

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO**

**EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO  
ISOCINÉTICO SOBRE A FADIGA E O DANO MUSCULAR**

**BRUNO MANFREDINI BARONI**

**Porto Alegre - RS  
2010**

**Bruno Manfredini Baroni**

**EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO  
ISOCINÉTICO SOBRE A FADIGA E O DANO MUSCULAR**

**Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências do Movimento  
Humano da Escola de Educação Física da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Ciências do Movimento Humano.**

**Orientador: Marco Aurélio Vaz**

**Porto Alegre - RS**

**2010**

**Bruno Manfredini Baroni**

**EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO  
ISOCINÉTICO SOBRE A FADIGA E O DANO MUSCULAR**

**Comissão de Avaliação:**

**Prof. Dr. Álvaro Reischak de Oliveira – UFRGS**

**Prof. Dr. Flávio Antônio de Souza Castro – UFRGS**

**Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto – UFSCAR**

## AGRADECIMENTOS

Aos professores **Álvaro Reischak de Oliveira**, **Flávio Antônio de Souza Castro** e **Nivaldo Antônio Parizotto** pelas contribuições no desenvolvimento do projeto e na avaliação do trabalho final.

Aos colegas da **sala 212** do LAPEX, não somente pela companhia nas inúmeras manhãs, tardes e noites no laboratório, mas principalmente pelo companheirismo demonstrado durante o período de mestrado.

Aos colegas **Fernando Diefenthaler** e **Jeam Marcel Geremia**, pelo apoio nos meus primeiros passos dentro da ESEF-UFRGS e pelo auxílio na coleta de dados do primeiro estudo desta dissertação.

Aos colegas **André Luiz Lopes**, **Thiago de Marchi** e, principalmente, **Rodrigo Rodrigues**, pela colaboração na coleta e análise de dados do segundo estudo. A qualidade deste trabalho está fortemente relacionada à competência e ao comprometimento deles.

Ao professor **Ernesto Cesar Pinto Leal Junior**, pelo papel fundamental que teve em minha iniciação científica, pelo auxílio no desenvolvimento dos artigos desta dissertação e pela amizade fraternal.

Ao professor **Marco Aurélio Vaz**, por ter concedido a oportunidade de conquistar meu espaço dentro do GPBiC, pela excelência na orientação em todas as atividades desenvolvidas durante o mestrado, e pelas conversas que sempre me auxiliaram em importantes tomadas de decisão de caráter profissional e pessoal.

Aos meus amigos de Caxias do Sul, em especial à galera da **S. E. Cruz Azul**, pela compreensão diante de minhas ausências e pela amizade incondicional.

Ao meu irmão, **Marco**, pelo apoio constante, pela torcida em favor do meu sucesso e pela importância que sua existência tem na minha vida.

Aos meus pais, **Zulmir** e **Henriette**, por todo amor que dedicam a mim e por terem me criado, antes de um vencedor, um lutador. Seus ensinamentos de sempre tentar ser o melhor e nunca esquecer minhas origens guiam meus passos diariamente.

À minha namorada, **Fran**, que desde os tempos de graduação tem sido minha maior incentivadora na busca pelos meus objetivos. Mais do que uma namorada, tem se mostrado uma companheira em todos os momentos, a quem devo eterno agradecimento pelo apoio e carinho.

**“Não tá morto quem peleia.”**

**Ditado gaúcho**

## RESUMO

Desde seu desenvolvimento na década de 60, a fototerapia têm sido utilizada no tratamento de diversas condições patológicas, havendo um considerável corpo de evidências acerca de sua ação regenerativa, analgésica e anti-inflamatória. Tais efeitos terapêuticos podem ser explicados pela capacidade que a energia luminosa possui de ser absorvida pelos tecidos e estimular ou inibir processos intracelulares. Estudos recentes têm apresentado resultados promissores desta terapia também sobre a redução da fadiga e do dano muscular induzido pelo exercício. A fadiga muscular é um fenômeno multifacetado caracterizado por uma progressiva redução da capacidade de produção de força do músculo. O dano muscular, causado principalmente pelas ações excêntricas do exercício, é caracterizado pela desorganização da estrutura microscópica do músculo e redução da capacidade contrátil deste tecido. Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da fototerapia aplicada imediatamente antes do exercício sobre: (1) a fadiga muscular de extensores de joelho submetidos a exercício isocinético concêntrico; (2) o dano muscular de extensores de joelho submetidos a exercício isocinético excêntrico. No primeiro estudo, 17 homens saudáveis e fisicamente ativos participaram de um desenho experimental cruzado no qual foram submetidos a 30 repetições concêntricas máximas de flexo-extensão do joelho, precedidas de tratamento com fototerapia ou placebo. A fototerapia foi aplicada através de um equipamento de *light emitting diodes therapy* (LEDT) composto por 35 diodos infravermelhos de 850 nm e 34 diodos vermelhos de 660 nm. O tratamento foi realizado em três pontos do quadríceps com aplicação de uma dose total de 125,1 J. Mensurações da função muscular dos extensores de joelho foram realizadas antes e imediatamente após o exercício através de contrações voluntárias máximas (CVM) de extensores de joelho a 60° de flexão da articulação. Como resultado, observou-se que os voluntários apresentaram um decréscimo de torque significativamente menor quando tratados com fototerapia em comparação ao tratamento placebo. No segundo estudo, 36 homens saudáveis e fisicamente ativos foram randomizados em grupo fototerapia (n=18) e grupo placebo (n=18), e submetidos a cinco séries de 15 contrações excêntricas máximas de extensores de joelho. Avaliações de dor muscular e níveis séricos das enzimas lactato desidrogenase (LDH) e creatina kinase (CK) foram mensuradas pré-exercício, 24 e 48 horas pós-exercício. Avaliações da função muscular (CVM de extensores de joelho) foram realizadas pré-exercício, imediatamente após, 24 e 48 horas após o exercício. Um equipamento de *low level laser therapy* (LLLT) composto por cinco diodos infravermelhos de 810 nm foi utilizado para aplicar o tratamento em seis pontos do quadríceps e transmitir uma dose total de 180 J. Como resultado, observou-se que o grupo fototerapia apresentou: (1) menores incrementos de LDH 48 horas após o exercício; (2) menores incrementos de CK 24 e 48 horas após o exercício; e (3) menor decréscimo do torque de extensores de joelho imediatamente após, 24 e 48 horas após o exercício, em comparação ao grupo placebo. Os achados destes estudos permitem concluir que o tratamento com fototerapia foi capaz de atenuar os efeitos da fadiga e do dano muscular induzidos por exercício em dinamômetro isocinético.

**Palavras-chave:** Laserterapia, Músculo Esquelético, Dinamometria Isocinética, Exercício Excêntrico.

## ABSTRACT

Since its development in the 60's, phototherapy has been used in the treatment of several pathological conditions, with a considerable body of evidence with respect to its regenerative, analgesic and anti-inflammatory action. These therapeutic effects may be explained by the capacity that the light energy has of being absorbed by soft tissues and stimulate or inhibit intracellular processes. Recent studies have also shown promising results regarding the reduction of muscle fatigue and exercise induced muscle damage. Muscle fatigue is a multifaceted phenomenon characterized by a progressive reduction in muscle force production capacity. Muscle damage, mainly caused by eccentric exercise, is characterized by the microscopic disorganization of muscle structure and reduction of the contractile capacity of this tissue. Thus, the purpose of this study was to verify the effect of phototherapy applied immediately before exercise on: (1) knee extensors muscle fatigue after isokinetic concentric exercise; (2) knee extensor muscle damage after isokinetic eccentric exercise. In the first study 17 healthy and physically active male subjects participated of a cross-over design trial. Subjects were subjected to 30 maximal concentric repetitions of knee flexion-extension, preceded by placebo or phototherapy treatment. Phototherapy was applied with a light emitting diodes therapy (LEDT) equipment composed by 35 infrared diodes of 850 nm wavelength and 34 red diodes of 660 nm. Treatment was applied in three different points of the quadriceps muscle with a total dose of 125.1 J. Measurements of knee extensor muscle function were obtained before and immediately after exercise by maximal voluntary contractions (MVC) at a knee angle of 60° of joint flexion. Subjects showed a significant smaller decrease in torque when treated with phototherapy compared to placebo treatment. On the second study, 36 healthy and physically active male subjects were randomized into a phototherapy (n=18) and a placebo (n=18) group, and subjected to five series of 15 maximal knee extensor eccentric contractions. Measurements of pain and serum levels of lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) enzymes were obtained pre-exercise, 24 and 48 hours post-exercise. Evaluations of muscle function (knee extensor MVC) were obtained pre-exercise, immediately after, and 24 and 48 hours after exercise. A low level laser therapy (LLLT) equipment composed by five infrared diodes of 810 nm wavelength was used to apply the treatment on six different points of the quadriceps muscle with a total dose of 180 J. The phototherapy group showed: (1) smaller increments of LDH 48 hours after exercise; (2) smaller increments of CK 24 and 48 hours after exercise; and (3) smaller decrease on knee extensor torque immediately after, 24 and 48 hours after exercise compared to the placebo group. These findings allow us to conclude that the phototherapy treatment was able to attenuate the effects of fatigue and muscle damage induced by isokinetic exercise.

**Key-words:** Laser Therapy, Skeletal Muscle, Isokinetic Dynamometry, Eccentric Exercise.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização do LASER dentro do espectro eletromagnético, nos comprimentos de onda e frequências correspondentes à luz infravermelha, luz visível e ultravioleta..... 23
- Figura 2.** Representação das características de propagação no espaço de dois feixes de luz com comprimentos de onda ( $\lambda$ ) distintos..... 27
- Figura 3.** Comprimentos de onda que permitem uma maior absorção da energia luminosa por parte dos tecidos biológicos..... 29
- Figura 4.** Fluxograma de procedimentos adotados pelo estudo ..... 39
- Figura 5.** Dinamômetro Isocinético *Biodex System 3 Pro*..... 40
- Figura 6.** Equipamento *THOR DD2 Control Unit*..... 41
- Figura 7.** Equipamento *Thor LED multi-diode cluster probe*..... 42
- Figura 8.** Os círculos pretos representam os pontos de aplicação utilizados nos tratamentos LEDT e placebo..... 42
- Figura 9.** Valores absolutos de torque isométrico máximo antes (CVM-PRÉ) e depois (CVM-PÓS) do protocolo de fadiga..... 46
- Figura 10.** Queda percentual do torque isométrico máximo após o protocolo de fadiga com os tratamentos LEDT e placebo..... 46

<b>Figura 11.</b> Organograma de procedimentos adotados pelo estudo.....	56
<b>Figura 12.</b> Equipamento <i>Thor Infra-Red Laser Cluster Probe</i> .....	59
<b>Figura 13.</b> Os círculos pretos representam os pontos de aplicação utilizados nos tratamentos LLLT e placebo.....	59
<b>Figura 14.</b> Incremento percentual da lactato desidrogenase (LDH) 24 e 48 horas após o exercício excêntrico. * indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).....	63
<b>Figura 15.</b> Incremento percentual da creatina kinase (CK) 24 e 48 horas após o exercício excêntrico. * indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).....	64
<b>Figura 16.</b> Valores percentuais da contração voluntária máxima (CVM) de extensores de joelho imediatamente após, 24 e 48 horas após o exercício. * indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).....	64

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Desempenho dos músculos extensores de joelho dos sujeitos no protocolo de exercício concêntrico indutor de fadiga após os tratamentos LEDT e placebo..... 45
- Tabela 2.** Características cinenatropométricas dos participantes alocados nos grupos LLLT e placebo..... 62
- Tabela 3.** Desempenho dos músculos extensores de joelho dos sujeitos dos grupos LLLT e placebo no protocolo de exercício excêntrico indutor de dano muscular..... 62
- Tabela 4.** Valores absolutos dos marcadores de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: dor muscular (EAV), lactato desidrogenase (LDH), creatina kinase (CK) e função muscular (CVM)..... 63

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1.** Parâmetros de aplicação do tratamento com LEDT..... 43

**Quadro 2.** Parâmetros de aplicação do tratamento com LLLT..... 58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

As-Ga – Arseneto de Gálio

As-Ga-Al – Arseneto de Gálio e Alumínio

ATP – adenosina trifosfato

Ca<sup>2+</sup> – íon cálcio

CK – creatina kinase

cm – centímetro

cm<sup>2</sup> – centímetro quadrado

CVM – contração voluntária máxima

CVM-PÓS – contração voluntária máxima pós-exercício

CVM-PRÉ – contração voluntária máxima pré-exercício

DMIT – dor muscular de início tardio

EAV – escala analógica visual

ERO – espécies reativas de oxigênio

ESEF – Escola de Educação Física

h – hora

He-Ne – Hélio-Neônio

ISAK – *International Society for the Advancement of Kineanthropometry*

J – Joule

kg – quilograma

LAPEX – Laboratório de Pesquisa do Exercício

LASER – *light amplification by stimulated emission of radiation*

LDH – lactato desidrogenase

LED - *light emitting diode*

LEDT– *light emitting diodes therapy*

LLLTL – *low level laser therapy*

m – metro

ml – mililitro

mW – miliWatt

nm – nanômetro

Nm – Newton-metro

PL – *polarized light*

s – segundo

SLD – *superluminous diode*

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UI·l<sup>-1</sup> – unidade internacional por litro

W – Watt

WALT – *World Association for Laser Therapy*

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>CAPÍTULO I: REVISÃO SOBRE FOTOTERAPIA .....</b>	<b>21</b>
1.1 Contexto histórico .....	21
1.2 Princípios físicos .....	22
1.3 Categorias .....	24
1.4 Parâmetros de tratamento .....	25
1.5 Interação com o tecido biológico .....	27
1.6 Efeitos terapêuticos .....	30
1.7 Fototerapia vs. fadiga muscular .....	31
1.8 Fototerapia vs. dano muscular .....	33
<b>CAPÍTULO II: EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO CONCÊNTRICO SOBRE A FADIGA MUSCULAR .....</b>	<b>35</b>
2.1 Introdução .....	35
2.2 Métodos .....	37
2.2.1 Amostra .....	37
2.2.2 Desenho experimental .....	38
2.2.3 Procedimentos .....	39
<i>Avaliação da função muscular</i> .....	40
<i>Tratamento LEDT e placebo</i> .....	40
<i>Protocolo de indução à fadiga</i> .....	43
2.2.4 Análise Estatística .....	44
2.3 Resultados .....	45
2.4 Discussão .....	47

<b>CAPÍTULO III: EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO SOBRE O DANO MUSCULAR .....</b>	<b>52</b>
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>52</b>
<b>3.2 Métodos .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.1 Amostra .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.2 Desenho Experimental .....</b>	<b>55</b>
<b>3.2.3 Procedimentos .....</b>	<b>55</b>
<b><i>Avaliação cineantropométrica .....</i></b>	<b>56</b>
<b><i>Avaliação da dor muscular .....</i></b>	<b>56</b>
<b><i>Avaliação dos marcadores sanguíneos .....</i></b>	<b>57</b>
<b><i>Avaliação da função muscular .....</i></b>	<b>57</b>
<b><i>Tratamento LLLT e placebo .....</i></b>	<b>57</b>
<b><i>Protocolo de indução ao dano .....</i></b>	<b>59</b>
<b>3.2.4 Análise Estatística .....</b>	<b>60</b>
<b>3.3 Resultados .....</b>	<b>61</b>
<b>3.4 Discussão .....</b>	<b>65</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO B .....</b>	<b>88</b>



## APRESENTAÇÃO

A presente dissertação foi motivada pelo anseio de responder à seguinte questão: o tratamento com fototerapia antes do exercício físico é capaz de reduzir os efeitos da fadiga e do dano muscular? A busca pela resposta nos conduziu ao desenvolvimento de dois ensaios clínicos durante o período de mestrado junto ao Setor de Plasticidade Neuromuscular do Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Assim, o conteúdo da presente dissertação é apresentado em três capítulos.

O Capítulo I abrange uma revisão de literatura a respeito da fototerapia, sendo contemplados conceitos, contextos históricos de seu desenvolvimento, princípios físicos, princípios de interação com o tecido biológico, parâmetros de tratamento e efeitos terapêuticos atribuídos a esta terapia. Na continuidade do referido capítulo, duas sessões são dedicadas às evidências encontradas na literatura sobre a utilização da fototerapia com finalidade de redução da fadiga e do dano muscular induzido pelo exercício, respectivamente.

O Capítulo II é apresentado em formato de artigo científico e descreve o experimento conduzido com objetivo de verificar os efeitos do tratamento com fototerapia previamente a um protocolo de exercício concêntrico em dinamômetro isocinético sobre a fadiga dos músculos extensores de joelho de homens saudáveis e fisicamente ativos. Este artigo foi publicado no periódico *Photomedicine and Laser Surgery* (Anexo A).

O Capítulo III, também apresentado sob a forma de artigo, relata o experimento desenvolvido para averiguar os efeitos do tratamento com fototerapia imediatamente antes de um protocolo de exercício excêntrico em dinamômetro isocinético sobre o dano muscular de extensores de joelho de uma população de características semelhantes aos participantes do primeiro estudo. Este artigo foi publicado no periódico *European Journal of Applied Physiology* (Anexo B).

Ao término da presente dissertação, uma sessão sucinta e objetiva é dedicada à apresentação das principais conclusões obtidas a partir dos resultados dos dois experimentos.

## INTRODUÇÃO

“Fototerapia” é o termo mais apropriado quando se deseja abordar de forma abrangente as intervenções envolvendo a energia proveniente de fontes luminosas com objetivos terapêuticos (ENWEMEKA, 2005). Apesar de a maior parte dos estudos na área serem conduzidos com energia luminosa proveniente de fontes de LASER (*light amplification by stimulated emission of radiation*), evidências recentes têm demonstrado que a utilização de fontes “alternativas” como o LED (*light emitting diode*) produz efeitos terapêuticos similares. Tais evidências reforçam a premissa defendida por Enwemeka (2005) de que o potencial terapêutico desta modalidade não depende unicamente da fonte geradora da energia, mas sim da aplicação de parâmetros de tratamento apropriados.

Sendo formas de emissão luminosa, LASER e LED estão englobados dentro do espectro eletromagnético, ocupando principalmente as faixas destinadas à luz visível e luz infravermelha. Tal qual ocorre com qualquer energia luminosa ao incidir sobre uma superfície, os fótons de LASER ou LED sofrem os fenômenos de reflexão, refração, transmissão e absorção por parte do tecido biológico (LOW e REED, 2001; LAAKSO et al., 1993a - 1993b). A porção de energia absorvida pelo tecido é a responsável pela alteração do comportamento celular através de efeitos atômicos (KITCHEN e BAZIN, 1998; SCHINDL et al., 2000; HUANG et al., 2009). Embora os mecanismos de ação da fototerapia ainda careçam de explicações concretas, a absorção da energia luminosa por parte de cromóforos específicos (especialmente localizados na mitocôndria) parece ser o evento chave para o desencadeamento de processos celulares responsáveis pelos efeitos terapêuticos nos tecidos tratados com a fototerapia (HUANG et al., 2009).

