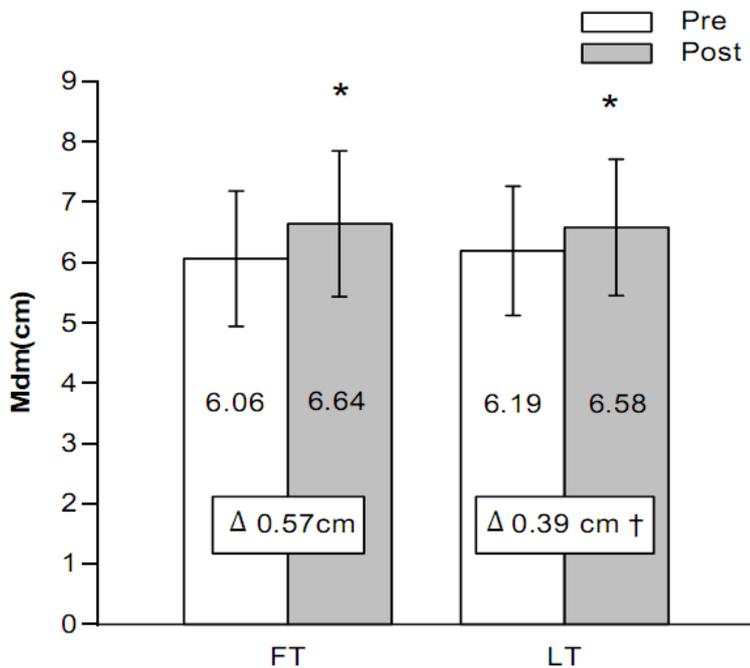


FIGURA 1-3: La suma de los diámetros de los músculos recto femoral, crural anterior y vasto externo, antes y después de 3 meses de entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular (FF) o en la fase lútea (FL) (N = 20); Pre: antes del entrenamiento, Post: después del entrenamiento, *: P <0.025 post-entrenamiento vs pre-entrenamiento, †: P <0.025 FT vs LT.

1.4.7. Las características de la fibra muscular

El daño por el enfriamiento, creado por la congelación-descongelación durante la preparación, es un dispositivo principal que afecta el análisis morfológico en este tipo de estudios. Aunque las fibras menos dañadas en regiones bien conservadas fueron seleccionadas, hubo aún evidencia de un daño menor. El volumen de los dispositivos varió entre los individuos, pero la calidad de la muestra pre- y post-entrenamiento fue similar para que los resultados no fueran afectados. La distribución del tipo de fibra permaneció casi igual después de ambos tipos de periodización del entrenamiento de la fuerza con aproximadamente el 40% de fibras de Tipo I y 60% de fibras de Tipo II (Tabla 1-2). El Fdm aumentó significativamente después del FT en las fibras de Tipo II (P <0.025) y tendió a aumentar después del LT en

las fibras de Tipo II ($P = 0.045$), pero mantuvo igual en las fibras de Tipo I después del FT y del LT. La proporción de núcleos-por-fibra aumentó significativamente después del FT ($P < 0.025$) y permaneció inalterada después del LT.

TABLA 1-2: La distribución del tipo de fibra muscular (No), diámetro de la fibra (Fdm) y proporción de núcleos-por-fibra (N/F) antes y después de 3 meses de entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular o en la fase lútea ($N = 9$).

	Pre-Entrenamiento				Post-Entrenamiento			
	Entrenamiento basado en Fase Folicular		Entrenamiento basado en Fase Lútea		Entrenamiento basado en Fase Folicular		Entrenamiento basado en Fase Lútea	
	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
No (%)	40.9±9.1	59.1±9.1	41.8±13.6	58.2±13.6	40.3±11.1	59.7±11.1	40.5±13.0	59.5±13.0
Fdm (µm)	54.5±5.1	45.8±5.8	54.0±7.4	46.8±7.9	56.7±7.1	52.5±7.0 *	57.0±3.4	51.9±7.3 #
N/F	2.9±0.4		3.4±0.8		3.8±11 *		3.4±0.7	

*: $P < 0.025$ post-entrenamiento vs pre-entrenamiento, #: $P = 0.045$ post-entrenamiento vs pre-entrenamiento.