Esta ação terapêutica tem sido alvo de pesquisas desde a década de 60, quando Endre Mester lançou o conceito de efeito bioestimulatório, demonstrando pioneiramente os efeitos desta modalidade na aceleração da reparação tecidual de feridas cutâneas (MESTER, 1966). A bioestimulação refere-se à aplicação de energia eletromagnética pela fototerapia aos tecidos biológicos, influenciando as funções celulares e alterando atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas. Porém, devido ao efeito dose-dependente da fototerapia, tanto a estimulação quanto

a inibição são possíveis de acontecer (HUANG et al., 2009). Assim, hoje é preconizado o termo biomodulação, cujo efeito pode ser de bioestimulação ou bioinibição (SHAFFER et al., 1997), assumindo a existência de uma dose ótima de ação estimulatória da fototerapia. Doses inferiores a este limiar nada provocam e doses excessivas promovem efeitos inibitórios.

Ao longo dos anos, inúmeros trabalhos têm relatado o efeito da fototerapia na cicatrização de feridas cutâneas (VASHEGHANI et al., 2009; MINATEL et al., 2009); na regeneração de tecidos tendinosos (ENWEMEKA e REDDY, 2000; OLIVEIRA et al., 2009), musculares (BIBIKOVA e ORON, 1994; CRESSONI et al., 2008) e nervosos (ROCHKIND et al., 2009; ROCHKIND, 2009); além da ação analgésica (BJORDAL et al., 2007; CHOW et al., 2009) e anti-inflamatória (LOPES-MARTINS et al., 2005; YAMAURA et al., 2009) desta modalidade terapêutica. Recentemente, inovadores campos de atuação para a fototerapia têm sido propostos na área da fadiga e dano muscular induzido pelo exercício.

O termo fadiga muscular é empregado para descrever o fenômeno caracterizado pela progressiva redução da capacidade muscular de produção de força durante o exercício. Apesar de acirradas discussões na literatura acerca de seus mecanismos etiológicos, as causas da fadiga parecem envolver mecanismos de origem central e periférica. Além disso, sua magnitude é influenciada por fatores relacionados a características do exercício e do próprio indivíduo. Desta forma, a fadiga costuma ser considerada um fenômeno multifacetado, cuja mensuração se dá de forma indireta em experimentos científicos envolvendo humanos, sobretudo pela avaliação mecânica da capacidade de produção de força de um músculo ou grupo muscular submetido a um protocolo de exercício fatigante. (CAIRNS et al., 2005; WEIR et al., 2006; ALLEN et al., 2008; FITTS, 2008; ENOKA e DUCHATEAU, 2008).

O dano muscular induzido pelo exercício consiste em um fenômeno provocado pela execução de exercícios que o indivíduo não está habituado, seja em relação à característica, intensidade e/ou duração dos mesmos. Este fenômeno está principalmente associado às ações excêntricas do movimento, que provocam microlesões musculares que afetam a organização estrutural das unidades contráteis do músculo (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e ALLEN, 2005; BYRNE et al., 2004; CHEUNG et al., 2003). Esses danos em nível microscópico são capazes de afetar o funcionamento do músculo como um todo, reduzindo a capacidade de

produção de força muscular por períodos prolongados de até mais de uma semana (MORGAN e ALLEN, 1999; ALLEN, 2001; PROSKE e ALLEN, 2005; PROSKE e MORGAN, 2001). Além disso, o dano está associado à dor muscular de início tardio (DMIT), à resposta inflamatória local e ao aumento de proteínas musculares no sangue (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e MORGAN, 2001; CLARKSON e HUBAL, 2002; CHEUNG et al., 2003; PEAKE et al., 2005).

Estudos em modelo animal (LOPES-MARTINS et al., 2006; LEAL JUNIOR et al., 2010a) verificaram que o tratamento com fototerapia é capaz de retardar o inevitável declínio de tensão gerado por músculos isolados de ratos submetidos a um protocolo de repetidas contrações tetânicas estimuladas eletricamente. Estes trabalhos ainda reportam menores índices de dano muscular, mensurado através de marcadores sanguíneos, indo ao encontro de estudos que submeteram ratos a exercício em esteira declinada (LIU et al., 2009) e exercício em meio líquido (SUSSAI et al., 2010), e reportam evidências bioquímicas e histológicas de redução do dano com a fototerapia.

Em humanos, estudos já observaram que a aplicação desta terapia prévia ao exercício faz com que atletas incrementem o número de repetições voluntárias de flexo-extensão de cotovelo antes da exaustão (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2009b-2010b). Também há evidências de redução da DMIT, um indicador de dano frequentemente utilizado em estudos envolvendo humanos, após um protocolo de exercício excêntrico de flexores de cotovelo (DOURIS et al., 2006). Em contrapartida, GORGEY et al. (2008) e CRAIG et al. (1999) não encontraram evidências de redução da fadiga e dano, respectivamente, em seus ensaios clínicos com seres humanos.

Assim, diante das evidências reportadas na literatura, o objetivo deste trabalho consistiu em verificar o efeito do tratamento com fototerapia imediatamente antes de exercício isocinético máximo de extensores de joelho de humanos sobre marcadores indiretos de fadiga e dano muscular.

## CAPÍTULO I

### REVISÃO SOBRE FOTOTERAPIA

“Fototerapia” é o termo utilizado para descrever de forma mais abrangente as intervenções envolvendo a energia proveniente de fontes luminosas monocromáticas com objetivos terapêuticos (ENWEMEKA, 2005). A fonte de luz monocromática mais antiga, mais utilizada em estudos científicos e mais difundida na prática clínica é mundialmente conhecida pelo acrônimo LASER, que significa *light amplification by stimulated emission of radiation*. Entretanto, outras fontes luminosas como LED (*light emitting diode*), SLD (*superluminous diode*) e PL (*polarized light*) vêm sendo desenvolvidas e suas propriedades terapêuticas testadas, sobretudo após a década de 1990. Estudos científicos em diferentes áreas têm demonstrado que estas fontes de luz “alternativas” apresentam efeitos terapêuticos bastante similares ao LASER. Tais evidências reforçam a premissa de que o potencial terapêutico desta modalidade não depende unicamente da fonte geradora da energia, mas sim da aplicação de parâmetros de tratamento adequados (ENWEMEKA, 2005). Entretanto, em virtude da maior disponibilidade de material publicado sobre o assunto, o embasamento teórico a respeito da fototerapia apresentado a seguir é focado no LASER.

#### 1.1 Contexto histórico

Em 1917, Albert Einstein publicou o artigo intitulado “*Zur Quantentheorie der Strahlung*” (ou “A Teoria Quântica da Radiação”), no qual, utilizando conhecimentos de teoria quântica propostos por Max Planck, em 1900, descreveu o terceiro processo de integração da matéria, conhecido como emissão estimulada de radiação (EINSTEIN, 1917). A partir deste fenômeno, Einstein teorizou a possibilidade de desenvolvimento de uma forma inovadora de energia luminosa, que

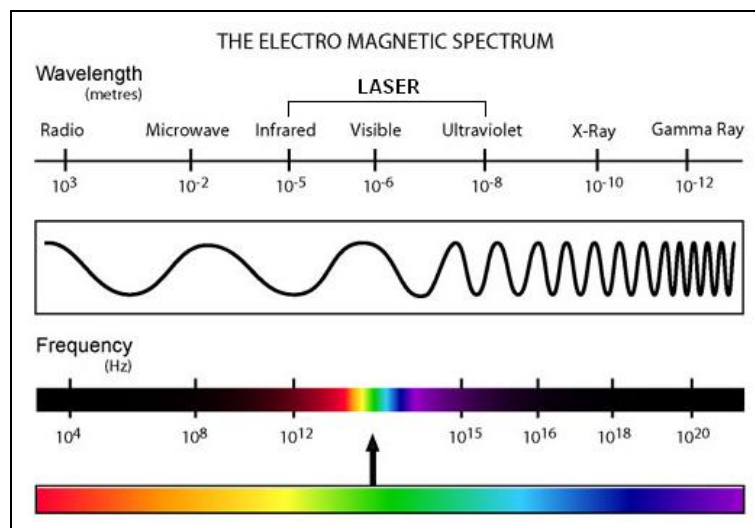
posteriormente viria a ser denominada *light amplification by stimulated emission of radiation*, e pode ser traduzida por “amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”.

Somente em 1960 a tecnologia tornou possível a concretização prática da emissão estimulada de radiação proposta por Einstein. Por meio da excitação de um cristal de rubi, o pesquisador Theodore Maiman produziu um feixe de LASER na faixa vermelha do espectro eletromagnético, sendo este protótipo considerado o primeiro equipamento de emissão de feixes de LASER da história (MAIMAN, 1960). Em seguida, foi desenvolvida a emissão de LASER através de um meio ativo da mistura gasosa do hélio com o neônio (LASER He-Ne), também emitindo irradiação vermelha (JAVAN et al., 1961). Interesse subsequente surgiu na produção de um LASER com emissão na faixa infravermelha do espectro eletromagnético, fato que só foi consumado no final da década de 70 com o surgimento dos LASERs de Arseneto de Gálio (As-Ga) e de Arseneto de Gálio e Alumínio (As-Ga-Al) (TUNÉR e HODE, 1999; BAXTER, 1997; OHSHIRO, 1991; BASFORD, 1995).

Atualmente, a utilização da energia de luzes monocromáticas com propósitos terapêuticos (principalmente LASER e LED) é amplamente difundida entre profissionais de fisioterapia, odontologia, dermatologia, reumatologia e medicina veterinária. Segundo dados levantados por Vladimirov et al. (2004) através da busca pelos termos *laser* e *therapy* na base de dados *Medline*, 1700 a 2400 artigos foram publicados anualmente na década que antecedeu ao estudo abordando a aplicação terapêutica desta modalidade.

## 1.2 Princípios físicos

Sendo uma forma de emissão luminosa, o LASER está englobado dentro do espectro de emissão eletromagnética. O espectro eletromagnético (Figura 1) é formado por um conjunto de ondas eletromagnéticas, provenientes da variação de seus comprimentos de onda e, conseqüentemente, de suas freqüências. A maioria dos LASERs opera numa porção relativamente pequena desse espectro, estando localizada na faixa infravermelha, luz visível e ultravioleta, de acordo com o comprimento de onda específico do LASER em questão.



**Figura 1.** Localização do LASER dentro do espectro eletromagnético, nos comprimentos de onda e frequências correspondentes à luz infravermelha, luz visível e ultravioleta.

Porém, o que difere o LASER das demais formas de irradiação de ondas eletromagnéticas, como as luzes geradas por lâmpadas domésticas comuns, são algumas características específicas deste tipo de energia, tais quais: a monocromaticidade, a coerência, a colimação e a polarização (SCHALLOW, 1995; BAXTER, 1997; AZEVEDO LUIZ, 2004).

A monocromaticidade é a propriedade que atribui ao feixe de LASER uma única cor, devido ao fato de sua radiação agrupar-se em torno de um único comprimento de onda com amplitude limitada. Ou seja, todos os fótons emitidos pela fonte emissora da luz se propagam no espaço com um mesmo comprimento de onda e, conseqüentemente, uma mesma frequência. É considerada o atributo mais importante do LASER, pois determina quais biomoléculas absorverão a radiação incidente e, portanto, a interação fotobiológica e os efeitos terapêuticos específicos (BAXTER, 1997; KITCHEN e BAZIN, 1998; LOW e REED, 2001).

A coerência corresponde à sincronia das ondas de luz no tempo (coerência temporal) e no espaço (coerência espacial). Em outras palavras, fótons de mesmo comprimento de onda e frequência (monocromaticidade) se propagam na mesma direção, movendo-se na mesma fase no tempo e no espaço (LOW e REED, 2001; BAXTER, 1997). A colimação refere-se à unidirecionalidade do LASER, ou seja,

existe uma espécie de paralelismo entre os fótons emitidos, onde praticamente inexistente divergência da radiação emitida, o que garante um pequeno diâmetro do feixe em uma distância relativamente grande (BAXTER, 1997; LOW e REED, 2001; TUNÉR e HODE, 1999; KITCHEN e BAZIN, 1998). Por fim, a característica de polarização refere-se à orientação adotada pelas ondas de LASER em um único plano, de tal modo que as vibrações em seus campos elétricos acontecem em uma só direção (BAXTER, 1997).

Pode ser feita uma analogia de que as radiações visíveis comuns, como as geradas pelas lâmpadas domésticas, são como uma multidão de pessoas usando roupas diferentes, caminhando em direções diferentes e em velocidades diferentes. A radiação LASER é como uma coluna de soldados uniformizados, todos marchando na mesma direção e no mesmo ritmo (LOW e REED, 2001).

Por essas características, os equipamentos emissores de LASER são capazes de transmitir uma considerável quantidade de energia luminosa aos tecidos com extrema precisão e eficiência (AZEVEDO LUIZ, 2004). Entretanto, permanece em dúvida o fato de todas as quatro características serem necessárias para produzir reações fotobiológicas em um organismo. Há pesquisadores que acreditam que a monocromaticidade por si só seja suficientemente capaz de produzir tais reações (LAAKSO et al., 1993a; BASFORD, 1995). Para outros, esta característica deve ser somada às propriedades de coerência e polarização para que os efeitos positivos possam ser observados em tecidos vivos (OHSHIRO, 1991).

### **1.3 Categorias**

Os LASERs podem ser classificados em dois principais grupos: os LASERs de alta potência, com potência superior a 1 Watt; e os LASERs de baixa potência, com potência inferior a 1 Watt. Os LASERs de alta potência possuem finalidade cirúrgica, sendo utilizados para corte, carbonização, vaporização, coagulação ou desnaturação de proteínas, através de efeito fototérmico (CHAVANTES e JATENE, 1990). Os LASERs de baixa potência, também conhecidos como não-cirúrgicos, servem para propósitos terapêuticos, isolados ou em conjunto com outros



tratamentos, sendo empregados na aceleração ou regularização de processos fisiológicos através de efeitos atérmicos (BASFORD, 1995; SCHINDL et al., 2000). O tratamento realizado com este tipo de LASER será tratado neste trabalho pela sigla mais difundida internacionalmente: LLLT (*Low Level Laser Therapy*, ou Laserterapia de Baixa Intensidade).

#### 1.4 Parâmetros de tratamento

Os parâmetros mais importantes a serem controlados no tratamento com a fototerapia incluem: (1) potência; (2) energia; (3) área de irradiação; (4) densidade de potência; (5) densidade de energia; e (6) comprimento de onda.

**Potência (ou Potência de Saída):** Corresponde à quantidade de energia emitida em função do tempo, mensurada em Joules por segundo (J/s). Costumeiramente é representada através da unidade de medida Watts (W), uma vez que 1 W equivale a 1 J.s<sup>-1</sup>, ou até mesmo miliWatts (1 mW = 0,001 W). Normalmente, este parâmetro é fixo e invariável nos aparelhos terapêuticos de LLLT. A potência é matematicamente calculada pela equação abaixo (ENWEMEKA, 2009; HUANG et al., 2009).

$$\text{Potência (W)} = \text{Energia (J)} \div \text{Tempo (s)}$$

**Energia (ou Dose):** Corresponde à quantidade de energia transferida ao tecido durante a aplicação da terapia, sendo um dos parâmetros que mais influencia no sucesso do tratamento com a LLLT. Esta variável é expressa em Joules (J) e calculada pela equação abaixo (ENWEMEKA, 2009; HUANG et al., 2009).

$$\text{Energia (J)} = \text{Potência (W)} \times \text{Tempo (s)}$$

A *World Association for Laser Therapy* (WALT) recomenda que estudos que envolvam seres humanos apresentem a dose utilizada em forma de energia por ponto de aplicação (expressa, portanto, em J), enquanto pesquisas com pequenos

animais ou culturas celulares devem apresentar a densidade de energia (medida que será abordada posteriormente), utilizando como unidade de medida Joules por centímetro quadrado ( $J/cm^2$ ) (WALT, 2006).

**Área de Irradiação:** Expressa em centímetros quadrados ( $cm^2$ ), a área de irradiação corresponde à área de secção transversa do aplicador da fibra óptica, também conhecida como área de radiação efetiva, desde que utilizada a técnica de aplicação do equipamento em contato com a pele. Em tratamentos onde a fibra não está em contato com o tecido, a área de irradiação será maior, com um conseqüente menor número de fótons atuando por unidade de área. Entretanto, pequenas distâncias de 1 a 2 cm podem ser utilizadas em situações clínicas e experimentais sem maiores prejuízos desde que o ângulo de incidência entre equipamento e superfície tecidual seja mínimo, ou seja, aproximadamente  $90^\circ$  (ENWEMEKA, 2009).

**Densidade de Potência (ou Intensidade; ou Irradiância):** Pode ser definida como a potência de saída do equipamento pela área de radiação efetiva do mesmo. Em outras palavras, é a potência por unidade de área do equipamento. Este parâmetro é expresso em Watts por centímetro quadrado ( $W/cm^2$ ) ou miliWatts por centímetro quadrado ( $mW/cm^2$ ), normalmente não ultrapassando os  $50 mW/cm^2$ , e sendo calculado pela equação a seguir (ENWEMEKA, 2009; HUANG et al., 2009).

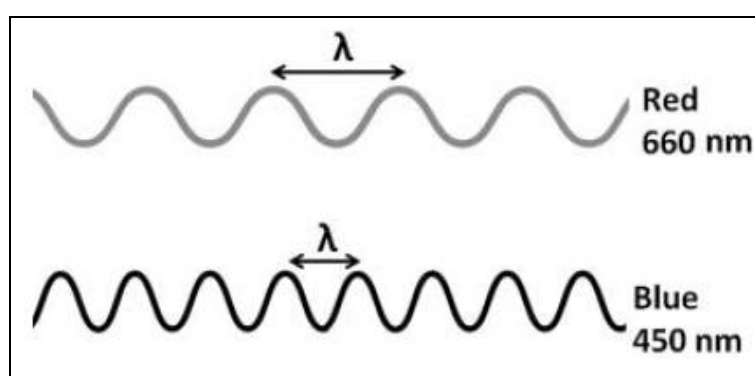
$$\text{Densidade de Potência } (W/cm^2) = \text{Potência útil } (W) \div \text{Área } (cm^2)$$

**Densidade de Energia (ou Fluência):** É a quantidade total de energia transferida ao tecido pela área efetiva de irradiação do equipamento. Ou seja, é a energia transmitida por unidade de área, sendo expressa em Joules por centímetro quadrado ( $J/cm^2$ ) e calculada pela equação abaixo (ENWEMEKA, 2009; HUANG et al., 2009).

$$\text{Densidade de energia } (J/cm^2) = [\text{Potência } (W) \times \text{Tempo } (s)] \div \text{Área } (cm^2)$$

**Comprimento de Onda:** Como ocorre em toda energia luminosa, as partículas de LASER se propagam pelo espaço em formato de ondas. O comprimento de onda corresponde à distância entre duas sucessivas cristas ou

picos do feixe luminoso. Tal variável é mensurada em nanômetros (nm) e diverge entre duas fontes luminosas, conferindo-lhes características distintas (Figura 2). Quanto maior o comprimento de onda, menor a frequência de vibração da partícula luminosa. O comprimento de onda é um fator determinante para os efeitos fisiológicos produzidos pela LLLT, pois a especificidade de absorção para um determinado comprimento de onda determina quais os tipos de tecidos que irão absorver preferencialmente a radiação incidente, assim como a profundidade de penetração da mesma (ENWEMEKA, 2009).



**Figura 2.** Representação das características de propagação no espaço de dois feixes de luz com comprimentos de onda ( $\lambda$ ) distintos.

(Fonte: adaptado de ENWEMEKA, 2009)

### 1.5 Interação com o tecido biológico

Assim como ocorre com qualquer energia luminosa ao incidir sobre uma superfície, o LASER sofre reflexão, refração, transmissão e absorção por parte do tecido biológico (LOW e REED, 2001; LAAKSO et al., 1993a - 1993b). Ou seja, uma parte da luz que incide sobre o tecido é refletida pela camada externa, sem penetrar ou interagir com o mesmo. Outra parte, ao encontrar tecidos com diferentes índices de refração, altera sua velocidade e pode ser “desviada” de sua rota original. Outra parte da energia luminosa é transmitida através do tecido sem sofrer atenuação, como se ele fosse transparente. Enquanto outra porção é absorvida pelos componentes teciduais, o que resulta na transferência de energia para o tecido.

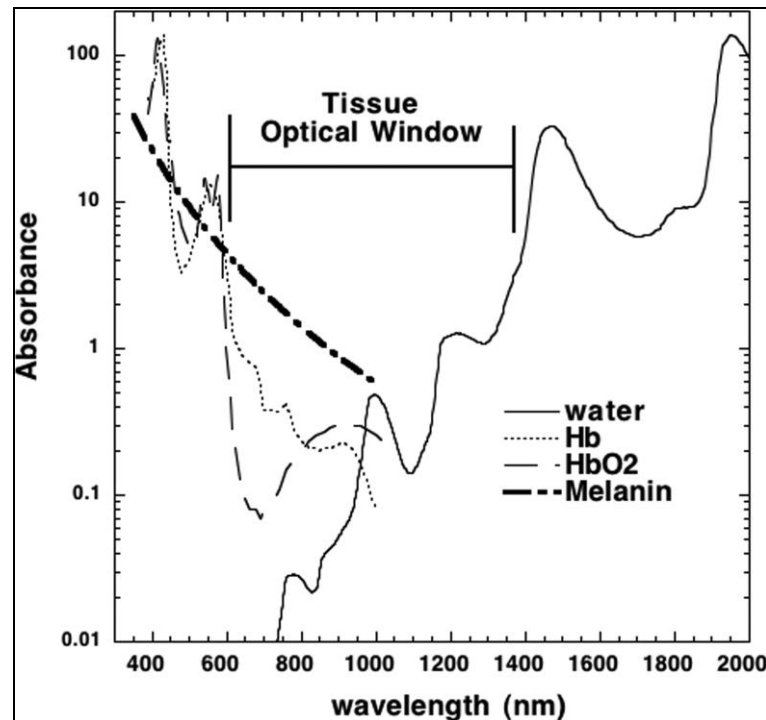
A absorção é a capacidade de uma biomolécula ser excitada pelos fótons incidentes. É o principal parâmetro na interação entre a energia luminosa e o tecido, pois dela depende a quantidade da energia entregue ao tecido biológico que provocará os efeitos esperados sobre o mesmo (KITCHEN e BAZIN, 1998; HUANG et al., 2009). Embora os mecanismos de ação da LLLT ainda não se encontrem completamente elucidados, as pesquisas recentes tem apontado para a absorção da energia luminosa por parte de cromóforos específicos na mitocôndria como evento chave para o desencadeamento de processos celulares responsáveis pelos efeitos terapêuticos nos tecidos tratados com a fototerapia (HUANG et al., 2009).

Sabe-se que o ângulo de incidência da luz no meio influencia nos índices de absorção, já que altera o percentual de reflexão e refração dos fótons incidentes. Assim, a aplicação em contato perpendicular do equipamento com a superfície da pele durante a irradiação permite que se atinjam maiores profundidades de tecido (BAXTER, 1997; LAAKSO et al., 1993b). Entretanto, a profundidade de penetração e a absorção da energia luminosa emitida por um equipamento de LLLT estão ligadas fundamentalmente a dois fatores: as características do tecido biológico e o comprimento de onda da luz (BASFORD, 1995).

Tendo em vista que os componentes teciduais apresentam uma grande variabilidade em relação ao índice refrativo, o que promove mudanças na direção de propagação do feixe, o grau relativo de absorção é dependente do tipo de tecido através do qual a luz é incidida (LOW e REED, 2001; KITCHEN e BAZIN, 1998; LAAKSO et al., 1993b; BAXTER, 1997). Além disso, características particulares de cada indivíduo (como a pigmentação da pele, por exemplo), influenciam a quantidade de energia que consegue atingir tecidos mais profundos (ENWEMEKA, 2009).

O comprimento de onda mais comumente utilizado na prática clínica da LLLT encontra-se dentro do intervalo espectral de 600 nm a 1200 nm. Estes comprimentos de onda compreendem a luz visível e a parte próxima do espectro infravermelho, em um intervalo conhecido como “janela óptica para tecidos biológicos”, onde a ação da LLLT é potencializada devido a maior absorção por parte do tecido (ENWEMEKA, 2005; HUANG et al., 2009). Como pode ser visualizado na Figura 3, esta faixa espectral permite que uma maior quantidade de energia luminosa atinja os tecidos biológicos de interesse, já que apresenta um

menor índice de absorção por parte dos demais elementos presentes nos tecidos, sobretudo nas camadas mais superficiais.



**Figura 3.** Comprimentos de onda que permitem uma maior absorção da energia luminosa por parte dos tecidos biológicos. (Fonte: HUANG et al., 2009)

Deve-se ter claro que um LASER infravermelho (904 nm, por exemplo), possuirá uma penetração mais profunda do que um laser vermelho (632 nm, por exemplo), devido aos aspectos relacionados à absorção apresentados na Figura 3. Entretanto, isto não significa que o LASER infravermelho não seja absorvido pelos tecidos mais superficiais. O que ocorre de fato é que, apesar da absorção de parte da energia nos tecidos superficiais, as ondas infravermelhas penetram adiante até os tecidos profundos, enquanto os fótons do LASER vermelho são absorvidos em sua maioria nas camadas superficiais (ENWEMEKA, 2009). Destas propriedades surgiu o conhecimento comum de que o LASER vermelho é mais indicado para lesões superficiais (feridas cutâneas, por exemplo) enquanto o LASER infravermelho é preferencialmente utilizado para lesões mais profundas. Entretanto, deve-se ter claro que a penetração de um feixe LASER está vinculada ao seu comprimento de

onda, sendo que dois LASERs igualmente infravermelhos podem possuir diferentes capacidades de penetração desde que possuam comprimentos de onda distintos.

## **1.6 Efeitos terapêuticos**

O princípio básico da LLLT é sua capacidade de alterar o comportamento celular através de efeitos atérmicos (SCHINDL et al., 2000), e sua ação terapêutica tem sido alvo de pesquisas desde a década de 60, quando Endre Mester lançou o conceito de efeito bioestimulatório, demonstrando pioneiramente os efeitos desta modalidade na aceleração da reparação tecidual de feridas cutâneas (MESTER, 1966). A bioestimulação LASER refere-se à aplicação de energia eletromagnética pela LLLT aos tecidos biológicos, influenciando as funções celulares e alterando atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas. Porém, devido ao efeito dose-dependente da LLLT, tanto a estimulação quanto a inibição são possíveis de acontecer (HUANG et al., 2009). Assim, hoje se utiliza o termo biomodulação, dividindo-se este conceito em bioestimulação e bioinibição (SHAFFER et al., 1997), assumindo a existência de uma dose ótima de ação estimulatória da LLLT, de modo que doses inferiores a este limiar nada provocam e doses excessivas promovem efeitos inibitórios.

Ao longo dos anos, inúmeros trabalhos têm relatado o efeito da fototerapia na cicatrização de feridas cutâneas (VASHEGHANI et al., 2009; MINATEL et al., 2009); na regeneração de tecidos tendinosos (ENWEMEKA e REDDY, 2000; OLIVEIRA et al., 2009), musculares (BIBIKOVA e ORON, 1994; CRESSONI et al., 2008) e nervosos (ROCHKIND et al., 2009; ROCHKIND, 2009); além da ação analgésica (BJORDAL et al., 2007; CHOW et al., 2009) e anti-inflamatória (LOPES-MARTINS et al., 2005; YAMAURA et al., 2009) desta modalidade terapêutica.

Com o crescente avanço no número de evidências acerca dos efeitos benéficos da LLLT, a literatura tem buscado estabelecer os parâmetros de tratamento mais adequados para as diferentes condições patológicas tratadas com esta modalidade. Nesse sentido, a WALT utilizou resultados de estudos científicos para a elaboração de tabelas normativas com parâmetros recomendados pela

instituição para o tratamento de condições inflamatórias específicas (artrites e tendinopatias). Tais recomendações incluem a utilização de equipamentos de LLLT de 780-860 nm ou 904 nm, e incluem a dosagem inicial a ser utilizada, o número de sessões semanais e a progressão do tratamento (WALT, 2010). Entretanto, uma série de condições de saúde frequentemente tratadas com a LLLT ainda carece da determinação de parâmetros de tratamento ideais ou, pelo menos, recomendados.

### **1.7 Fototerapia vs. fadiga muscular**

Recentemente, uma inovadora área de atuação da fototerapia vem recebendo atenção da comunidade científica: a aplicação desta modalidade terapêutica na prevenção da fadiga muscular. O termo fadiga é empregado para descrever o fenômeno caracterizado pela redução da capacidade muscular de produção de força. Apesar da expressiva literatura sobre o assunto, a fadiga não apresenta um consenso quanto aos seus mecanismos etiológicos, estando relacionada a uma série de fatores de origem central e periférica. Outros fatores que afetam a capacidade de produção de força durante a atividade muscular são as características, a intensidade e a duração do exercício. Também influenciam o sexo e a idade do indivíduo, bem como o seu nível de condicionamento físico e estado motivacional. Em suma, a fadiga muscular é um processo complexo e multifacetado, que envolve elementos fisiológicos, biomecânicos e psicológicos. A complexidade deste fenômeno torna também complexo o desenvolvimento de métodos para sua mensuração em laboratório, especialmente em estudos com humanos. Deste modo, pesquisadores têm se utilizado de manifestações indiretas, analisadas por meio de avaliações biomecânicas e fisiológicas, para mensurar o nível de fadiga muscular de um indivíduo. (CAIRNS et al., 2005; WEIR et al., 2006; ALLEN et al., 2008; FITTS, 2008; ENOKA e DUCHATEAU, 2008)

A utilização da LLLT com objetivo de redução dos sinais da fadiga muscular foi inicialmente relatada por Lopes-Martins et al. (2006). Os autores utilizaram um estudo em modelo animal para verificar o efeito do tratamento com LLLT sobre a fadiga muscular utilizando um equipamento de emissão na faixa vermelha do

espectro eletromagnético de 655 nm. O músculo tibial anterior dissecado de ratos foi submetido a um protocolo indutor de fadiga por repetidas contrações tetânicas por meio de estimulação elétrica. Os autores verificaram que doses específicas de LLLT promoveram um retardo no inevitável decréscimo da tensão gerada no decorrer do protocolo. Em estudo recente, Leal Junior et al. (2010a) obtiveram resultados semelhantes ao realizar um modelo experimental idêntico utilizando um equipamento infravermelho de 904 nm.

Quatro ensaios clínicos utilizaram atletas profissionais de voleibol e tentaram transportar estes efeitos para o modelo humano (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2009b-2010b). Os atletas foram submetidos a um protocolo de repetidos movimentos voluntários de flexo-extensão de cotovelo usando pesos livres. Em todos os estudos a aplicação da fototerapia foi realizada antes do protocolo de exercícios e observou-se que os voluntários realizaram um número significativamente superior de repetições ao serem tratados com um equipamento de emissão vermelha de 655 nm (LEAL JUNIOR et al., 2008), um de emissão infravermelha de 830 nm (LEAL JUNIOR et al., 2009a), um equipamento misto (660/850 nm) composto por 69 diodos de LED (LEAL JUNIOR et al., 2009b) ou um equipamento de emissão infravermelha (810 nm) composto por cinco diodos de LASER (LEAL JUNIOR et al., 2010b), em comparação à aplicação placebo.

Confrontando os positivos resultados supramencionados, Gorgey et al. (2008) realizaram um estudo piloto envolvendo aplicação de LLLT prévia a um protocolo de indução à fadiga por repetidas contrações de extensores do joelho estimuladas eletricamente. Os autores optaram por realizar aplicação de LLLT por meio de um laser *scanner* (808 nm) que percorreu a extensão do músculo quadríceps. Como resultado, não foi encontrada alteração alguma na queda percentual do pico de torque com o tratamento utilizando a fototerapia. Entretanto, os próprios autores acreditam que limitações relacionadas ao tamanho da amostra (cinco participantes) e/ou aos parâmetros de aplicação da terapia talvez possam ter influenciado os resultados obtidos.



## 1.8 Fototerapia vs. dano muscular

O dano muscular induzido pelo exercício consiste em um fenômeno provocado por determinados exercícios, sobretudo compostos por ações excêntricas, que provocam microlesões musculares, afetando a organização estrutural das unidades contráteis do músculo (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e ALLEN, 2005; BYRNE et al., 2004; CHEUNG et al., 2003). Esses danos em nível microscópico são capazes de afetar o funcionamento do músculo como um todo através da redução da capacidade de produção de força, alteração do comprimento ótimo de produção de força e aumento da tensão passiva (MORGAN e ALLEN, 1999; ALLEN, 2001; PROSKE e ALLEN, 2005; PROSKE e MORGAN, 2001). A dor muscular de início tardio (DMIT), o aumento de proteínas musculares no sangue, o edema e a resposta inflamatória também estão associados ao dano (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e MORGAN, 2001; CLARKSON e HUBAL, 2002; CHEUNG et al., 2003; PEAKE et al., 2005). Conseqüentemente, esses fatores levam à limitação da performance atlética (BYRNE et al., 2004) e aumento do risco de lesões (CHEUNG et al., 2003).

Estudos em modelo animal têm comprovado o efeito terapêutico da LLLT sobre o dano muscular induzido pelo exercício. A fototerapia foi capaz de reduzir o incremento da atividade enzimática da creatina kinase (CK) induzido pelo protocolo de estimulação elétrica no músculo isolado de ratos utilizado nos estudos de Lopes-Martins et al. (2006) e Leal Junior et al. (2010a). Sussai et al. (2010) verificaram um menor incremento da CK e redução do índice de apoptose ao aplicar a fototerapia (660 nm) no músculo gastrocnêmio de ratos submetidos a um protocolo de exercício extenuante em meio líquido. Liu et al. (2009) realizaram aplicação de LLLT (632,8 nm) no gastrocnêmio de ratos após o exercício excêntrico em esteira declinada e encontraram redução dos níveis de dano (mensurada por CK) e de peroxidação lipídica (mensurada através de malodialdeído), além de aumento da atividade antioxidante (mensurada através de superóxido dismutase). Além disso, Liu et al. (2009) também demonstraram por meio de análises histológicas a preservação da integridade estrutural das fibras e a presença reduzida de infiltrado inflamatório nos músculos tratados com LLLT.

Em humanos, Douris et al. (2006) aplicaram uma sessão diária de fototerapia nos cinco dias subseqüentes ao exercício excêntrico de flexores de cotovelo.

Embora não tenham observado diferenças em relação ao edema (avaliado pela perimetria de membros) e à rigidez muscular (avaliada pelo ângulo articular do cotovelo relaxado), os autores observaram menores índices de DMIT 48 horas após o exercício tanto na avaliação com escala visual analógica quanto com o questionário de McGill. Em contrapartida, Craig et al. (1999), também utilizando o exercício excêntrico de flexores de cotovelo para indução do dano, não encontraram resultados favoráveis após sete sessões de tratamento com fototerapia sobre a DMIT, a amplitude de movimento articular e a rigidez muscular.

Diferentemente dos estudos supracitados que utilizaram a fototerapia após o exercício causador de dano, Leal Junior et al. (2009b-2009c) desenvolveram estudos no qual o tratamento com um equipamento misto (35 diodos de 850 nm; 34 diodos de 660 nm) foi administrado previamente ao exercício. Apesar de estes trabalhos terem sido focados nos efeitos da fototerapia sobre a fadiga, demonstraram o efeito protetor da fototerapia também sobre o dano muscular (mensurado pela atividade da CK) imediatamente após o exercício, tanto diante de um protocolo de exercício de membros superiores utilizando pesos livres (LEAL JUNIOR et al., 2009b) quanto em um protocolo de exercício em ciclo-ergômetro (LEAL JUNIOR et al., 2009c).

## CAPÍTULO II

### EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO CONCÊNTRICO SOBRE A FADIGA MUSCULAR

*Baroni BM, Leal Junior ECP, Geremia JM, Diefenthaler F, Vaz MA. Effect of Light Emitting Diodes Therapy (LEDT) on Knee Extensor Muscle Fatigue. **Photomedicine and Laser Surgery** 2010. (Anexo A)*

#### 2.1 Introdução

A fadiga muscular é um processo complexo, cujos mecanismos não se encontram totalmente estabelecidos. De qualquer forma, a manifestação mais comum relacionada à fadiga muscular consiste no prejuízo à funcionalidade do músculo, traduzida na prática pelo decréscimo da capacidade de produção de força. Este fenômeno é dependente das características, da intensidade e da duração do exercício, bem como da idade, do sexo, da motivação e da adaptação do indivíduo à tarefa motora requisitada. Assim, comumente a fadiga muscular é referida como um processo multifacetado que é influenciado por elementos fisiológicos, biomecânicos e psicológicos (CAIRNS et al., 2005; SZUBSKI et al., 2007; ALLEN et al., 2008; FITTS, 2008; ENOKA e DUCHATEAU, 2008).

A prevenção ou retardo do processo de fadiga muscular através da fototerapia é um assunto relativamente novo na área da fisiologia do exercício, de modo que os parâmetros ideais na utilização deste tipo de tratamento para esta finalidade ainda não se encontram devidamente estabelecidos. Um estudo pioneiro demonstrou que a utilização da laserterapia de baixa intensidade (*low level laser therapy* - LLLT) com comprimento de onda de 655 nm foi capaz de amenizar o inevitável declínio na tensão máxima gerada por músculos dissecados de ratos durante um protocolo de repetidas contrações tetânicas estimuladas eletricamente (LOPES-MARTINS et al., 2006). Este estudo teve seus resultados corroborados em um trabalho que reproduziu o mesmo modelo experimental utilizando a LLLT com

904 nm (LEAL JUNIOR et al., 2010a). Em humanos, estudos demonstraram que atletas profissionais de voleibol submetidos a movimentos seqüenciais de flexo-extensão de cotovelo utilizando pesos livres foram capazes de realizar um número significativamente superior de repetições antes da exaustão quando previamente tratados com fototerapia na faixa vermelha (655 nm) (LEAL JUNIOR et al., 2008) e infravermelha (830 nm) (LEAL JUNIOR et al., 2009a) do espectro eletromagnético.