1.5. DISCUSIÓN

La plasticidad de músculo esquelético se refleja en su capacidad para adaptarse a las alteradas demandas metabólicas y funcionales. El entrenamiento de la fuerza produce un aumento en la fuerza muscular acompañado por un incremento en la adaptación neural y tamaño del músculo. Este mayor tamaño muscular es debido a la hipertrofia de la fibra muscular. Aunque la hipertrofia ocurre en todos los tipos de fibras, la de las fibras de Tipo II es la más pronunciada. El entrenamiento de la fuerza no causa la conversión de tipo I lenta a la fibra tipo II rápida. Las mujeres tienen la misma capacidad fisiológica como los varones de tolerar y adaptarse al entrenamiento de la fuerza pesado (Wang, Hikida, Staron y Simoneau, 1993). Sin embargo, sólo muy pocos estudios se preocupan por los efectos del entorno hormonal a lo largo del ciclo menstrual y la adaptación al entrenamiento de la fuerza en las mujeres.

Este estudio es el segundo de uno para dirigir la planificación del entrenamiento de la fuerza con respecto a las fluctuaciones hormonales durante el ciclo menstrual, y el primero en incluir el análisis de parámetros de la célula muscular. En contraste al primer estudio de Reis y cols. (Reis y cols., 1995), aquí se analizaron los efectos de un período de entrenamiento de larga duración (3 ciclos menstruales de una pierna de entrenamiento basado en la fase folicular vs una pierna entrenada en base a la fase lútea, comparado a dos ciclos menstruales con un entrenamiento de una pierna con un cambio en el tipo de entrenamiento respectivo para cada pierna después del primer ciclo). Es más, claramente se varió la periodización del entrenamiento de la fuerza entre la FF y la FL, mientras Reis y cols. (Reis y cols., 1995) se enfocaron en una periodización entre un entrenamiento basado en la fase folicular versus un "entrenamiento regular" con cargas de entrenamiento cada tercer día a lo largo del ciclo menstrual entero.

El hallazgo más importante de este estudio es un aumento leve pero significativamente mayor en la $F_{máx}$ después de tres meses de FT comparado a tres meses de LT (Figura 1-1). Esto está en línea con el hallazgo principal de Reis y cols. (Reis y cols., 1995), quienes describieron un aumento en % superior en la $F_{máx}$ después del segundo ciclo de entrenamientos pedalean en la pierna entrenada en la fase folicular comparada a la pierna regularmente entrenada (33% de aumento frente al 13% de aumento en la $F_{máx}$). En contraste a Reis y cols. (Reis y cols., 1995), sin embargo, la diferencia entre los aumentos inducidos por FT y por LT en la $F_{máx}$ en este estudio, ya habían ocurrido después del primer ciclo menstrual y luego permanecieron casi constantes a lo largo de los siguientes dos ciclos de entrenamiento (Figura 1-2).

El segundo hallazgo importante de este estudio un aumento leve pero significativamente mayor en el diámetro de los músculos recto femoral, crural anterior y vasto externo después del FT comparado al LT, lo cual está en línea con el aumento mayor en la fuerza isométrica máxima en el FT. Reis y cols. (Reis y cols., 1995) midieron el área de corte transversal muscular (CSA) antes y después del entrenamiento de la fuerza

con 2 regímenes diferentes de periodización del entrenamiento con ciclo menstrual activado. Mientras el CSA aumentó ligeramente después de ambos tipos de entrenamiento, los autores no incluyeron ningún dato en la significancia en su estudio. El aumento superior en el diámetro muscular después de 3 meses de entrenamiento basado en la fase folicular en este estudio está asociado con una proporción superior entre la síntesis de proteínas y la degradación de proteínas durante o después de cada sesión del entrenamiento de la fuerza en la fase folicular comparada a la fase lútea.

El aumento más pronunciado en la fuerza muscular y en el diámetro muscular en el FT comparado al LT podría ser explicado, al menos en parte, por las concentraciones superiores de T y T libre durante la FF comparado a la FL en el pre-entrenamiento y probablemente, al menos también, en el período inicial del entrenamiento en este estudio (Tabla 1-1). Puesto que la secreción de andrógenos desde los ovarios está bajo el control de la hormona luteinizante (LH), al menos en parte, no es inesperado que la secreción de andrógenos ováricos varíen a través del ciclo: los niveles sanguíneos de T se han descrito como más bajos en la fase folicular temprana y luego se eleva a sus niveles más altos justo antes de, o en el momento de la ovulación y luego gradualmente se caen durante la fase lútea (Alexander, Sherwin, Bancroft Davidson, 1990; Longcope, 1986). En las mujeres, la T en suero, sin embargo, puede originarse también desde la glándula suprarrenal o de la conversión periférica (Enea, Boisseau, Fargeas-Gluck, Diaz y Dugue, 2011). Estudios previos han demostrado que el ritmo de producción de T desde las glándulas adrenales es de aproximadamente 50 µg/día, con los ovarios secretando unos 50 µg/día adicionales, y la fuente principal de T es la conversión periférica de androstenediona (alrededor de 100 µg/día) (Longcope, 1986).