Uma limitação destes estudos experimentais que utilizaram um equipamento convencional de aplicação em forma de “caneta” (*probe* simples de um único diodo) na administração da fototerapia (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a) é que este tipo de equipamento permite somente o tratamento de uma pequena área muscular por ponto de aplicação. Esta limitação leva a uma necessidade de elevado tempo de tratamento para a cobertura de uma área considerável do músculo. Logo, quando se deseja tratar um músculo ou grupamento muscular de grande superfície, um equipamento que cubra uma área de irradiação maior parece ser mais efetivo, conforme demonstrado por trabalhos subsequentes do mesmo grupo de pesquisa que utilizaram o mesmo modelo experimental com atletas de voleibol e obtiveram resultados positivos utilizando equipamentos do tipo *cluster* com comprimento de onda misto (660/850 nm) (LEAL JUNIOR et al., 2009b) e infravermelho (810 nm) (LEAL JUNIOR et al., 2010b).

O equipamento comercialmente conhecido como *cluster* trata-se de um artefato que emite diversos raios de fototerapia simultaneamente. Os equipamentos emissores da chamada *light emitting diodes therapy* (LEDT), como o utilizado por Leal Junior et al. (2009b), possuem menor custo de fabricação e possuem áreas de irradiação maiores do que diodos de LLLT. A principal diferença entre as fontes de luz, é que a energia luminosa gerada por fontes de LEDT aparentemente possui uma menor capacidade de manutenção da uniformidade do comprimento de onda, apresentando pequenas variações no comprimento de onda dos fótons emitidos. Por outro lado, os efeitos terapêuticos atribuídos à luz monocromática parecem estar mais relacionados à faixa espectral determinada pelo comprimento de onda e a dose empregada no tratamento do que à natureza da fonte emissora da luz (ENWEMEKA, 2005).

Apesar de o protocolo experimental utilizando pesos livres dos estudos supracitados possuir uma interessante abordagem clínica (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2009b-2010b), a impossibilidade de controle da velocidade angular de

realização do movimento pode ser apontada como uma limitação destes trabalhos. Sabe-se que a velocidade de encurtamento de um músculo é um aspecto fundamental que afeta significativamente a capacidade de produção de força (HILL, 1938). Sendo assim, a velocidade de execução de uma tarefa motora afeta consideravelmente, também, o desenvolvimento da fadiga muscular. Por essa razão, equipamentos de dinamometria isocinética, que permitem a execução de movimentos em velocidades angulares controladas, são considerados a ferramenta padrão ouro na mensuração do desempenho muscular (BROWN, 2000). Estes equipamentos permitem a quantificação mecânica da fadiga, normalmente, pela verificação da queda dos valores de torque isométrico máximo gerado antes e após o exercício fatigante (CAIRNS et al., 2005).

De acordo com o nosso conhecimento, até o momento existe somente um estudo piloto que utilizou avaliações de dinamometria isocinética para verificar o efeito da LLLT sobre a fadiga muscular de quadríceps induzida através de estimulação elétrica (GORGEY et al., 2008). Utilizando uma amostra de apenas cinco indivíduos, este trabalho demonstrou não haver alteração na produção de torque extensor de joelho através do tratamento com LLLT, sugerindo que a fototerapia seria ineficaz na atenuação dos efeitos do processo de fadiga muscular.

Assim, o propósito do presente estudo foi avaliar os efeitos da fototerapia utilizando um equipamento de LEDT do tipo *cluster* com comprimento de onda misto (34 diodos de 660 nm; 35 diodos de 850 nm) imediatamente antes de um protocolo de exercício concêntrico em dinamômetro isocinético sobre a fadiga muscular induzida pelo exercício, avaliada pela queda da capacidade de geração de torque isométrico voluntário máximo.

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Amostra**

O tamanho da amostra foi determinado com base nos seguintes argumentos: (1) uma amostra de 21 sujeitos foi utilizada por um estudo que utilizou protocolo isocinético indutor de fadiga idêntico (PINCIVERO et al., 1997), tendo reportado altos coeficientes de correlação intra-classe entre teste e re-teste; (2) de acordo com o nosso conhecimento, os experimentos conduzidos com humanos envolvendo

fototerapia e fadiga utilizaram amostras entre cinco e 12 participantes (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2009b-2010b; GORGEY et al., 2008). Deste modo, foi inicialmente determinada uma amostra de 20 indivíduos. Estes sujeitos foram incluídos no estudo de acordo com os seguintes critérios: (1) voluntários do sexo masculino entre 18 e 35 anos; (2) indivíduos saudáveis e fisicamente ativos, com relato de prática de exercícios de pelo menos três vezes semanais; (3) indivíduos sem qualquer lesão musculoesquelética em membros inferiores em um período de 30 dias prévios à coleta de dados; (4) indivíduos capazes de realizar o protocolo de fadiga de maneira satisfatória, de modo que o pico de torque máximo fosse atingido entre as cinco primeiras repetições e fosse observado decréscimo gradual do pico de torque ao longo das repetições subsequentes.

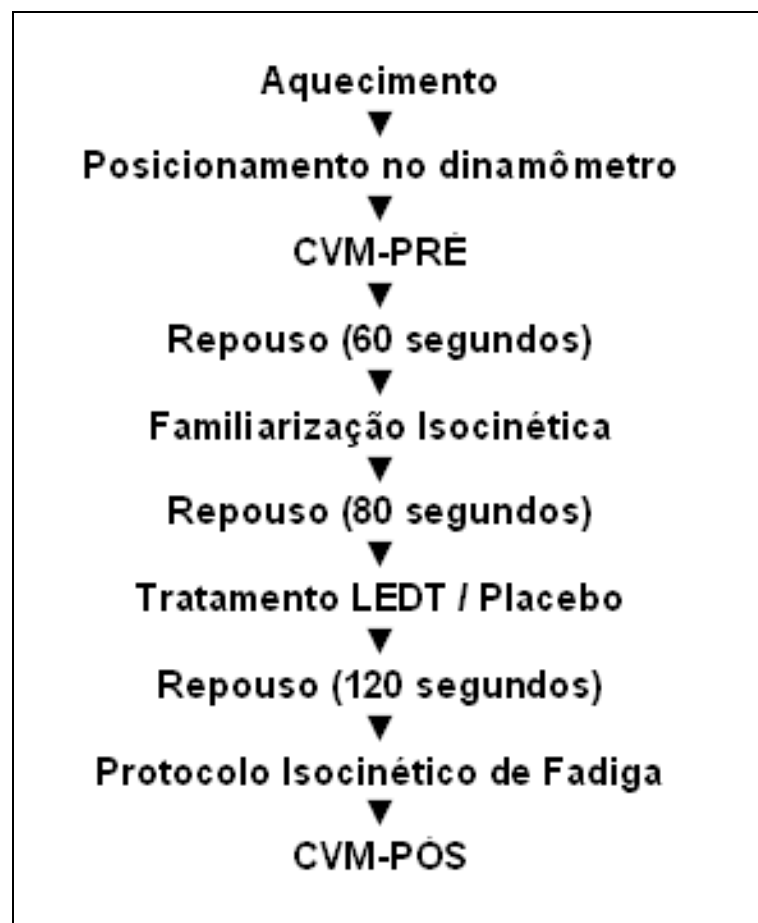
### ***2.2.2 Desenho experimental***

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (protocolo 2008020) e é caracterizado como um ensaio clínico cruzado, randomizado, duplo-cego e placebo-controlado para verificar o efeito do tratamento com fototerapia imediatamente antes do exercício sobre a fadiga muscular. Previamente à coleta de dados, os voluntários foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos (A e B). Aos integrantes do grupo A, tratamento LEDT foi aplicado na primeira sessão e tratamento placebo na segunda sessão. A ordem inversa dos tratamentos foi empregada aos integrantes do grupo B.

A randomização dos voluntários em grupos foi realizada por um técnico responsável pela administração dos tratamentos LEDT e placebo. Este técnico foi instruído a não comunicar aos participantes ou aos pesquisadores responsáveis pela coleta de dados no dinamômetro isocinético o tratamento aplicado em cada sessão. Os voluntários foram vendados durante os tratamentos LEDT e placebo, os quais não provocaram qualquer estímulo térmico aos voluntários. Os pesquisadores responsáveis pelas avaliações no dinamômetro mantiveram-se ausentes durante a administração dos tratamentos. Assim, o tratamento recebido por cada sujeito em cada sessão foi mantido em sigilo do próprio sujeito e dos demais pesquisadores.

### 2.2.3 Procedimentos

Cada voluntário realizou duas visitas ao laboratório, intervaladas por um período mínimo de 72 horas. Os voluntários foram submetidos ao mesmo protocolo de avaliação nestas duas sessões, havendo diferença somente na aplicação do tratamento LEDT ou placebo. Um fluxograma é apresentado na Figura 4 com a finalidade de facilitar a visualização da seqüência de procedimentos realizados em cada sessão. Informações acerca dos procedimentos e do exercício isocinético indutor de fadiga foram fornecidas aos avaliados e todas as questões devidamente respondidas antes do início do protocolo de testes. Após a realização de cinco minutos de aquecimento em ciclo-ergômetro com cadência média de 80 rpm e carga estabelecida pelos próprios voluntários, os mesmos foram devidamente posicionados no dinamômetro isocinético Biodex System 3 Pro (Biodex Medical System, Shirley - NY, EUA – Figura 5), seguindo as recomendações do fabricante para avaliações do movimento de flexo-extensão do joelho dominante, onde foi realizada a seqüência dos procedimentos de avaliação.



**Figura 4.** Fluxograma de procedimentos adotados pelo estudo.



**Figura 5.** Dinamômetro Isocinético *Biodex System 3 Pro*.

(Fonte: <http://www.biodex.com>)

***Avaliação da função muscular:*** Na primeira parte do protocolo, a capacidade máxima de geração de torque isométrico de extensores do joelho foi determinada através de três contrações voluntárias máximas (CVMs) realizadas no ângulo de 60° de flexão de joelho (0° = extensão total de joelho). Cada CVM teve duração de cinco segundos, e um período de repouso de dois minutos foi observado entre as contrações para minimizar possíveis efeitos da fadiga. Os sujeitos foram instruídos a realizar o máximo esforço em cada CVM, além de estimulados verbalmente de forma padronizada durante todas as contrações. O mais alto valor de torque isométrico obtido durante as três CVMs foi considerado a capacidade máxima de geração de força de extensores de joelho pré-exercício (CVM-PRÉ).

Após completar o protocolo de exercício concêntrico indutor de fadiga (ver *Protocolo de indução à fadiga*), o dinamômetro posicionou o membro inferior no ângulo de 60° de flexão de joelho e, aproximadamente 10 segundos após o término do exercício, uma nova CVM de extensores de joelho foi realizada por cinco segundos. O valor de pico de torque desta CVM foi considerado a capacidade máxima de produção de força de extensores de joelho após o exercício (CVM-PÓS).

***Tratamento LEDT e placebo:*** Em cada sessão os participantes receberam um único tratamento, LEDT ou placebo, de acordo com o procedimento de



randomização. Ambos tratamentos foram administrados por meio do equipamento *Thor DD2 Control Unit* (Thor<sup>®</sup>, London, United Kingdom – Figura 6) acoplado ao *LED multi-diode cluster probe* (34 diodos vermelhos de 660nm e 35 diodos infravermelhos de 850 nm – Figura 7) de mesma marca e procedência.

Os parâmetros adotados em relação à administração da LEDT encontram-se sumarizados no Quadro 1, e foram adaptados do estudo de Leal Junior et al. (2009c), com detalhe ao fato de que optamos por utilizar três pontos de aplicação ao invés de dois, objetivando oferecer tratamento a uma área maior do quadríceps. O ventre central do músculo reto femoral e o ponto mais proeminente dos músculos vasto medial e vasto lateral foram definidos através da técnica de palpação e marcados com lápis dermatográfico para posterior aplicação de tratamento LEDT ou placebo (Figura 8). O tratamento foi iniciado 80 segundos após o término do protocolo de familiarização e foram aplicados 30 segundos de terapia em cada ponto. Uma vez que entre um ponto e outro se fazia necessário cerca de cinco segundos para reposicionamento do *cluster*, a sessão de tratamento teve duração de aproximadamente 100 segundos. Assim, 41,7 J de energia foram aplicados em cada ponto, totalizando uma dose de 125,1 J para o músculo quadríceps. O tratamento placebo foi realizado exatamente da mesma forma que o tratamento LEDT, entretanto, com o equipamento desligado.



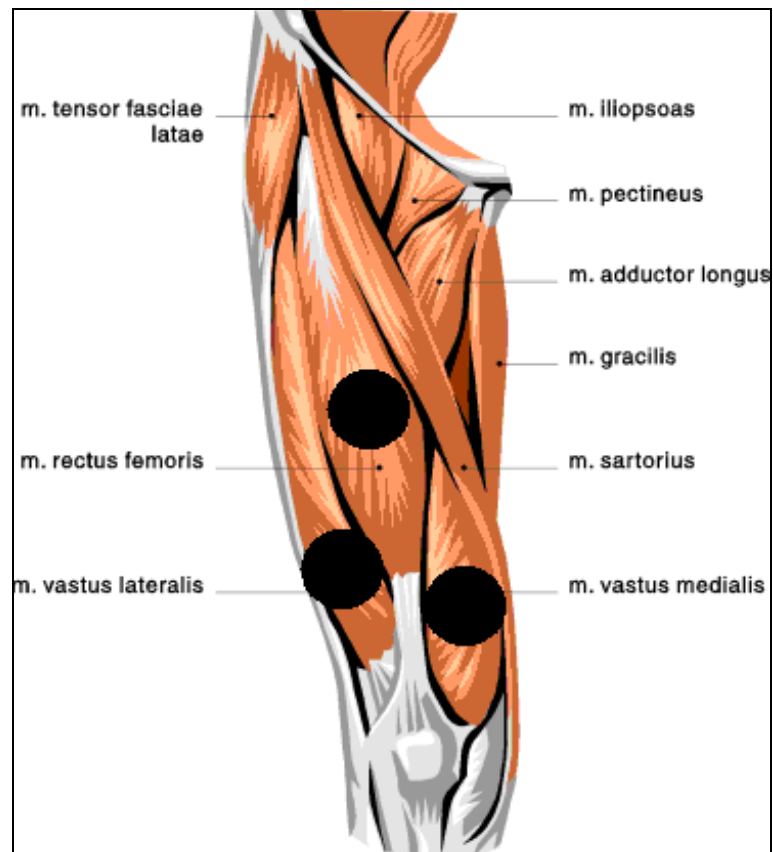
**Figura 6.** Equipamento *THOR DD2 Control Unit*.

(Fonte: <http://www.thorlaser.com>)



**Figura 7.** Equipamento *Thor LED multi-diode cluster probe*.

(Fonte: [www.thorlaser.com](http://www.thorlaser.com))



**Figura 8.** Pontos de aplicação (círculos pretos) utilizados nos tratamentos LEDT e placebo nos músculos extensores de joelho.

**Quadro 1.** Parâmetros de aplicação do tratamento LEDT.

<b>Número de diodos:</b>	34 diodos vermelhos 35 diodos infravermelhos
<b>Comprimento de onda:</b>	• 660 nm (vermelhos) • 850 nm (infravermelhos)
<b>Frequência:</b>	modo contínuo
<b>Diâmetro do diodo:</b>	0,2 cm <sup>2</sup> (vermelhos e infravermelhos)
<b>Potência de saída:</b>	• 10 mW (vermelhos) • 30 mW (infravermelhos)
<b>Densidade de potência:</b>	• 0,05 W/cm <sup>2</sup> (vermelhos) • 0,15 W/cm <sup>2</sup> (infravermelhos)
<b>Energia (dose):</b>	41,7 J em cada ponto • 10,2 J; 0,2 J cada diodo (vermelhos) • 31,5 J; 0,9 J cada diodo (infravermelhos)
<b>Densidade de energia:</b>	• 1,5 J/cm <sup>2</sup> em cada ponto (vermelhos) • 4,5 J/cm <sup>2</sup> em cada ponto (infravermelhos)
<b>Tempo de tratamento:</b>	30 segundos em cada ponto
<b>Número de pontos:</b>	3
<b>Energia (dose) total:</b>	125,1 J

**Protocolo de indução à fadiga:** Após a terceira CVM foi respeitado um período de 60 segundos de repouso. Em seguida, os voluntários realizaram um protocolo de familiarização ao exercício isocinético. Este protocolo consistiu de cinco repetições voluntárias sub-máximas de flexo-extensão de joelho no modo concêntrico a uma velocidade angular de 180°·s<sup>-1</sup> com uma amplitude de movimento igual a 90°. Após a familiarização, os sujeitos permaneceram em repouso por 80

segundos até o início do tratamento LEDT ou placebo ser conduzido pelo técnico responsável, conforme descrito anteriormente em *Tratamento LEDT e placebo*.

Dois minutos após o término do tratamento LEDT ou placebo foi iniciado o protocolo de fadiga. Este protocolo consistiu de 30 repetições máximas de flexo-extensão do joelho no modo concêntrico a uma velocidade angular de  $180^{\circ}\cdot s^{-1}$  e amplitude de movimento de  $90^{\circ}$  (PINCIVERO et al., 1997). Todos os participantes foram instruídos a realizar o exercício na maior intensidade possível desde a primeira repetição, e estímulo verbal foi fornecido aos sujeitos durante todo o protocolo de indução à fadiga.

#### **2.2.4 Análise Estatística**

Os seguintes parâmetros obtidos na execução do protocolo de fadiga foram considerados para a análise estatística: (1) Pico de Torque, definido como o máximo valor de torque extensor de joelho atingido durante o protocolo de fadiga, ocorrendo sempre entre a primeira e a quinta repetição (expresso em Nm); (2) Pico de Torque Médio, calculado através do valor médio de pico de torque ao longo das 30 repetições; (4) Potência Média, calculada através da média dos valores de potência de extensores de joelho de todas as repetições do protocolo de fadiga (expressa em Watts); (5) Trabalho Total, calculado através da soma do trabalho de extensores de joelho realizada em cada repetição do protocolo de fadiga (expressa em Joules); e (6) Índice de Fadiga, definido como o declínio percentual do trabalho de extensores do joelho, e calculado pela divisão do trabalho realizado no último terço (últimas 10 repetições) pelo trabalho no primeiro terço (primeiras 10 repetições) do protocolo de fadiga. A comparação entre os tratamentos LEDT e placebo foi realizada através de um *student t-test* para amostras pareadas.

Os valores absolutos de torque isométrico máximo obtidos na CVM-PRÉ e CVM-PÓS foram comparados através de uma *Two Way ANOVA* (tratamento x momento). Após confirmação da interação tratamento-momento, uma *Repeated Measures ANOVA* seguida do *post-hoc* LSD foi utilizada para identificar as diferenças existentes.

Também foi analisada variação percentual do torque entre a CVM-PRÉ (considerada como 100%) e a CVM-PÓS, realizando-se a comparação entre as variações observadas nos tratamentos LEDT e placebo através de um *student t-test* para amostras pareadas.

Toda a análise estatística foi realizada no *software SPSS 13.0* utilizando um nível de significância de  $p < 0,05$ . Os valores são apresentados no texto e nas tabelas em média  $\pm$  desvio padrão, e nas figuras em média  $\pm$  erro padrão.

## 2.3 Resultados

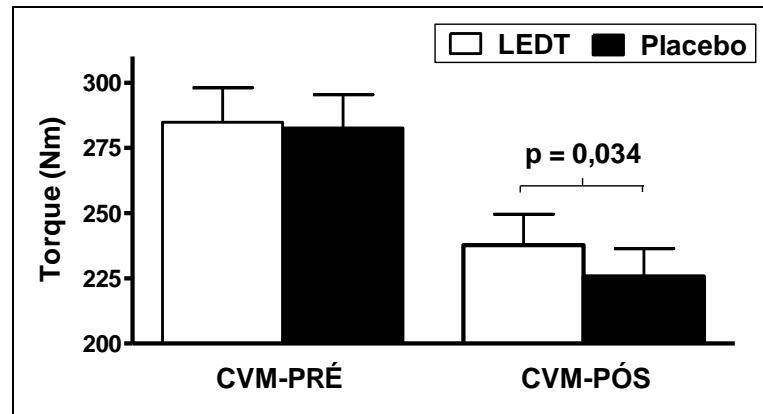
Três voluntários tiveram de ser excluídos da amostra: um sujeito não pode realizar a segunda sessão devido a uma lesão musculoesquelética (critério de inclusão número 3); e dois sujeitos não apresentaram um desempenho satisfatório durante o protocolo de fadiga em alguma das duas sessões de avaliação (critério de inclusão número 4). Assim, a amostra final analisada pelo presente estudo foi de 17 voluntários com média de idade de  $26,29 \pm 4,33$  anos,  $75,24 \pm 6,34$  kg de massa corporal e  $1,78 \pm 0,05$  m de altura.

**Tabela 1.** Desempenho dos músculos extensores de joelho dos sujeitos no protocolo de exercício concêntrico indutor de fadiga após os tratamentos LEDT e placebo.

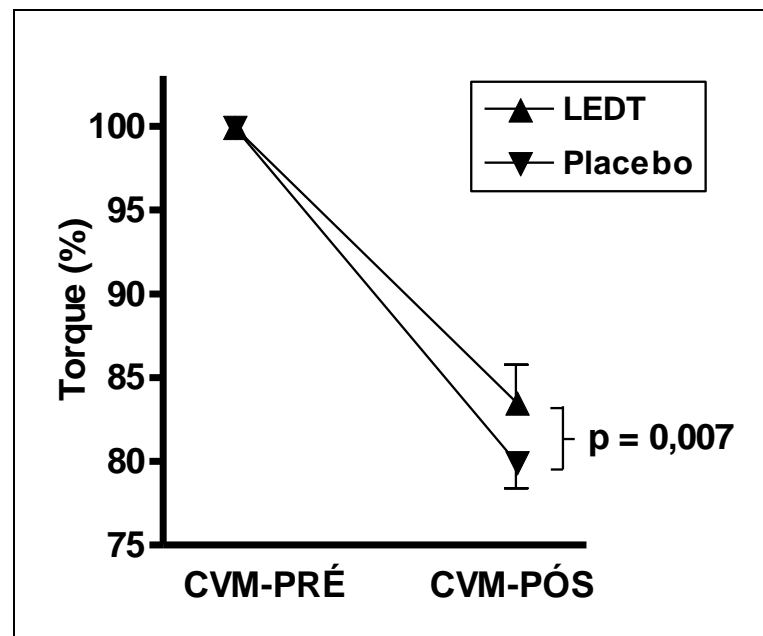
	LEDT	Placebo	"p"
Pico de Torque (Nm)	$153,62 \pm 27,11$	$156,00 \pm 27,01$	0,231
Pico de Torque Médio (Nm)	$114,51 \pm 16,54$	$114,02 \pm 15,73$	0,648
Potência Média (W)	$216,62 \pm 32,46$	$210,77 \pm 41,86$	0,397
Trabalho Total (J)	$4113,25 \pm 677,31$	$4205,19 \pm 746,15$	0,182
Índice de Fadiga (%)	$47,17 \pm 8,38$	$49,18 \pm 5,06$	0,140

Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos LEDT e placebo em nenhum dos parâmetros de desempenho obtidos no protocolo de fadiga (Tabela 1). Além disso, não foi verificada diferença ( $p = 0,675$ ) nos valores basais de torque (CVM-PRÉ) entre o tratamento LEDT ( $284,81 \pm 54,52$  Nm) e placebo ( $282,65 \pm 53,64$  Nm). O protocolo de fadiga levou a um significativo decréscimo ( $p < 0,001$ ) do torque isométrico máximo em ambos os tratamentos. Entretanto, maiores valores de torque ( $p = 0,034$ ) foram observados na CVM-PÓS no tratamento fototerapia ( $237,68 \pm 48,82$  Nm) comparado ao tratamento placebo ( $225,68 \pm 44,14$  Nm) (Figura 9).

Da mesma forma, o tratamento LEDT levou a um decréscimo percentual de torque isométrico máximo ( $16,45 \pm 9,12\%$ ) significativamente inferior ( $p=0,007$ ) ao decréscimo observado com o tratamento placebo ( $20,02 \pm 6,51\%$ ), conforme ilustrado na Figura 10.



**Figura 9.** Valores absolutos de torque isométrico máximo antes (CVM-PRÉ) e depois (CVM-PÓS) do protocolo de fadiga.



**Figura 10.** Queda percentual do torque isométrico máximo após o protocolo de fadiga com os tratamentos LEDT e placebo.

## 2.4 Discussão

A similaridade nos resultados referentes ao desempenho no protocolo de fadiga nas duas sessões (Tabela 1) demonstra que o desempenho dos voluntários foi semelhante nos dois testes, ou seja, o desenho cruzado do estudo foi justificado e não houve qualquer efeito de treinamento e/ou aprendizagem entre a primeira e a segunda sessão. Além disso, a similaridade nos valores de CVM-PRÉ nos tratamentos LEDT e placebo (Figura 9) demonstra que os voluntários possuíam a mesma capacidade de produção de força em condição basal nas duas sessões do experimento. Em outras palavras, os sujeitos se apresentaram para as duas sessões com capacidades semelhantes de geração de torque isométrico máximo de extensores de joelho e realizaram os dois testes em uma intensidade similar. Logo, qualquer diferença encontrada nos valores de CVM-PÓS não pode ser atribuída a eventuais diferenças basais ou de desempenho nas duas condições experimentais.

A diferença nos valores de CVM-PÓS entre os tratamentos LEDT e placebo demonstra o efeito da fototerapia sobre o torque isométrico máximo de extensores de joelho após o exercício. Mais especificamente, o fato de o valor de CVM-PÓS com o tratamento placebo ter sido menor do que com a LEDT é uma evidência de preservação da capacidade máxima de produção de força em um comprimento muscular específico (correspondente a 60° de flexão de joelho) por parte da fototerapia. Objetivamente, enquanto no tratamento LEDT o torque isométrico máximo decaiu cerca de 16%, o tratamento placebo levou a uma queda de aproximadamente 20% (Figura 10). Estes resultados demonstram que a aplicação da fototerapia antes de um protocolo de exercício concêntrico de alta intensidade em dinamômetro isocinético incrementou o desempenho isométrico após o exercício, concordando com estudos prévios que relatam a prevenção da fadiga através do tratamento com LLLT (LOPES-MARTINS et al., 2006; LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2010a-2010b) e com LEDT (LEAL JUNIOR et al., 2009b).

O uso da fototerapia para prevenir a fadiga muscular foi reportada pela primeira vez por Lopes-Martins et al. (2006). Estes autores realizaram um protocolo de repetidas contrações tetânicas estimuladas eletricamente no músculo tibial anterior dissecado de ratos previamente irradiados com diferentes doses de LLLT (0,5 J/cm<sup>2</sup>; 1,0 J/cm<sup>2</sup>; 2,5 J/cm<sup>2</sup>; e controle) usando um equipamento operando na faixa vermelha do espectro (655 nm) e potência de saída de 2,5 mW. Os resultados

do estudo de Lopes-Martins et al. (2006) demonstraram que a fototerapia promoveu um efeito de atenuação no inevitável declínio gradual do pico de força a cada contração, decorrente do processo de fadiga. Ainda, reportaram que doses específicas de LLLT foram capazes de reduzir o dano muscular, mensurado através dos níveis de CK. Este estudo teve seus resultados corroborados em um trabalho que reproduziu o mesmo modelo experimental utilizando a LLLT com 904 nm (LEAL JUNIOR et al., 2010a).

Utilizando um equipamento operando com o mesmo comprimento de onda do estudo de Lopes-Martins et al. (2006), Leal Junior et al. (2008) aplicaram 5 J em cada um dos quatro pontos ao longo do ventre muscular do bíceps umeral (50 mW de potência de saída; 20 J de energia total concedida) de 12 atletas profissionais de voleibol do sexo masculino, posteriormente submetidos a um protocolo de repetidos movimentos voluntários de flexo-extensão de cotovelo utilizando pesos livres até a exaustão. Um incremento significativo foi observado no número total de repetições realizadas após o tratamento com fototerapia. Estes resultados foram corroborados por experimento subseqüentes do mesmo grupo, nos quais os pesquisadores utilizaram LLLT infravermelha com um *probe* simples de 830 nm (100 mW; 5 J em cada um dos quatro pontos; 20 J de energia total concedida) (LEAL JUNIOR et al., 2009a) e *cluster* de cinco diodos de 810 nm (200 mW; 30 J em cada um dos dois pontos de aplicação; 60 J de energia total concedida).

O modelo experimental com atletas de voleibol foi utilizado em um quarto estudo (LEAL JUNIOR et al., 2009b), agora utilizando um único ponto de aplicação através do mesmo *LED multi-diode cluster probe* do presente estudo (660/850 nm; 10/30mW; 41,7 J de energia total concedida). Os resultados demonstraram novamente efeitos positivos sobre o desempenho (maior número de repetições executadas), assim como um menor incremento nas concentrações de lactato sanguíneo e um efeito protetor da LEDT sobre o dano muscular (mensurado através dos níveis de CK), similar ao que fora observado em estudo envolvendo exercício de alta intensidade em ciclo-ergômetro (LEAL JUNIOR et al., 2009c). Estes achados reforçam as premissas defendidas por Enwemeka (2005) de que os efeitos terapêuticos da luz monocromática estão mais relacionados ao comprimento de onda (a chamada “janela óptica para tecidos biológicos”, entre 600-1000 nm) e à dose aplicada do que à fonte emissora da energia luminosa (LASER ou LED, por exemplo).



De acordo com o nosso conhecimento, até o momento existe somente um estudo piloto publicado envolvendo o tratamento com fototerapia e a avaliação da fadiga muscular através da dinamometria isocinética (GORGEY et al., 2008), no qual apenas cinco voluntários foram induzidos à fadiga do músculo quadríceps através de estimulação elétrica. Os autores optaram por utilizar um método de aplicação *scanner* (808 nm; 500 mW), no qual o músculo foi tratado por 5 e 10 minutos, recebendo as respectivas doses de 3 J e 7 J. Os resultados reportados por Gorgey et al. (2008) não mostram diferenças no decréscimo do pico de torque entre a LLLT e a situação controle. A ausência de efeitos da fototerapia talvez possa ser justificada pelos parâmetros de tratamento utilizados, cuja dose total transmitida ao músculo foi consideravelmente inferior à dose do presente estudo e dos demais estudos com humanos na área (LEAL JUNIOR et al., 2008-2009a-2009b-2009c). Além disso, a aplicação através do método *scanner* leva a um possível tempo de interação insuficiente entre a energia luminosa e o tecido. A técnica de aplicação sem contato entre o aparelho e a pele também pode ter promovido uma maior reflexão da energia irradiada e, conseqüentemente, uma menor quantidade de penetração fóptica na pele e tecidos subjacentes (ENWEMEKA, 2009).

Apesar de apresentar resultados promissores em termos de aplicabilidade prática, o presente estudo não oferece subsídios para diagnosticar os mecanismos fisiológicos que expliquem os resultados de prevenção da fadiga pelo tratamento LEDT. No entanto, as propriedades de interação entre luz e tecido biológico, com os consequentes fenômenos gerados por esta interação, parecem estar na gênese dos efeitos da fototerapia. Assim, destacamos como possíveis mecanismos de ação para explicar a prevenção da fadiga os efeitos da fototerapia sobre o funcionamento da mitocôndria celular.

A interação entre LLLT e mitocôndria tem sido foco de uma série de estudos, os quais têm evidenciado um efeito de estimulação que promove incremento da capacidade mitocondrial de produção de adenosina trifosfato (ATP) (KARU et al., 1995; ORON et al., 2007; SILVEIRA et al., 2009). Manteifel et al. (1997) verificaram, através da análise tri-dimensional de linfócitos humanos, a presença de mitocôndrias gigantes após irradiação com fototerapia, mitocôndrias estas capazes de produzir elevadas concentrações de ATP. Estudos em modelo animal também têm apresentado evidências da efetividade da LLLT na redução do estresse oxidativo (FILLIPIN et al., 2005; AVNI et al., 2005; RIZZI et al., 2006). Este fenômeno consiste

em uma série de danos ao organismo causados pelo desequilíbrio entre agentes pró-oxidantes e anti-oxidantes, o qual pode ocorrer devido a um incremento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou decréscimo da capacidade anti-oxidante celular (RADÁK et al., 1999), estando intimamente relacionada à queda do desempenho muscular (ESSIG e NOSEK, 1997; ALESSIO et al., 2000). Em um experimento envolvendo estimulação elétrica em cultura de células musculares de ratos, Xu et al. (2008) verificaram que a fototerapia reduziu significativamente a produção de ERO e restaurou a função mitocondrial. Os autores sugerem, ainda, que a fototerapia é um tratamento inovador e não-invasivo na prevenção da fadiga e dano muscular induzidos pelo exercício, assim como outros processos em que a função mitocondrial tenha papel chave. Estas evidências suportam a hipótese de que o mecanismo chave da prevenção da fadiga através da fototerapia esteja em nível mitocondrial, especialmente relacionada ao aumento na síntese de ATP e redução do estresse oxidativo.

Embora nossos resultados apresentem evidências da redução da fadiga do músculo quadríceps após tratamento com LEDT, é necessária cautela quanto a generalização dos achados. Uma observação interessante é que três dos 17 participantes não apresentaram qualquer evidência mecânica de redução da fadiga com a fototerapia. É possível que fatores externos, não relacionados à administração de LEDT ou placebo, tenham contribuído para estes resultados. Porém, uma resposta individualizada para com este tipo de terapia é uma hipótese que não pode ser descartada. Assim, acreditamos que o monitoramento de alguns marcadores bioquímicos da função muscular pode ajudar estudos futuros a determinar com maior exatidão os mecanismos envolvidos na prevenção da fadiga pela fototerapia. Da mesma forma, um controle mais rigoroso das atividades físicas (esportivas, recreativas e/ou laborais) realizadas previamente a cada sessão de testes, assim como uma sessão preliminar de familiarização ao protocolo de fadiga, são aspectos metodológicos a ser implementados em trabalhos posteriores.

Em suma, o tratamento LEDT foi capaz de promover um menor decréscimo no torque isométrico máximo após um protocolo de exercício concêntrico de alta intensidade. Estes achados reforçam o corpo de evidências acerca da efetividade da fototerapia na prevenção da fadiga muscular. Nossos resultados são inovadores na área da fototerapia e desempenho, uma vez que acreditamos ter demonstrado pela

primeira vez o efeito preventivo da LEDT sobre a fadiga utilizando a mais confiável ferramenta de mensuração da função muscular de seres humanos.

## CAPÍTULO III

### EFEITO DA FOTOTERAPIA PRÉVIA AO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO SOBRE O DANO MUSCULAR

*Baroni BM, Leal Junior ECP, De Marchi T, Lopes AL, Salvador M, Vaz MA. Low Level Laser Therapy Before Eccentric Exercise Reduces Muscle Damage Markers in Humans. **European Journal of Applied Physiology** 2010. (Anexo B)*

#### 3.1 Introdução

Um dos estudos pioneiros sobre o dano muscular induzido pelo exercício foi publicado em 1902, quando Theodore Hough sugeriu que determinados tipos de exercício poderiam causar microlesões na estrutura das células musculares (HOUGH, 1902). Atualmente, sabe-se que o dano ocorre devido à execução de um exercício ao qual o sujeito não está habituado e que as ações excêntricas promovem maiores índices de dano muscular (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e MORGAN, 2001; BYRNE et al., 2004; HOWATSON e VAN SOMEREN, 2008), sobretudo quando realizadas na fase descendente da relação força-comprimento (GORDON et al., 1966), conforme proposto pela *popping-sarcomere theory* (MORGAN, 1990). A estrutura mais vulnerável ao dano provocado pelo exercício parece ser a linha Z, ocorrendo danos também na membrana sarcoplasmática, no retículo sarcoplasmático, nos túbulos T, nas miofibrilas e no sistema citoesquelético (em especial, titina e desmina) (MORGAN e ALLEN, 1999; FRIDÉN e LIEBER, 2001).

Estes danos em nível microscópico são capazes de promover prejuízos ao funcionamento global do músculo, como a redução da capacidade de produção de força, a mudança do comprimento ótimo de produção de força e o aumento da tensão passiva (MORGAN e ALLEN, 1999; PROSKE e MORGAN, 2001). A dor muscular de início tardio (DMIT), a resposta inflamatória e o aumento de proteínas musculares no sangue, também estão associados ao dano (MORGAN e ALLEN,

1999; PROSKE e MORGAN, 2001; CLARKSON e HUBAL, 2002; CHEUNG et al., 2003). Consequentemente, esses fatores levam à limitação do desempenho esportivo (BYRNE et al., 2004) e aumento do risco de lesões (CHEUNG et al., 2003).

A verificação direta do dano muscular em humanos é possível por biópsia muscular ou imagem de ressonância nuclear magnética. Enquanto a biópsia pode subestimar ou superestimar o dano real, uma vez que os resultados de uma pequena fração do tecido são extrapolados para o músculo todo, a avaliação da ressonância nuclear magnética ainda apresenta controvérsia relacionada aos parâmetros de análise das imagens (CLARKSON e HUBAL, 2002). Assim, a maioria das pesquisas tem se utilizado de marcadores indiretos de dano muscular. De acordo com a revisão de Warren et al. (1999), a estimativa da DMIT é a ferramenta de mensuração mais utilizada nos estudos da área envolvendo humanos, seguida da verificação de proteínas no sangue (especialmente a creatina quinase - CK) e da avaliação da capacidade de produção de força muscular, esta última considerada uma das melhores medidas de quantificação da magnitude do dano muscular.

Paralelamente ao desejo de aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos, as características e as consequências do dano muscular induzido pelo exercício, tem crescido o interesse por estratégias eficazes na redução dos seus efeitos indesejáveis. Cheung et al. (2003) e Howatson e van Someren (2008) realizaram criteriosas revisões abrangendo diversas modalidades profiláticas e terapêuticas no combate aos efeitos negativos do dano muscular, sobretudo a DMIT. A eficácia de estratégias envolvendo exercícios físicos, suplementação nutricional e terapia farmacológica parece estar bem documentada. No entanto, a carência de evidências científicas acerca de métodos largamente utilizados (crioterapia, massagem, alongamento e eletroestimulação, por exemplo), enfatiza a importância de se estudar terapias não-invasivas inovadoras para tal finalidade.