Esta relación de mezcla y producción puede explicar por qué algunos estudios no encontraron ningún cambio en la concentración de T en suero a lo largo del ciclo menstrual (Jabbour, Kelly, Fraser y Critchley, 2006), y por qué la T y la T libre no eran tan diferentes entre la FF y la FL después de 3 meses de entrenamiento de la fuerza en este estudio, o incluso disminuyeron con el tiempo en la FF después del entrenamiento de la fuerza comparado a la FF antes del entrenamiento de la fuerza. La DHEA-s, el principal metabolito de las glándulas suprarrenales pero no de los ovarios, permaneció completamente inalterada por las fases del ciclo y a lo largo del período de intervención del entrenamiento en esta investigación. En una muy reciente revisión de cambios inducidos por el ejercicio físico sobre la concentración de andrógenos circulantes en mujeres, los autores concluyeron que los estudios con respecto al efecto del ejercicio de fuerza sobre los andrógenos circulantes en las mujeres (Enea, Boisseau, Fargeas-Gluck, Diaz y Dugue, 2011) aún son contradictorios.

Las acciones biológicas de los andrógenos una vez dentro de la célula son mediadas por el receptor del andrógeno (AR). Los complejos del AR actúan recíprocamente con varios factores (por ejemplo, co-activadores o co-supresores) para modular la transcripción de los genes 'objetivo' del andrógeno vía vinculación a las secuencias de ADN específicas y producir la síntesis de proteínas como un proceso de adaptación a los estímulos del entrenamiento. Los andrógenos también pueden regular la actividad celular vía un mecanismo más rápido no-genómico que involucra receptores de la membrana y/o los receptores citosólicos. Estos receptores de esteroides pueden activar las moléculas de la señalización intracelular, como la proteína quinasa 1 activada por mitógenos (MAPK1), por mecanismos independientes de la transcripción (Enea, Boisseau, Fargeas-Gluck, Diaz y Dugue, 2011).

Aparte de los efectos de los andrógenos, el aumento más pronunciado en la fuerza muscular y en el diámetro muscular en FT comparado a LT puede ser explicado también por las alteraciones de las hormonas ováricas a lo largo del ciclo menstrual. Se ha demostrado hace mucho tiempo que las hormonas ováricas fluctúan durante el ciclo menstrual (Oosthuyse y Bosch, 2010, Reilly, 2000). El E2 alcanza el máximo antes de la ovulación y durante la FL, mientras que la P4 alcanza sus valores más altos durante la FL después de la ovulación (Van Look y Baird, 1980). Las hormonas ováricas se sabe que tienen una influencia notable en reposo sobre el metabolismo de las proteínas y durante el ejercicio, lo cual muchas veces es visto como un catabolismo mayor en la FL. Parece ser que la progesterona es responsable del hallazgo consistente del mayor catabolismo de las proteínas en la FL, mientras el estrógeno puede reducir el catabolismo de las proteínas (Oosthuyse y Bosch, 2010).

Para verificar para la fluctuación de las hormonas ováricas en este estudio, se analizaron el E2 y la P4 en el día 11 (pre-ovulación) y en el día 25 (fase lútea). En estos días, ambas hormonas mostraron variaciones interindividuales altas. La P4 claramente aumentó en todas las mujeres en la fase lútea, indicando que la ovulación había ocurrido en todas ellas y que el período de entrenamiento no había inducido ninguna alteración severa en la integridad del ciclo menstrual como no-ovulación o insuficiencia de la fase lútea. Las

concentraciones similares en el E2 en los días 11 y 25 antes del período de entrenamiento es probablemente debido al hecho de que el día 11 representa una fase anterior a la ovulación, cuando el E2 ya está elevado comparado a la FF temprana y media (Van Lock y Baird, 1980). El aumento en el E2 después del LT puede ser debido al ejercicio - y cambios inducidos por el entrenamiento sobre la fisiología del ciclo menstrual, incluyendo las alteraciones en la regulación de la retroalimentación de las hormonas esteroides. Recientemente, el estradiol y la progesterona en suero fueron demostrados que aumentan después de un único turno de ejercicio con pesas en mujeres jóvenes sanas en la fase medio-lútea, pero no en la fase folicular temprana, indicando que las respuestas de las hormonas anabólicas al ejercicio de fuerza agudo son diferentes entre los estados del ciclo menstrual en las mujeres jóvenes (Nakamura, Aizawa, Imai, Kono y Mesaki, 2011).