A ação terapêutica da laserterapia de baixa intensidade (*low level laser therapy* - LLLT) tem sido alvo de pesquisas desde a década de 60. O mecanismo de ação desta terapia sobre os tecidos se encontra na capacidade que a energia luminosa possui de ser absorvida pela célula e estimular ou inibir processos intracelulares de acordo com os parâmetros utilizados (HUANG et al., 2009). Ao longo dos anos, inúmeros trabalhos têm relatado o efeito da fototerapia na cicatrização de feridas cutâneas (AL-WATBAN et al., 2007; VASHEGHANI et al., 2009; MINATEL et al., 2009); na regeneração de tecidos tendinosos (ENWEMEKA e REDDY, 2000;

OLIVEIRA et al., 2009), musculares (BIBIKOVA e ORON, 1994; CRESSONI et al., 2008) e nervosos (ROCHKIND et al, 2009; ROCHKIND, 2009); além da ação analgésica (BJORDAL et al, 2007; CHOW et al., 2009) e anti-inflamatória (LOPES-MARTINS et al., 2005; YAMAURA et al., 2009) desta terapia. Estudos recentes também têm evidenciado a eficácia desta terapia na redução do processo de dano muscular em experimentos envolvendo animais (LIU et al., 2009; SUSSAI et al, 2010; LEAL JUNIOR et al., 2010a), corroborando achados prévios observados em humanos sobre a DMIT (DOURIS et al., 2006) e marcadores sanguíneos de dano muscular (LEAL JUNIOR et al., 2009b-2009c).

Assim, tendo em vista a necessidade de terapias comprovadamente eficazes no combate aos efeitos do dano muscular induzido pelo exercício e os resultados promissores reportados por trabalhos anteriores envolvendo a fototerapia, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito do tratamento com LLLT (810 nm) prévia ao exercício excêntrico de extensores de joelho sobre o dano muscular, mensurado através da DMIT, níveis de proteínas musculares no sangue e capacidade funcional do músculo exercitado até 48 horas após o exercício.

## **3.2 Métodos**

### **3.2.1 Amostra**

Trinta e seis sujeitos do sexo masculino com idade entre 19 e 35 anos concordaram em participar do presente estudo através de um termo de consentimento informado. Todos eram indivíduos saudáveis e fisicamente ativos, praticantes de esportes somente em nível recreacional, e não engajados em programas de treinamento de força para membros inferiores. Os sujeitos garantiram não possuir treinamento ou experiência recente com exercício excêntrico em dinamômetro isocinético (NOSAKA et al., 2001), assim como não fazer uso regular de suplementos nutricionais (WILSON et al., 2009; BUCKLEY et al., 2010). Os voluntários concordaram em não realizar exercícios físicos, não fazer uso de modalidades terapêuticas (medicamentos analgésicos ou anti-inflamatórios, crioterapia, massagem, alongamento) (HOWATSON e VAN SOMEREN, 2008;

CHEUNG et al., 2003) e evitar o consumo bebidas alcoólicas (BARNES et al., 2010) durante o período da coleta de dados.

### **3.2.2 Desenho Experimental**

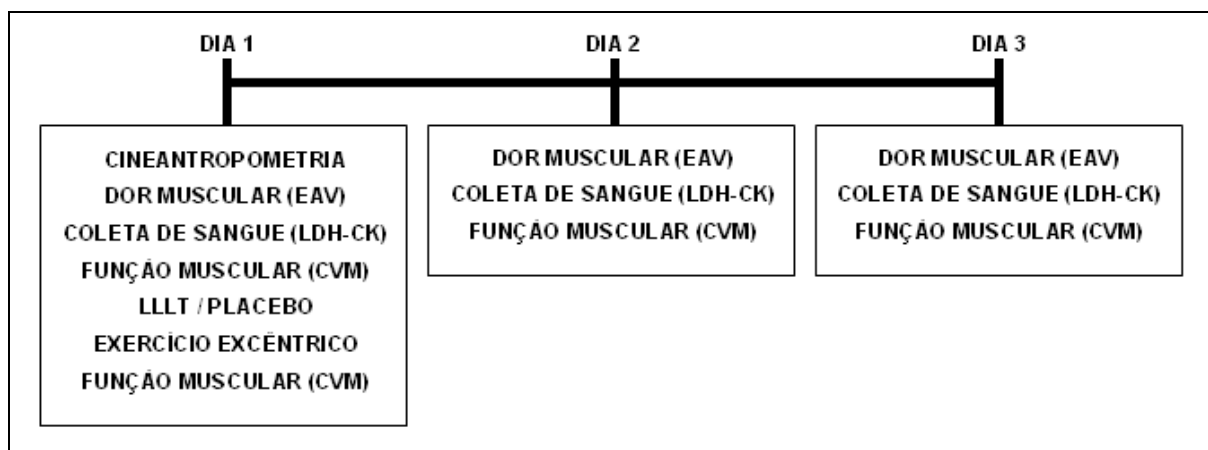
O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (protocolo 2008261) e se caracteriza como um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo-controlado para verificar o efeito da LLLT prévia ao exercício excêntrico sobre os marcadores indiretos de dano muscular. Os sujeitos foram aleatoriamente divididos em grupo LLLT (n = 18) e grupo placebo (n = 18) por um técnico responsável pelo manuseio do equipamento e aplicação dos tratamentos LLLT e placebo. A alocação dos voluntários nos grupos não foi informada aos investigadores responsáveis pelas avaliações, que se mantiveram ausentes durante os tratamentos. O mesmo sigilo ocorreu em relação aos voluntários, que foram vendados durante as aplicações de LLLT ou placebo. Uma vez que tais aplicações não provocam qualquer estímulo térmico, os sujeitos desconheciam a modalidade terapêutica que receberam.

### **3.2.3 Procedimentos**

Cada voluntário realizou três visitas ao laboratório, intervaladas por um período de 24 horas. A Figura 11 apresenta um organograma que facilita a visualização da seqüência de procedimentos adotados em cada dia.

A primeira sessão foi iniciada por uma entrevista, na qual eram coletados dados pessoais do voluntário, além de histórico de lesões e rotina de atividades físicas. Detalhada explicação acerca de todo o procedimento foi fornecida ao avaliado e todas as possíveis dúvidas foram sanadas antes do início das avaliações. A seguir, o sujeito foi submetido a: (1) avaliação cineantropométrica; (2) avaliação da dor no músculo quadríceps através da escala analógica visual (EAV); (3) coleta sanguínea para posterior mensuração dos níveis séricos de lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK); (4) avaliação da função muscular através dos valores de torque obtidos durante a contração voluntária máxima (CVM) de extensores de joelho antes do protocolo de exercício excêntrico; (5) tratamento com LLLT ou placebo; (6) protocolo de exercício excêntrico; (7) avaliação da função muscular através da CVM de extensores de joelho imediatamente após o protocolo de exercício excêntrico.

Nas sessões subseqüentes (24 e 48 horas após o exercício excêntrico) o sujeito retornou ao laboratório para: (1) coleta sanguínea (LDH e CK); (2) avaliação da dor no músculo quadríceps (EAV); (3) avaliação da função muscular (CVM).



**Figura 11.** Organograma de procedimentos adotados pelo estudo.

**Avaliação cineantropométrica:** Todas as avaliações da composição corporal foram realizadas por um mesmo técnico em cineantropometria nível II da *International Society for the Advancement of Kineanthropometry* (ISAK), utilizando procedimentos estabelecidos pela própria instituição (MARFEL JONES et al., 2006). As mensurações de estatura, massa corporal, comprimentos, diâmetros, perímetros e dobras cutâneas permitiram que a massa total fosse fracionada em cinco componentes (massa muscular, massa adiposa, massa residual, massa óssea e massa epitelial) que foram utilizados na comparação entre os grupos.

**Avaliação da dor muscular:** Foi utilizada uma escala analógica visual (EAV) para avaliar a dor muscular nos voluntários. Em cada avaliação, um mesmo pesquisador instruiu de maneira padronizada os sujeitos a realizar uma contração isométrica sub-máxima do quadríceps e marcar na EAV um traço vertical no ponto que melhor refletisse a dor ou desconforto muscular que sentiam. A linha de 100 mm da EAV não possuía marcações ou números, apenas as indicações “sem dor” e “máxima dor” nas extremidades da linha. A quantificação da dor foi determinada pela distância entre o ponto inicial da reta (0 mm) e o ponto marcado pelo indivíduo (FRENCH et al., 2008; WHITE et al., 2008; WILSON et al., 2009).



**Avaliação dos marcadores sanguíneos:** Um profissional habilitado e experiente coletou aproximadamente 10 ml de sangue venoso da região ante-cubital do antebraço antes do exercício, 24 e 48 horas após o exercício excêntrico. O sangue foi cuidadosamente transferido para tubos fechados a vácuo e centrifugado a 3000 rpm por 20 minutos. Amostras de soro foram aliquotadas para microtubos plásticos e estocadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise. As atividades enzimáticas da lactato desidrogenase (LDH) e da creatina kinase (CK) foram realizadas em duplicata utilizando kits de análise comercialmente disponíveis (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa - MG, Brasil), através de procedimentos descritos pelo fabricante. O valor médio obtido entre as duas amostras foi utilizado na análise estatística.

**Avaliação da função muscular:** O sujeito foi devidamente posicionado com o membro inferior dominante em posição de avaliação no dinamômetro isocinético Biodex System 3 Pro (Biodex Medical System, Shirley - NY, USA – Figura 4), conforme as recomendações do fabricante para avaliação do movimento de flexo-extensão do joelho. Antes de cada avaliação foi realizado um protocolo de aquecimento composto por 10 repetições concêntricas de flexo-extensão do joelho a  $180^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$  e amplitude total de movimento do avaliado. A função muscular foi determinada através do torque isométrico máximo de extensores de joelho. O maior valor de torque obtido entre três contrações voluntárias máximas (CVMs) de cinco segundos em um ângulo articular de  $60^{\circ}$  de flexão do joelho ( $0^{\circ}$  = extensão total) foi considerado como sendo a capacidade máxima de produção de força em cada momento avaliado. Períodos de dois minutos de repouso entre cada CVM foram observados para minimizar possíveis efeitos de fadiga muscular. Os voluntários foram previamente instruídos a realizar força máxima e incentivo verbal foi fornecido pelos investigadores em cada CVM.

**Tratamento LLLT e placebo:** Os tratamentos LLLT e placebo foram administrados através do equipamento *THOR DD2 Control Unit* (THOR<sup>®</sup> - Londres, Reino Unido – Figura 5), com o *Infra-Red Laser Cluster Probe* (Figura 12) de mesma marca e procedência, constituído de cinco diodos infravermelhos de 810 nm. O tratamento placebo foi realizado tal qual o tratamento LLLT, entretanto, o equipamento foi mantido desligado. Os tratamentos foram aplicados antes do exercício excêntrico com o *probe* em um ângulo de  $90^{\circ}$  e contato direto com a pele

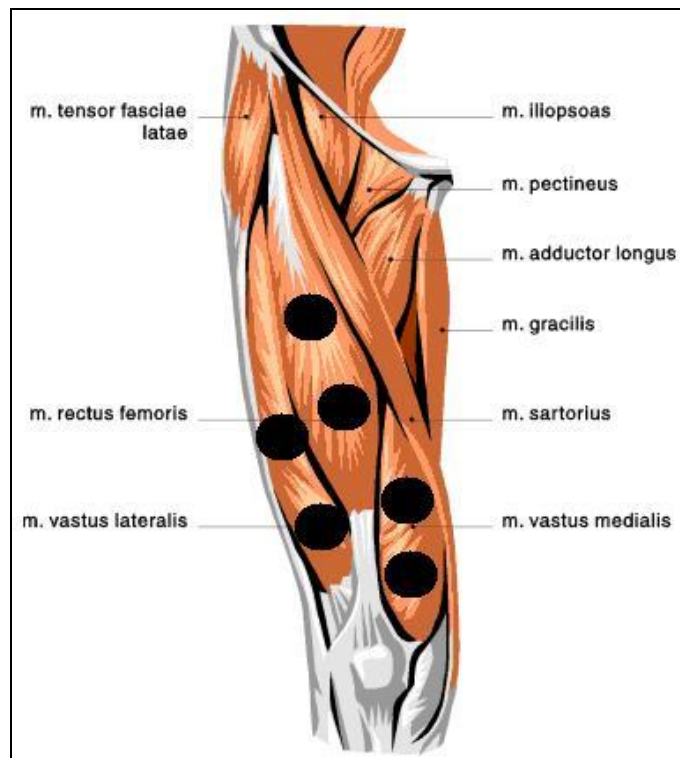
(ENWEMEKA, 2009). A Figura 13 ilustra os seis pontos de aplicação, os quais foram determinados através de palpação: dois pontos na região distal do músculo vasto medial; dois pontos na região distal do músculo vasto lateral; e dois pontos na região central do músculo reto femoral. Os parâmetros utilizados no tratamento LLLT encontram-se sumarizados no Quadro 2, e foram adaptados de Leal Junior et al. (2010b). Foram aplicados 30 segundos de terapia em cada ponto. Uma vez que entre um ponto e outro se fazia necessário algum tempo para reposicionamento do *probe*, a sessão de tratamento teve duração de aproximadamente 3,5 minutos. Assim, 30 J de energia foram aplicados em cada ponto (6 J por diodo), totalizando uma dose de 180 J para o músculo quadríceps.

**Quadro 2.** Parâmetros de aplicação do tratamento LLLT.

<b>Número de diodos:</b>	5 diodos
<b>Comprimento de onda:</b>	810 nm (infravermelho)
<b>Frequência:</b>	modo contínuo
<b>Diâmetro do diodo:</b>	0,029 cm <sup>2</sup>
<b>Potência de saída:</b>	200 mW
<b>Densidade de potência:</b>	6,9 W/cm <sup>2</sup>
<b>Energia (dose):</b>	30 J em cada ponto; 6 J cada diodo
<b>Densidade de energia:</b>	206,9 J/cm <sup>2</sup> em cada ponto
<b>Tempo de tratamento:</b>	30 segundos em cada ponto
<b>Número de pontos:</b>	6
<b>Energia (dose) total:</b>	180 J



**Figura 12.** Thor Infra-Red Laser Cluster Probe.  
(Fonte: [www.thorlaser.com](http://www.thorlaser.com))



**Figura 13.** Pontos de aplicação (círculos pretos) utilizados nos tratamentos LLLT e placebo nos músculos extensores de joelho.

**Protocolo de indução ao dano:** Na primeira sessão, foram respeitados dois minutos de repouso após a última CVM antes de ser iniciado o protocolo de familiarização ao exercício excêntrico no dinamômetro isocinético. Esta familiarização é necessária pois as contrações isocinéticas excêntricas constituem uma atividade não usual, cuja qual alguns sujeitos apresentam dificuldade de

compreensão e/ou realização da tarefa motora. Antes de cada contração excêntrica, o membro inferior do avaliado foi passivamente estendido até a posição de 30° de flexão de joelho. O sujeito foi incentivado a promover uma contração de extensores de joelho assim que atingisse este posicionamento. Como resposta ao torque extensor do joelho, o dinamômetro conduzia o segmento no sentido de flexão de joelho até o ângulo de 90° (amplitude de movimento = 60°) em uma velocidade de 60°·s<sup>-1</sup>. Assim, foram realizadas cinco contrações excêntricas sub-máximas de extensores de joelho com objetivo de familiarizar o voluntário ao movimento utilizando a mesma velocidade e a mesma amplitude de movimento do subsequente exercício excêntrico indutor de dano muscular. Um minuto após o término da familiarização, foi iniciada a terapia LLLT ou placebo (descrita em *Tratamento LLLT e placebo*).

Finalizada a aplicação da terapia, foram respeitados dois minutos de repouso antes do início do protocolo de exercício excêntrico. A indução ao dano muscular foi realizada através de 75 contrações excêntricas máximas de extensores de joelho, divididas em cinco séries de 15 repetições com intervalos de 30 segundos entre as séries. O exercício foi realizado a uma velocidade de 60°·s<sup>-1</sup> (tanto na fase passiva quanto na fase excêntrica) e com amplitude de movimento de 60° (30° a 90° de flexão de joelho). Assim, cada contração excêntrica teve duração de um segundo, seguida por um segundo de repouso em que o segmento era passivamente estendido. Após o término do exercício excêntrico, o dinamômetro automaticamente posicionava o membro inferior em um ângulo de 60° e, aproximadamente 10 segundos após o término exercício excêntrico, uma nova CVM de extensores de joelho com cinco segundos de duração foi realizada. O valor de pico de torque foi considerado representativo da capacidade máxima de produção de força do voluntário imediatamente após o exercício.

#### **3.2.4 Análise Estatística**

Os dados referentes à composição corporal foram utilizados para garantir a similaridade de características físicas entre os integrantes dos dois grupos, e foram comparados através de uma *One Way ANOVA*. O mesmo procedimento estatístico foi utilizado para comparar o desempenho dos indivíduos dos dois grupos no protocolo de exercício excêntrico através das variáveis pico de torque por série e trabalho realizado por série.

Uma *Two Way ANOVA* (grupo x momento) foi utilizada na comparação dos valores absolutos de dor muscular (EAV), atividade enzimática da creatina kinase (CK), atividade enzimática da lactato desidrogenase (LDH) e função muscular (CVM). O mesmo procedimento estatístico foi adotado na comparação do incremento percentual de CK e LDH, e da redução percentual na CVM. A esfericidade dos dados foi testada através do *Mauchly's Test* e, quando necessário, foi utilizado o fator de correção de *Greenhouse-Geisser*. Havendo interação grupo-momento, a identificação de diferenças entre os grupos em cada momento de análise foi realizada através de uma *One Way ANOVA*, enquanto a identificação de diferenças intragrupo nos diferentes momentos da coleta de dados foi realizada através de uma *Repeated Measures ANOVA* seguida do *post-hoc* de *Bonferroni*.

Toda a análise estatística foi realizada no *software SPSS 13.0* utilizando um nível de significância de  $p < 0,05$ . Os resultados são apresentados no texto e nas tabelas em média  $\pm$  desvio padrão e nas figuras em média  $\pm$  erro padrão.

### 3.3 Resultados

Não foram verificadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os dois grupos nas variáveis cineantropométricas (Tabela 2) e nas variáveis de desempenho durante o protocolo de exercício excêntrico (Tabela 3). Similaridade entre os grupos ( $p > 0,05$ ) também foi observada nos valores basais dos marcadores de dano muscular (Tabela 4).

A análise estatística demonstrou não haver interação grupo-momento para a variável dor muscular ( $p = 0,066$ ). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ( $p = 0,071$ ), que incrementaram os níveis de dor de forma semelhante ao longo do tempo (Tabela 4). Entretanto, a análise das demais variáveis demonstra que o grupo LLLT apresentou menores índices de dano muscular em comparação ao grupo placebo: (1) menor incremento absoluto (Tabela 4;  $p = 0,017$ ) e percentual (Figura 14;  $p = 0,013$ ) de LDH 48 horas após o exercício; (2) menor incremento absoluto (Tabela 4;  $p = 0,020$ ) e percentual (Figura 15;  $p = 0,023$ ) de CK 24 horas após o exercício; (3) menor incremento absoluto (Tabela 4;  $p < 0,001$ ) e percentual (Figura 15;  $p = 0,001$ ) de CK 48 horas após o exercício; (4) menor decréscimo de valores absolutos (Tabela 4;  $p = 0,011$ ) e percentuais (Figura 16;

p=0,031) de CVM imediatamente pós-exercício; (5) menor decréscimo de valores absolutos (Tabela 4; p=0,004) e percentuais (Figura 17; p=0,002) de CVM 24 horas pós-exercício; (6) menor decréscimo de valores absolutos (Tabela 4; p=0,001) e percentuais (Figura 17; p=0,001) de CVM 48 horas pós-exercício.