Los autores concluyeron que el estado del ciclo menstrual puede influir en la adaptación del músculo esquelético inducida por entrenamiento, y que sería posible para los programas de entrenamiento para las mujeres eumenorreicas estar en sintonía con el ciclo menstrual para maximizar los efectos anabólicos. El presente estudio indica que los efectos agudos de las hormonas anabólicas sobre la adaptación del músculo esquelético podrían interferir al principio de un período de entrenamiento de la fuerza con los efectos más crónicos del estímulo repetitivo del entrenamiento sobre la regulación de la retroalimentación de las hormonas del eje hipotalámico-pituitario-ovárico.

Este estudio es el primero en investigar los parámetros de la fibra muscular después de dos tipos de entrenamiento de la fuerza basado en el ciclo menstrual. Tan sólo 9 de las 20 mujeres acordaron en los resultados de la biopsia muscular para ser interpretados cuidadosamente. No se encontró ningún cambio en la proporción de fibras Tipo I y Tipo II después de los dos protocolos de periodización del entrenamiento. Esto está en línea con otros estudios que indican que la mayoría de la transformación de las fibras musculares después del entrenamiento de la fuerza ocurre en los subtipos de la fibra de Tipo II en vez de entre las fibras Tipo I y Tipo II (Adams y cols. 1993, Howald 1982, Wang y cols. 1993). Desafortunadamente no se pudo diferenciar entre los subtipos de fibra Tipo IIa y Tipo IIx debido a problemas del tinte de la ATPasa, de tal manera que ninguna información sobre los cambios en las características del subtipo de las fibras Tipo II pudo proveerse.

Un hallazgo notable del presente estudio fue el aumento significativo en el diámetro de las fibras Tipo II después del FT (delta: 6.7 μm , $p < 0.01$) comparado a solamente una tendencia hacia el aumento en el diámetro de las fibras Tipo II después del LT (delta: 5.1 μm , $p=0.045$). El entrenamiento de la fuerza conlleva a un aumento en los volúmenes de las miofibrillas, espacio interfibrilar, mitocondrias, y depósitos de lípido en las mujeres (Wang y cols. 1993). Un aumento en el número de miofibrillas y/o el tamaño requiere un aumento en la biosíntesis de las proteínas específicas, cuyo grado es dependiente de agentes anabólicos como la testosterona y los estrógenos. Por lo tanto, el aumento ligeramente superior en el diámetro celular de las fibras Tipo II después del FT comparado al LT en el presente estudio, está de nuevo en concordancia con el gran aumento en la fuerza muscular y diámetro del músculo después del FT comparado al LT, y alteraciones dependientes del ciclo menstrual en las hormonas anabólicas.

Se analizaron las proporciones de mionúcleos-por-fibra a través de tinte de hematoxilina y eosina. Por lo tanto, ningún dato del tipo de fibra específico está disponible. Es interesante observar que, la proporción de los nucleos-por-fibra aumentó después del FT y permaneció inalterado después del LT. Las fibras musculares adultas contienen centenares de mionúcleos donde cada mionúcleo sostiene la síntesis de proteínas por medio de un volumen finito de citoplasma. Al respecto, el agrandamiento significativo de las fibras musculares se acompañó por un aumento significativo en el número de mionúcleos. Los mionúcleos existentes pueden sostener un cierto nivel de hipertrofia de la fibra. Sin embargo, cuando la actividad transcripcional de los mionúcleos existentes alcanza su máximo, se piensa que la mejora del número de mionúcleos se involucra en la mejora de la síntesis de proteínas (Kadi, 2008). Un aumento sustancial en el tamaño de las miofibras en los músculos requiere la disponibilidad de células satélite que pueden proveer mionúcleos adicional para apoyar la hipertrofia (Adams, 2006). Mientras el músculo esquelético adulto es normalmente inactivo, en respuesta a la lesión de la miofibra o sobrecarga, las células satélite vuelven a entrar al ciclo celular donde ellas proliferan y se diferencian para proveer proteínas específicas musculares necesarias para el crecimiento del músculo esquelético y su regeneración (Enns y Tiidus, 2010).

Una variedad de alteraciones en el ambiente circundante de las células satélite, incluyendo factores de crecimiento y mecánicos, así como la señalización hormonal que abarca a la testosterona, podría regular la activación y proliferación de las células satélite (Kadi, 2008). Es más, las diferencias mediadas por el sexo

en la regeneración de la fibra muscular y números células satélite pueden ser directamente atribuidas a la influencia de los estrógenos, y los estrógenos pueden ejercer su influencia sobre poblaciones de células satélite post-ejercicio a través de eventos cascada ascendente de activación de las células satélite (Enns y Tiidus, 2008). Tomado juntos, los resultados apuntan a un posible rol de las alteraciones hormonales, tanto del la testosterona como de los estrógenos, a lo largo del ciclo menstrual en el proceso de hipertrofia muscular inducida por incorporación de células satélite.

1.6. Conclusión

En conclusión, el entrenamiento de la fuerza basado en la fase folicular indujo un efecto ligeramente superior en la fuerza muscular, en el diámetro del músculo y de las fibras Tipo II y en la proporción de núcleos-por-fibra, comparado al entrenamiento de la fuerza basado en la fase lútea. Se recomienda que las mujeres eumenorreicas moderadamente entrenadas sin uso de anticonceptivos orales lleven a cabo la periodización del entrenamiento de la fuerza sobre su ciclo menstrual.