**Tabela 2.** Características cinenatropométricas dos participantes alocados nos grupos LLLT e placebo.

	LLLT	Placebo
Idade (anos)	25,35 ± 3,41	24,28 ± 5,48
Estatura (m)	1,76 ± 0,06	1,76 ± 0,06
Massa corporal (kg)	75,94 ± 9,96	77,59 ± 10,35
Massa adiposa (%)	27,51 ± 5,87	29,66 ± 3,07
Massa muscular (%)	43,37 ± 5,20	42,10 ± 2,92
Massa residual (%)	11,76 ± 0,79	11,08 ± 0,74
Massa óssea (%)	12,16 ± 0,93	12,09 ± 1,66
Massa epitelial (%)	5,19 ± 0,43	5,07 ± 0,60

**Tabela 3.** Desempenho dos músculos extensores de joelho dos sujeitos dos grupos LLLT e placebo no protocolo de exercício excêntrico indutor de dano muscular.

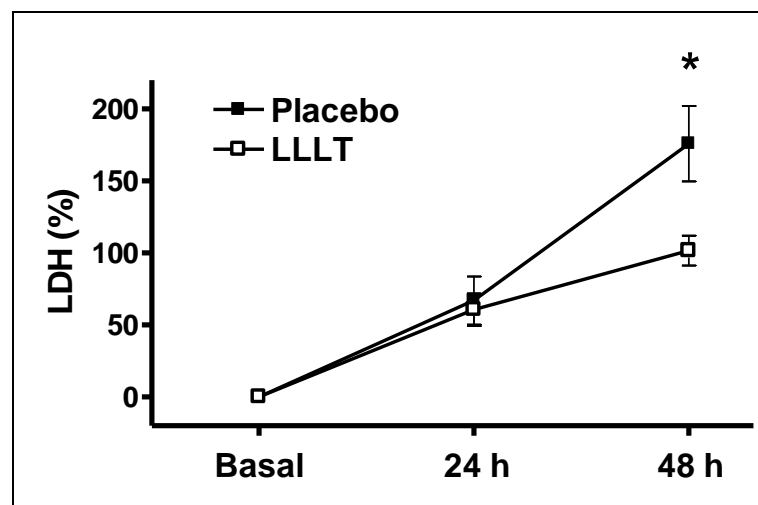
		LLLT	Placebo
Pico de Torque (Nm)	Série 1	303,40 ± 47,02	298,14 ± 55,65
	Série 2	275,91 ± 51,26	274,97 ± 55,52
	Série 3	262,28 ± 59,63	265,74 ± 56,09
	Série 4	262,38 ± 61,67	252,63 ± 42,18
	Série 5	249,45 ± 60,25	245,73 ± 41,84
Trabalho Total (J)	Série 1	3009,75 ± 438,77	3002,92 ± 734,94
	Série 2	2619,01 ± 534,74	2713,37 ± 768,15
	Série 3	2555,24 ± 682,59	2532,51 ± 746,94
	Série 4	2414,64 ± 699,33	2354,39 ± 535,88
	Série 5	2313,24 ± 744,49	2142,40 ± 580,59

**Tabela 4.** Valores absolutos dos marcadores de dano muscular induzido pelo exercício excêntrico: dor muscular (EAV), lactato desidrogenase (LDH), creatina kinase (CK) e função muscular (CVM).

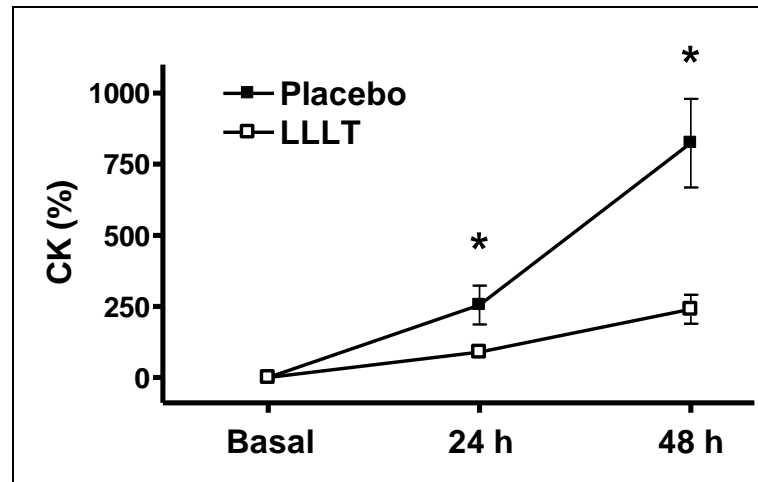
		Basal	Pós-Imediato	24 h	48 h
<b>EAV</b> (mm)	LLLT	0,00 ± 0,00	–	21,39 ± 20,31 <sup>a d</sup>	29,78 ± 30,75 <sup>a c</sup>
	Placebo	0,00 ± 0,00	–	32,17 ± 19,92 <sup>a d</sup>	50,78 ± 29,79 <sup>a c</sup>
<b>LDH</b> (UI/l)	LLLT	186,02 ± 44,92	–	296,93 ± 99,98 <sup>a d</sup>	366,06 ± 84,46 <sup>* a c</sup>
	Placebo	182,59 ± 43,84	–	290,10 ± 87,54 <sup>a d</sup>	483,85 ± 180,29 <sup>* a c</sup>
<b>CK</b> (UI/l)	LLLT	144,69 ± 59,01	–	271,70 ± 146,31 <sup>* a d</sup>	435,95 ± 238,04 <sup>* a c</sup>
	Placebo	155,16 ± 51,27	–	497,75 ± 362,97 <sup>* a d</sup>	1327,58 ± 949,82 <sup>* a c</sup>
<b>CVM</b> (Nm)	LLLT	292,92 ± 42,93	188,93 ± 43,04 <sup>* a c d</sup>	249,43 ± 42,61 <sup>* a b d</sup>	267,09 ± 37,40 <sup>* a b c</sup>
	Placebo	283,98 ± 47,07	154,03 ± 34,57 <sup>* a c d</sup>	205,09 ± 43,52 <sup>* a b</sup>	216,14 ± 50,17 <sup>* a b</sup>

\* Diferente do outro grupo; <sup>a</sup> Diferente do basal; <sup>b</sup> Diferente de pós- imediato;

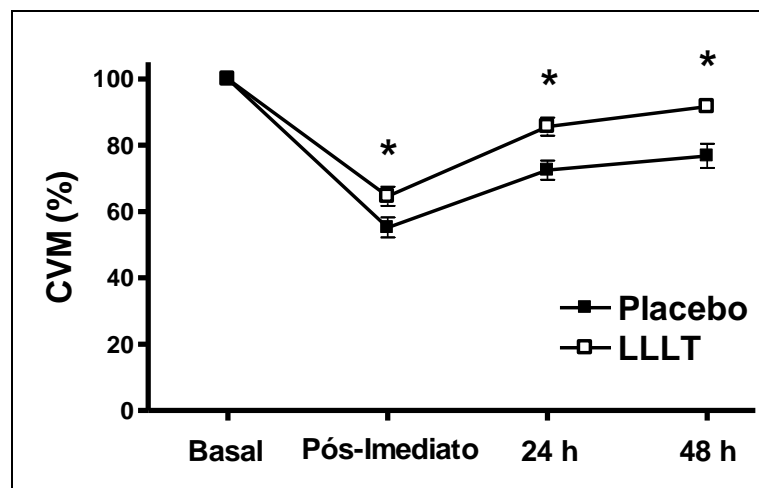
<sup>c</sup> Diferente de 24 h; <sup>d</sup> Diferente de 48 h.



**Figura 14.** Incremento percentual da lactato desidrogenase (LDH) 24 e 48 horas após o exercício excêntrico. \* indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15.** Incremento percentual da creatina kinase (CK) 24 e 48 horas após o exercício excêntrico. \* indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 16.** Valores percentuais da contração voluntária máxima (CVM) de extensores de joelho imediatamente após, 24 e 48 horas após o exercício. \* indica diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

### 3.4 Discussão

O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito do tratamento com LLLT antes do exercício excêntrico de extensores do joelho sobre os marcadores de dano muscular mais comumente utilizados em humanos: dor muscular, proteínas circulantes no sangue e prejuízos à função muscular. Os dados da EAV não



apresentaram interação grupo-momento, indicando que os tratamentos LLLT e placebo promoveram efeitos similares sobre a dor muscular. Entretanto, os resultados evidenciam que os sujeitos tratados com a fototerapia sofreram atenuação de alguns marcadores indiretos de dano muscular: o grupo LLLT apresentou um menor incremento da atividade enzimática da LDH 48 horas após o exercício, assim como da CK 24 e 48 horas após o exercício, além de um decréscimo menos acentuado da força muscular imediatamente após o exercício, 24 e 48 horas pós-exercício.

A percepção subjetiva de dor muscular é a ferramenta de mensuração mais utilizada em estudos envolvendo dano muscular induzido pelo exercício em humanos (WARREN et al., 1999). Apesar de a EAV ser um instrumento validado e largamente utilizado em estudos envolvendo dano muscular (CHEUNG et al., 2003), trabalhos anteriores demonstram a considerável dispersão existente na percepção de dor entre indivíduos com características físicas semelhantes (BROWN et al., 1997; WHITE et al., 2008; FRENCH et al., 2008). Essa variabilidade dificulta a obtenção de resultados significativos do ponto de vista estatístico, como ocorrido no presente experimento. Estudos prévios reportaram resultados controversos quanto ao efeito da LLLT sobre a DMIT. Enquanto Douris et al. (2006) aplicaram a fototerapia nos dias subseqüentes ao exercício excêntrico e encontraram redução da DMIT, Craig et al. (1999) não observaram efeitos benéficos com a utilização desta terapia. No presente estudo, mesmo que a abordagem estatística indique não haver efeito protetor da LLLT sobre a DMIT, destacamos a relevância clínica indicada pelos menores índices da dor muscular reportados pelos voluntários do grupo fototerapia.

Uma vez que a intensidade do exercício (CHEN et al., 2007), o número de repetições (BROWN et al., 1997), a velocidade angular (CHAPMAN et al., 2006), a amplitude de movimento (VÁCZI et al., 2009) e o segmento utilizado (membros superiores ou inferiores) (JAMURTAS et al., 2005) influenciam diretamente na magnitude do dano, a comparação com estudos que utilizaram protocolos distintos de exercício fica prejudicada. Somado a este fator, devido à elevada discrepância reportada entre os valores pico de CK em resposta ao exercício excêntrico (236-25.244 UI·l<sup>-1</sup>) (NOSAKA e CLARKSON, 1996), alguns pesquisadores têm optado por classificar os sujeitos em *low* e *high responders* (indivíduos que elevam pouco e

muito a CK após o exercício, respectivamente) (TOTSUKA et al., 2002), enquanto outros têm tentado minimizar esta discrepância por meio de transformações logarítmicas (BROWN et al. 1997; FRENCH et al. 2008).

Uma opção para reduzir variabilidade de resposta entre os indivíduos seria optar pela realização de um desenho experimental cruzado, no qual cada sujeito fosse submetido aos dois tipos de tratamento (LLLT e placebo), tal qual realizado no primeiro estudo da presente dissertação. Entretanto, diante dos freqüentes relatos na literatura a respeito do efeito protetor promovido por sessões repetidas de exercício excêntrico (BROWN et al. 1997; NOSAKA et al. 2001), o qual promoveria uma resposta diminuída dos marcadores utilizados no presente estudo após a segunda sessão, optamos por um randomizar os voluntários em dois grupos. Deste modo, selecionamos para participar do estudo indivíduos com características físicas similares (Tabela 2) e um número de indivíduos por grupo superior à maioria dos estudos encontrados na literatura (BROWN et al. 1997; NOSAKA et al. 2001; JAMURTAS et al. 2005; CHAPMAN et al. 2006; CHEN et al. 2007; FRENCH et al. 2008; WHITE et al. 2008; WILSON et al. 2009), minimizando dentro do possível a heterogeneidade entre os grupos.

O menor incremento dos marcadores sanguíneos de dano muscular após o exercício excêntrico no grupo LLLT vai ao encontro de achados recentes reportados por estudos em modelo animal (LIU et al., 2009; SUSSAI et al., 2010; LEAL JUNIOR et al., 2010a). LIU et al. (2009) apresentaram evidências histológicas e bioquímicas de que a aplicação de LLLT no músculo gastrocnêmio de ratos submetidos a exercício em esteira declinada reduz o dano muscular. SUSSAI et al. (2010) demonstraram que a aplicação desta modalidade terapêutica atenua o incremento de CK sanguínea e a apoptose celular em ratos submetidos ao exercício aquático até a exaustão. Leal Junior et al. (2010a), em um trabalho focado no estudo do efeito da LLLT sobre a fadiga muscular, também encontraram menor atividade da CK após protocolo de contrações estimuladas eletricamente em músculos de ratos previamente tratados com LLLT. Além disso, em humanos, Leal Junior et al. (2009b) observaram redução de marcadores sanguíneos de dano (CK) e inflamação (proteína C reativa) imediatamente após o exercício quando atletas foram tratados com fototerapia previamente ao exercício utilizando pesos livres.

Outros estudos utilizaram a fototerapia nos dias subseqüentes ao exercício excêntrico para o tratamento do dano muscular (CRAIG et al., 1999; DOURIS et al., 2006). O presente estudo, entretanto, optou pela aplicação de uma única sessão de tratamento previamente ao exercício excêntrico como uma medida preventiva ao dano. O objetivo deste procedimento foi verificar possíveis efeitos da LLLT nos valores de CVM imediatamente após o exercício excêntrico, quando o decréscimo da força ocorre pelos efeitos combinados da fadiga e do dano muscular (PROSKE e MORGAN 2001). O primeiro estudo da presente dissertação, focado no efeito da fototerapia sobre a fadiga, demonstrou atenuação da queda de força do músculo quadríceps imediatamente após exercício isocinético concêntrico quando os voluntários foram tratados com esta terapia pré-exercício. Assim, os achados deste segundo estudo corroboram os resultados prévios, reforçando o corpo de evidências acerca da efetividade da fototerapia na redução da fadiga muscular, independentemente do tipo de contração realizada (concêntrica e excêntrica).

Enquanto os prejuízos à capacidade de produção de força devido ao processo de fadiga são totalmente revertidos em períodos relativamente curtos de algumas horas, o músculo que sofreu dano estrutural necessita de vários dias para o total restabelecimento funcional (HOUGH, 1902; CLARKSON e HUBAL, 2002). Assim, os valores de CVM 24 e 48 horas após o exercício reportam o efeito da LLLT especificamente sobre o dano muscular, uma vez que a avaliação do torque é considerada uma das ferramentas mais fidedignas na quantificação deste fenômeno (WARREN et al., 1999). Desta forma, os resultados reportados demonstram que os prejuízos à função muscular até dois dias após o exercício excêntrico foram consideravelmente atenuados pelo tratamento LLLT, um achado de interessante aplicabilidade prática à medicina do esporte. Entretanto, a recuperação dos níveis de força foi mensurada apenas até 48 horas após o exercício causador de dano, período no qual os valores de torque permaneceram abaixo dos valores observados na condição basal. Seria interessante que estudos futuros observassem um período superior de tempo afim de determinar o tempo necessário para indivíduos tratados com LLLT e placebo restaurarem completamente sua função muscular.

Os mecanismos de ação pelos quais a LLLT age na redução do dano muscular ainda não se encontram completamente elucidados. O presente estudo não foi desenvolvido para desvendar tais mecanismos, uma vez que as variáveis analisadas

não permitem a determinação direta dos mesmos. Entretanto, inferências podem ser feitas a partir do conhecimento etiológico do dano, o qual se divide em dois estágios: dano primário, causado prioritariamente por estresse mecânico (HOWATSON e VAN SOMEREN, 2008); e dano secundário, causado por uma cascata de eventos metabólicos desencadeados a partir da quebra da homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$  (MORGAN e ALLEN, 1999; HOWATSON e VAN SOMEREN, 2008), e que promove a resposta inflamatória (CLARKSON e HUBAL, 2002) e a ação deletéria das espécies reativas de oxigênio sobre o tecido (NIKOLAIDIS et al., 2008), entre outros eventos. Evidências acerca do efeito anti-inflamatório da fototerapia já foram evidenciadas por inúmeros trabalhos (LOPES-MARTINS et al., 2005; YAMAURA et al., 2009), da mesma forma que o efeito da LLLT na redução da liberação de espécies reativas de oxigênio (RIZZI et al. 2006) e incremento da capacidade anti-oxidante (AVNI et al. 2005). Somado a isso, a capacidade desta terapia em potencializar a função mitocondrial e reverter o estado de disfunção desta organela celular já foi demonstrada em um estudo envolvendo cultura de células musculares (XU et al., 2008), possivelmente explicando o aumento da síntese de ATP promovido pela LLLT (SILVEIRA et al., 2009). Contudo, mais estudos se fazem necessários para desvendar os mecanismos de ação da fototerapia em nível celular antes que estas hipóteses possam ser objetivamente utilizadas para explicar os resultados obtidos.

Em suma, o tratamento LLLT antes do exercício excêntrico de extensores de joelho foi capaz de atenuar os efeitos deletérios do dano muscular sobre a função muscular, além de reduzir o incremento dos níveis séricos de LDH e CK. De acordo com o nosso conhecimento, este parece ser o primeiro estudo a demonstrar o efeito positivo desta terapia sobre a recuperação da força muscular após o exercício excêntrico indutor de dano, um interessante aspecto com aplicabilidade prática nas áreas de treinamento e desempenho esportivo. Embora mais pesquisas envolvendo a fototerapia como modalidade de tratamento e/ou prevenção do dano muscular devam ser conduzidas, a LLLT é apresentada aqui como uma possível terapia não-farmacológica e não-invasiva contra os efeitos indesejáveis do dano muscular induzido pelo exercício.

## CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nos dois experimentos conduzidos no desenvolvimento da presente dissertação nos permitem chegar às seguintes conclusões: (1) no experimento descrito no Capítulo II, o incremento da capacidade de produção de torque máximo voluntário em um ângulo específico após o exercício concêntrico se constitui em um confiável indicador mecânico de redução da fadiga muscular com aplicação do tratamento com fototerapia; (2) no estudo reportado no Capítulo III, evidências bioquímicas de redução do dano muscular por meio da fototerapia são apresentadas através do menor incremento dos níveis séricos de LDH e CK nos dias subseqüentes ao exercício excêntrico; (3) também no estudo do Capítulo III, os valores de torque obtidos na avaliação imediatamente após o exercício excêntrico corroboram os achados do estudo do Capítulo II, enquanto o comportamento desta variável nos dias subseqüentes ao exercício excêntrico evidencia incrementos da capacidade funcional do músculo, um forte indicativo de redução do dano muscular induzido pelo exercício excêntrico por meio do tratamento com fototerapia.

Acredita-se que estes achados possam contribuir de maneira significativa com a prática de profissionais da saúde de diferentes áreas de atuação, uma vez que os fenômenos de fadiga e dano muscular acometem indivíduos altamente treinados, fisicamente ativos, sedentários e acometidos por determinadas condições patológicas. Assim, embora sejam necessários estudos complementares para elucidar os mecanismos de ação e parâmetros ideais de tratamento, os resultados obtidos na presente dissertação elevam a fototerapia à condição de modalidade terapêutica inovadora na redução dos processos de fadiga e dano muscular em humanos.