REFERENCIAS

- Adams, G.R. (2006). Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. *Appl Physiol Nutr Metab*, 31(6), 782-790.
- Adams, G.R., Hather, B.M., Baldwin, K.M. & Dudley, G.A. (1993). Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. *J Appl Physiol*, 74(2), 911-915.
- Alexander, G.M., Sherwin, B.B., Bancroft, J. & Davidson, D.W. (1990). Testosterone and sexual behavior in oral contraceptive users and nonusers: a prospective study. *Horm Behav*, 24(3), 388-402.
- Barros, R.P. & Gustafsson, J.A. (2011). Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab*, 14(3), 289-299.
- Bennell, K., White, S. & Crossley, K. (1999). The oral contraceptive pill: a revolution for sportswomen? *Br J Sports Med*, 33(4), 231-238.
- Bergström, J. (1962). Muscle electrolytes in man. *Scand J Clin Lab Invest*, 14 (68), 1-110.
- Brooke, M.H. & Kaiser, K.K. (1970). Three "myosin adenosine triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *J Histochem Cytochem*, 18(9), 670-672.
- Bunt, J.C. (1990). Metabolic actions of estradiol: significance for acute and chronic exercise responses. *Med Sci Sports Exerc*, 22(3), 286-290.
- Constantini, N.W., Dubnov, G. & Lebrun, C.M. (2005). The menstrual cycle and sport performance. *Clin Sports Med*, 24(2), e51-82, xiii-xiv.
- Dieli-Conwright, C.M., Spektor, T.M., Rice, J.C., Sattler, F.R. & Schroeder, E.T. (2009). Influence of hormone replacement therapy on eccentric exercise induced myogenic gene expression in postmenopausal women. *J Appl Physiol*, 107(5), 1381-1388.
- Dooley, M.M. & Brincat, M.P. (Hrsg.). (1994). *Understanding Common Disorders in Reproductive Endocrinology*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd.
- Elliott, K.J., Cable, N.T. & Reilly, T. (2005). Does oral contraceptive use affect maximum force production in women? *Br J Sports Med*, 39(1), 15-19.
- Enea, C., Boisseau, N., Fargeas-Gluck, M.A., Diaz, V. & Dugue, B. (2011). Circulating androgens in women: exercise-induced changes. *Sports Med*, 41(1), 1-15.
- Enns, D.L. & Tiidus, P.M. (2008). Estrogen influences satellite cell activation and proliferation following downhill running in rats. *J Appl Physiol*, 104(2), 347-353.
- Enns, D.L. & Tiidus, P.M. (2010). The influence of estrogen on skeletal muscle: sex matters. *Sports Med*, 40(1), 41-58.
- Ferin M, J.R., Warren M. (1993). *The menstrual cycle, physiology, reproductive disorders, and infertility*. Oxford.
- Graham, C.A., Bancroft, J., Doll, H.A., Greco, T. & Tanner, A. (2007). Does oral contraceptive-induced reduction in free testosterone adversely affect the sexuality or mood of women? *Psychoneuroendocrinology*, 32(3), 246-255.
- Friden, C., Hirschberg, A.L. & Saartok, T. (2003). Muscle strength and endurance do not significantly vary across 3 phases of the menstrual cycle in moderately active premenopausal women. *Clin J Sport Med*, 13(4), 238-241.
- Greising, S.M., Baltgalvis, K.A., Lowe, D.A. & Warren, G.L. (2009). Hormone therapy and skeletal muscle strength: a meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 64(10), 1071-1081.
- Han, A., Sung, E. (1996). Menstruationszyklusgesteuertes Krafttraining-Makroskopische und mikroskopische Adaptationen an Ausdauertraining in Abhängigkeit vom hormonellen Milieu. DA, Bochum
- Han, A., Sung, E., Hinrichs, T. & Platen, P. (2010). Endurance Training & Menstrual Cycle: Effects of Follicular- & Luteal Phase-based Training in Subjects without Oral Contraception. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, Volume 42(5) - Supplement 1 5(Issue 5), 320.
- Howald, H. (1982). Training-induced morphological and functional changes in skeletal muscle. *Int J Sports Med*, 3(1), 1-12.
- Jabbour, H.N., Kelly, R.W., Fraser, H.M. & Critchley, H.O. (2006). Endocrine regulation of menstruation. *Endocr Rev*, 27(1), 17-46.
- Janse de Jonge, X.A. (2003). Effects of the menstrual cycle on exercise performance. *Sports Med*, 33(11), 833-851.
- Kadi, F. (2008). Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. *Br J Pharmacol*, 154(3), 522-528.
- Kelly, G. (2006). Body temperature variability (Part 1): a review of the history of body temperature and its variability due to site selection, biological rhythms, fitness, and aging. *Altern Med Rev*, 11(4), 278-293.
- Kraemer, W.J., Aguilera, B.A., Terada, M., Newton, R.U., Lynch, J.M., Rosendaal, G., et al. (1995). Responses of IGF-I to endogenous increases in growth hormone after heavy-resistance exercise. *J Appl Physiol*, 79(4), 1310-1315.
- Lebrun, C.M. (1994). The effect of the phase of the menstrual cycle and the birth control pill on athletic performance. *Clin Sports Med*, 13(2), 419-441.
- Longcope, C. (1986). Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab*, 15(2), 213-228.
- Lopez, L.M., Grimes, D.A. & Schulz, K.F. (2009). Steroidal contraceptives: effect on carbohydrate metabolism in women without diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*(4), CD006133.
- Lowe, D.A., Baltgalvis, K.A. & Greising, S.M. (2010). Mechanisms behind estrogen's beneficial effect on muscle strength in females. *Exerc Sport Sci Rev*, 38(2), 61-67.
- Martinson, H. & Stokes, M.J. (1991). Measurement of anterior tibial muscle size using real-time ultrasound imaging. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 63(3-4), 250-254.
- McGraw, K.O.W., S. P. (1996). Forming inferences about some intraclass correlation coefficients. *Psychological methods*, 1(1), 30-46.
- Nakamura, Y., Aizawa, K., Imai, T., Kono, I. & Mesaki, N. (2011). Hormonal responses to resistance exercise during different menstrual cycle states. *Med Sci Sports Exerc*, 43(6), 967-973.

- Oosthuyse, T. & Bosch, A.N. (2010). The effect of the menstrual cycle on exercise metabolism: implications for exercise performance in eumenorrhoeic women. *Sports Med*, 40(3), 207-227.
- Oosthuyse, T., Bosch, A.N. & Jackson, S. (2005). Cycling time trial performance during different phases of the menstrual cycle. *Eur J Appl Physiol*, 94(3), 268-276.
- Owen, J.A., Jr. (1975). Physiology of the menstrual cycle. *Am J Clin Nutr*, 28(4), 333-338.
- Pehrsson, M., Westberg, L., Landen, M. & Ekman, A. (2007). Stable serum levels of relaxin throughout the menstrual cycle: a preliminary comparison of women with premenstrual dysphoria and controls. *Arch Womens Ment Health*, 10(4), 147-153.
- Peters, C. & Burrows, M. (2006). Androgenicity of the progestin in oral contraceptives does not affect maximal leg strength. *Contraception*, 74(6), 487-491.
- Phillips, S.K., Sanderson, A.G., Birch, K., Bruce, S.A. & Woledge, R.C. (1996). Changes in maximal voluntary force of human adductor pollicis muscle during the menstrual cycle. *J Physiol*, 496 (Pt 2), 551-557.
- Rechichi, C., Dawson, B. & Goodman, C. (2009). Athletic performance and the oral contraceptive. *Int J Sports Physiol Perform*, 4(2), 151-162.
- Reilly, T. (2000). The Menstrual Cycle and Human Performance: An Overview. *Biological Rhythm Research* 2000, 31(1), 29-40.
- Reimer, C.D., Gaulrapp, H., Kelle, H. (Hrsg.) (2004). *Sonographie der Muskeln, Sehnen und Nerven.* : Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.
- Reis, E., Frick, U. & Schmidtbleicher, D. (1995). Frequency variations of strength training sessions triggered by the phases of the menstrual cycle. *Int J Sports Med*, 16(8), 545-550.
- Rickenlund, A., Carlstrom, K., Ekblom, B., Brismar, T.B., Von Schoultz, B. & Hirschberg, A.L. (2004). Effects of oral contraceptives on body composition and physical performance in female athletes. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(9), 4364-4370.
- Rogers, N.H., Witczak, C.A., Hirshman, M.F., Goodyear, L.J. & Greenberg, A.S. (2009). Estradiol stimulates Akt, AMP-activated protein kinase (AMPK) and TBC1D1/4, but not glucose uptake in rat soleus. *Biochem Biophys Res Commun*, 382(4), 646-650.
- Sarwar, R., Niclos, B.B. & Rutherford, O.M. (1996). Changes in muscle strength, relaxation rate and fatigability during the human menstrual cycle. *J Physiol*, 493 (Pt 1), 267-272.
- Sitruk-Ware, R. (2006). New progestagens for contraceptive use. *Hum Reprod Update*, 12(2), 169-178.
- Staron, R.S., Leonardi, M.J., Karapondo, D.L., Malicky, E.S., Falkel, J.E., Hagerman, F.C., et al. (1991). Strength and skeletal muscle adaptations in heavy-resistance-trained women after detraining and retraining. *J Appl Physiol*, 70(2), 631-640.
- Staron, R.S., Malicky, E.S., Leonardi, M.J., Falkel, J.E., Hagerman, F.C. & Dudley, G.A. (1990). Muscle hypertrophy and fast fiber type conversions in heavy resistance-trained women. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 60(1), 71-79.
- Sung E., H.A., Hinrichs T., Vorgerd M., Manchado C., Platen P. (2012). Effects of follicular versus luteal phase-based strength training in untrained women. *Med Sci Sports Exerc* (submitted).
- Vaiksaar, S., Jurimae, J., Maestu, J., Purge, P., Kalytka, S., Shakhlina, L., et al. (2011). Phase of oral contraceptive cycle and endurance capacity of rowers. *Percept Mot Skills*, 113(3), 764-772.
- Van Look, P.F. & Baird, D.T. (1980). Regulatory mechanisms during the menstrual cycle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 11(2), 121-144.
- Wang, N., Hikida, R.S., Staron, R.S. & Simoneau, J.A. (1993). Muscle fiber types of women after resistance training—quantitative ultrastructure and enzyme activity. *Pflugers Arch*, 424(5-6), 494-502.
- Wiegatz, I., Jung-Hoffmann, C. & Kuhl, H. (1995). Effect of two oral contraceptives containing ethinylestradiol and gestodene or norgestimate upon androgen parameters and serum binding proteins. *Contraception*, 51(6), 341-346.
- Wirth, J.C. & Lohman, T.G. (1982). The relationship of static muscle function to use of oral contraceptives. *Med Sci Sports Exerc*, 14(1), 16-20.
- Wojtys, E.M., Huston, L.J., Boynton, M.D., Spindler, K.P. & Lindenfeld, T.N. (2002). The effect of the menstrual cycle on anterior cruciate ligament injuries in women as determined by hormone levels. *Am J Sports Med*, 30(2), 182-188.
- Yan, Z. (2000). Skeletal muscle adaptation and cell cycle regulation. *Exerc Sport Sci Rev*, 28(1), 24-26.