## REFERÊNCIAS

Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32 (9): 1576-1581.

Allen DG, Lamb GD, Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev.* 2008; 88 (1): 287-332.

Allen DG. Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. *Acta Physiol Scand.* 2001; 171 (3):311-319.

Al-Watban FA, Zhang XY, Andres BL. Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. *Photomed Laser Surg.* 2007; 25 (2):72-77.

Avni D, Levkovitz S, Maltz L, Oron U. Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23 (3): 273-277.

Azevedo Luiz MCR. Análise do efeito do laser de baixa potência no processo de reabilitação pós-reconstrução do ligamento cruzado anterior. 2004. 94p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade do Vale do Paraíba.

Barnes MJ, Mundel T, Stannard SR. Post-exercise alcohol ingestion exacerbates eccentric-exercise induced losses in performance. *Eur J Appl Physiol.* 2010; 108 (5): 1009-1014.

Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med.* 1995; 16 (4): 331-342.

Baxter GD. Therapeutic lasers: theory and practice. USA: Curchill Livingstone, 1997.

Bibikova A, Oron U. Attenuation of the process of muscle regeneration in the toad gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. *Lasers Surg Med.* 1994; 14(4): 355-361

Bjordal JM, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bogen B, Chow R, Ljunggren AE. Short-term efficacy of physical interventions in osteoarthritic knee pain. A systematic review and meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8: 51.

Brown L. *Isokinetics in Human Performance*. Champaign: Human Kinetics, 2000.

Brown SJ, Child RB, Day SH, Donnelly AE. Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci.* 1997; 15 (2): 215-222.

Buckley JD, Thomson RL, Coates AM, Howe PR, DeNichilo MO, Rowney MK. Supplementation with a whey protein hydrolysate enhances recovery of muscle force-generating capacity following eccentric exercise. *J Sci Med Sport.* 2010; 13 (1): 178-181.

Byrne C, Twist C, Eston R. Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage - theoretical and applied implications. *Sports Med.* 2004; 34 (1): 49-69.

Cairns SP, Knicker AJ, Thompson MW, Sjogaard G. Evaluation of models used to study neuromuscular fatigue. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005; 33 (1): 9-16.

Chapman D, Nexton M, Sacco P, Nosaka K. Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 2006; 27 (8): 591-598.

Chavantes MC, Jatene AD. Aplicação do laser na área cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.* 1990; 54 (1): 63-68.

Chen TC, Nosaka K, Sacco P. Intensity of eccentric exercise, shift of optimum angle, and the magnitude of repeated-bout effect. *J Appl Physiol.* 2007; 102 (3): 992-999.

Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness - treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* 2003; 33 (2): 145-164.

Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet.* 2009; 374 (9705): 1897-1908.

Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002; 81 (11 Suppl): S52-69.

Craig JA, Barron J, Walsh DM, Baxter GD. Lack of effect of combined low-intensity laser therapy/phototherapy (CLILT) on delayed onset muscle soreness in humans. *Lasers Surg Med.* 1999; 24 (3): 223-230.

Cressoni MD, Dib Giusti HH, Casarotto RA, Anaruma CA. The effects of a 785-nm AlGaInP laser on the regeneration of rat anterior tibialis muscle after surgically-induced injury. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26 (5): 461-466.

Douris P, Southard V, Ferrigi R, Grauer J, Katz D, Nascimento C, Podbielski P. Effect of phototherapy on delayed onset muscle soreness. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24 (3): 377-382.

Einstein AZ. Zur Quantentheorie der Strahlung. *Physik Zeitschr.* 1917; 18: 121-128.

Enoka RM, Duchateau J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *J Physiol.* 2008; 586 (1): 11-23.

Enwemeka C, Reddy K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on consecutive tissue repair process. *Laser Therapy.* 2000; 12: 22-30.

Enwemeka CS. Light is Light. *Photomed. Laser Surg.* 2005; 23 (2): 159-160.



Enwemeka CS. Intricacies of Dose in Laser Phototherapy for Tissue Repair and Pain Relief. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27 (3): 1-7.

Essig DA, Nosek TM. Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. *Can J Appl Physiol.* 1997; 22 (5): 409-428.

Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, Marroni NP, González-Gallego J. Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med* 2005; 37 (4): 293-300.

Fitts RH. The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue. *J Appl Physiol.* 2008; 104 (2): 551-558.

French DN, Thompson KG, Garland SW, Barnes CA, Portas MD, Hood PE, Wilkes G. The Effects of Contrast Bathing and Compression Therapy on Muscular Performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2008; 40 (7): 1297-306.

Fridén J, Lieber RL. Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiol Scand.* 2001; 171 (3): 321-326.

Gordon AM, Huxley AF, Julian FJ. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol.* 1966; 184 (1): 170-192.

Gorgey AS, Wade AN, Sobhi NN. The effect of low-level laser therapy on electrically induced muscle fatigue: a pilot study. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26 (5): 501-506.

Hill AV. The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc. Royal. Soc.* 1938; 126 (843): 136-195.

Hough T. Ergographic studies in muscular soreness. *Am J Physiol.* 1902; 7: 76-92.

Howatson G, van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 2008; 38 (6): 483-450.

Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response*. 2009; 7 (4): 358-383.

Jamurtas AZ, Theocharis V, Tofas T, Tsiokanos A, Yfanti C, Paschalis V, Koutedakis Y, Nosaka K. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *Eur J Appl Physiol*. 2005; 95 (2-3): 179-85.

Javan A, Bennett WR, Herriot DR. Population inversion and continuous optical maser oscillation in gas discharge containing a HeNe mixture. *Phys Rev Lett*. 1961; 6 (3): 106-110.

Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B*. 1995; 27 (3): 219-223.

Kitchen SS, Bazin S. *Eletroterapia de Clayton*. São Paulo: Manole, 1998.

Laakso L, Richardson C, Cramond T. Factors affecting low level laser therapy. *Aust J Physiotherapy* 1993b; 39 (2): 95-99.

Laakso L, Richardson C, Cramond T. Quality of light – is laser necessary for effective photobiostimulation? *Aust J Physiotherapy* 1993a; 39 (2): 87-92.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Rossi RP, Grosselli D, Generosi RA, de Godoi V, Basso M, Mancalossi JL, Bjordal JM. Comparison between single diode and cluster multi-diode low-level laser therapy (LLLT) applications before high-intensity exercises. *Photomed Laser Surg*. 2009c; 27 (4): 617-623.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, Baroni BM, Penna SC, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of 655 nm low power laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg*. 2008; 26 (5): 419-424.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, Ramos L, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. *Eur J Appl Physiol.* 2010a; 108 (6):1083-1088.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Frigo L, De Marchi T, Rossi R, de Godoi V, Tomazoni SS, da Silva DP, Basso M, Lotti Filho P, Corsetti FV, Iversen VV, Bjordal JM. Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to post-exercise recovery. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2010b. [em impressão]

Leal Junior EC, Lopes-Martins RB, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, Godoi V, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM. Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers Surg Med.* 2009b; 41 (8): 572-577.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Vanin AA, Baroni BM, Grosselli D, De Marchi T, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of 830 nm low level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci.* 2009a; 24 (3): 425-431.

Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ. Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27 (6): 863-869.

Lopes-Martins RA, Albertini R, Martins PS, Bjordal JM, Faria Neto HC. Spontaneous effects of low-level laser therapy (650 nm) in acute inflammatory mouse pleurisy induced by carrageenan. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23 (4): 377-381.

Lopes-Martins RA, Marcos RL, Leonardo PS, Prianti AC Jr, Muscará MN, Aimbire F, Frigo L, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J. Appl. Physiol.* 2006; 101 (1): 283-288.

Low L, Reed A. Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática. 3ª ed. Barueri: Manole, 2001.

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. Nature 1960; 187: 493-494.

Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. J Photochem Photobiol B. 1997; 38 (1): 25-30.

Marfell-Jones M, Olds T, Stewart A, Carter L. International standards for anthropometric assessment. Potchefstroom (South Africa): ISAK, 2006.

Mester E. A Laser sugar alkamazaea a gyogyaezatban (The use of the laser beam in therapy). Orv Hetil. 1966; 107 (22): 1012-6. [Artigo em Húngaro]

Minatel DG, Frade MA, França SC, Enwemeka CS. Phototherapy promotes healing of chronic diabetic leg ulcers that failed to respond to other therapies. Lasers Surg Med. 2009; 41 (6): 433-441.

Morgan DL, Allen DG. Early events in stretch-induced muscle damage. J Appl Physiol. 1999; 87 (6): 2007-2015.

Morgan DL. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. Biophys J. 1990; 57 (2): 209-221.

Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Fatouros IG, Koutedakis Y, Kouretas D. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. Sports Med 2008; 38 (7): 579-606.

Nosaka K, Clarkson PM. Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. Int J Sports Med. 1996; 17 (2): 120-127.

Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, Sacco P. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33 (9): 1490-1495.

Ohshiro T. *Low reactive-level laser therapy practical applications.* Chichester: Ed. John Wiley & Sons, 1991.

Oliveira FS, Pinfildi CE, Parizoto NA, Liebano RE, Bossini PS, Garcia EB, Ferreira LM. Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneous tendon. *Lasers Surg Med.* 2009; 41 (4): 271-276.

Oron U, Ilic S, De Taboada L, Streeter J. Ga-As (808 nm) laser irradiation enhances ATP production in human neuronal cells in culture. *Photomed. Laser Surg.* 2007; 25 (3): 180-182.

Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev.* 2005; 11: 64-85.

Pincivero DM, Lephart SM, Karunakara RA. Reliability and precision of isokinetic strength and muscular endurance for the quadriceps and hamstrings. *Int J Sports Med.* 1997; 18 (2): 113-117.

Proske U, Allen TJ. Damage to Skeletal Muscle from Eccentric Exercise. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005; 33 (2): 98-104.

Proske U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol.* 2001; 537 (Pt 2):333-345.

Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27 (1-2): 69-74.

Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Corrêa DS, Moreira AJ, Zettler CG, Filippin LI, Marroni NP, González-Gallego J. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med.* 2006; 38 (7): 704-713.

Rochkind S, Geuna S, Shainberg A. Chapter 25: Phototherapy in peripheral nerve injury: effects on muscle preservation and nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol.* 2009; 87: 445-464.

Rochkind S. Phototherapy in peripheral nerve injury for muscle preservation and nerve regeneration. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27 (2): 219-220.

Schawlow AL. Principles of lasers. *J Clin Laser Med Surg.* 1995; 13 (3): 127-130.

Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schön H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med.* 2000; 48 (5): 312-326.

Schaffer M, Sroka R, Fuchs C, Schrader-Reichardt U, Schaffer PM, Busch M, Dühmke E. Biomodulative effects induced by 805 nm laser light irradiation of normal and tumor cells. *J Photochem Photobiol B.* 1997; 40 (3): 253-257.

Silveira PC, Silva LA, Fraga DB, Freitas TP, Streck EL, Pinho R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B.* 2009; 95 (2): 89-92.

Sussai DA, Carvalho PTC, Dourado DM, Belchior ACG, Reis FA, Pereira DM. Low-level laser therapy attenuates creatine kinase levels and apoptosis during forced swimming in rats. *Lasers Med Sci.* 2010; 25 (1): 115-20.

Szubski C, Burtscher M, Loscher WN. Neuromuscular fatigue during sustained contractions performed in short-term hypoxia. *Med Sci Sports Exerc.* 2007; 39 (6): 948-954.

Totsuka M, Nakaji S, Suzuki K, Sugawara K, Sato K. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *J Appl Physiol*. 2002; 93 (4): 1280-1286.

Tunér J, Hode L. Low level laser therapy. Clinical practice and scientific background. Sweden: Prima Books, 1999.

Váczai M, Costa A, Rácz L, Tihanyi J. Effects of consecutive eccentric training at different range of motion on muscle damage and recovery. *Acta Physiol Hung*. 2009; 96 (4): 459-468.

Vasheghani MM, Bayat M, Dadpay M, Habibie M, Rezaei F. Low-level laser therapy using 80-Hz pulsed infrared diode laser accelerates third-degree burn healing in rat. *Photomed Laser Surg*. 2009; 27 (6): 959-964.

Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc)*. 2004; 69 (1): 81-90.

WALT - World Association for Laser Therapy. Consensus agreement on the design and conduct of clinical studies with low level laser therapy and light therapy for musculoskeletal pain and disorders. *Photomed Laser Surg*. 2006; 24 (6): 761-762.

WALT - World Association for Laser Therapy. Recommended anti-inflammatory dosage for Low Level Laser Therapy WALT 2010. Disponível em <http://www.walt.nu/dosage-recommendations.html>. Acesso em: 18 de maio de 2010.

Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med*. 1999; 27 (1): 43-59.

Weir JP, Beck TW, Cramer JT, Housh TJ. Is fatigue all in your head? A critical review of the central governor model. *Br J Sports Med*. 2006; 40 (7): 573-586.

White JP, Wilson JM, Austin KG, Greer BK, St John N, Panton LB. Effect of carbohydrate-protein supplement timing on acute exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr*. 2008; 5: 5.

Wilson JM, Kim JS, Lee SR, Rathmacher JA, Dalmau B, Kingsley JD, Koch H, Manninen AH, Saadat R, Panton LB. Acute and timing effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on indirect markers of skeletal muscle damage. *Nutr Metab (Lond)*. 2009; 6: 6.

Xu X, Zhao X, Liu TC, Pan H. Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomed. Laser Surg*. 2008; 26 (3): 197-202.

Yamaura M, Yao M, Yaroslavsky I, Cohen R, Smotrich M, Kochevar IE. Low level light effects on inflammatory cytokine production by rheumatoid arthritis synoviocytes. *Lasers Surg Med*. 2009; 41 (4): 282-290.



**ANEXO A**

**- Artigo publicado no periódico *Photomedicine and Laser Surgery* -**

# Effect of Light-Emitting Diodes Therapy (LEDT) on Knee Extensor Muscle Fatigue

Bruno Manfredini Baroni, B.Sc.,<sup>1</sup> Ernesto Cesar Pinto Leal Junior, Ph.D.,<sup>2</sup> Jeam Marcel Geremia, B.Sc.,<sup>1</sup> Fernando Diefenthaler, Ph.D.,<sup>3</sup> and Marco Aurélio Vaz, Ph.D.<sup>1</sup>

## Abstract

**Objective:** The purpose of this study was to evaluate the effects of light-emitting diodes therapy (LEDT) on quadriceps muscle fatigue by using torque values from the isokinetic dynamometer as an outcome measure. **Background Data:** Light therapy is considered an innovative way to prevent muscle fatigue. Although positive results have been obtained in animal models and in clinical experiments, no results are available on the effects of this therapeutic modality on human performance studies with isokinetic dynamometry. **Materials and Methods:** Seventeen healthy and physically active male volunteers were included in a crossover randomized double-blinded placebo-controlled trial. They performed two sessions of an isokinetic fatigue test (30 maximal concentric knee flexion–extension contractions; range of motion, 90 degrees; angular velocity, 180 degrees per second) after LEDT or placebo treatment. Maximal knee extensor muscle isokinetic voluntary contractions were performed before (PRE-MVC) and after (POST-MVC) the fatigue test. LEDT treatment was performed with a multidiode cluster probe (34 red diodes of 660 nm, 10 mW; 35 infrared diodes of 850 nm, 30 mW) at three points of the quadriceps muscle, with a total irradiating dose of 125.1 J. **Results:** No differences were observed in the PRE-MVC between LEDT ( $284.81 \pm 4.52$  Nm) and placebo ( $282.65 \pm 52.64$  Nm) treatments. However, for the POST-MVC, higher torques ( $p = 0.034$ ) were observed for LEDT ( $237.68 \pm 48.82$  Nm) compared with placebo ( $225.68 \pm 44.14$  Nm) treatment. **Conclusion:** LEDT treatment produced a smaller maximal isometric torque decrease after high-intensity concentric isokinetic exercise, which is consistent with an increase in performance.

## Introduction

MUSCLE FATIGUE IS a complex process, the mechanisms of which are not fully understood. However, the most common manifestation of muscle fatigue has been described as impairment in muscle function, resulting in muscle-power decrease. This phenomenon is dependent on exercise intensity and time duration, as well as subject age, gender, motivation, and adaptation to the required task. This means that muscle fatigue is a multifaceted process involving physiological, biomechanical, and psychological elements.<sup>1–6</sup>

Preventing and/or postponing muscle fatigue through light therapy is relatively new in the area of exercise physiology, and the optimal parameters in the use of this technique with such a purpose have not yet been determined. A pioneer study showed that low-level laser therapy (LLLT) can delay the inevitable decline in maximal tension during repeated electrically induced tetanic contractions in an animal model.<sup>7</sup> Also, specific doses of LLLT reduced muscle damage when

compared with that in non-irradiated groups.<sup>7</sup> Subsequent human model studies showed that professional male volleyball athletes subjected to repeated voluntary movements of elbow flexion–extension using free weights produced a significant higher number of repetitions when previously irradiated with red (655-nm) LLLT,<sup>8</sup> and infrared (830-nm) LLLT.<sup>9</sup> In both trials, no difference on blood lactate levels after exercise between LLLT and placebo treatment was observed.

A possible limitation of these experimental studies<sup>8,9</sup> is related to the single laser probes used to administer LLLT. This kind of probe allows the irradiation of a small muscle area per irradiation, leading to an increased irradiation time to reach the entire muscle. Therefore, when one seeks to reduce or postpone fatigue by using light therapy, a larger irradiation area would be more effective, as was shown in another study using volleyball athletes that had positive results in exercise performance, blood lactate concentration, and muscle damage with a multidiode cluster probe.<sup>10</sup> This apparatus, which has been available on the market for two

<sup>1</sup>Exercise Research Laboratory (LAPEX); Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre RS, Brazil.

<sup>2</sup>Center for Research and Innovation in Laser, Nove de Julho University (UNINOVE), São Paulo, SP, Brazil.

<sup>3</sup>Physical Education Department, Federal University of Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil.

decades, typically has several visible red and infrared light-emitting diodes (LEDs). LEDs are cheaper to manufacture and have larger spot sizes than laser diodes. Also, it appears that therapeutic effects ascribed to monochromatic light relate more to wavelength and dose than to the light source.<sup>11</sup>

Although this experimental protocol was designed to evaluate the athletes' muscle fatigue, the angular velocity was not controlled during the elbow flexion–extensions. The angular velocity (or the muscle-shortening velocity) is an important variable affecting muscle force production, as described by the force–velocity relation,<sup>12</sup> affecting muscle fatigue. For this reason, isokinetic dynamometers are considered the gold-standard equipment to measure muscle performance and consequently muscle fatigue.<sup>13</sup> Commonly, the mechanical quantification of fatigue is determined by comparing the maximal isometric voluntary contractions (MVCs) performed before and after a given exercise test in these dynamometers.<sup>4</sup> To the best of our knowledge, only one pilot study used an isokinetic dynamometer to evaluate the LLLT effects on quadriceps muscle fatigue induced by electrical stimulation in five healthy volunteers. These preliminary results showed no differences in knee-extensor torque production between LLLT and control situations,<sup>14</sup> suggesting that LLLT is unable to decrease muscle fatigue.

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effects of LEDT on muscle fatigue by using an LED multi-diode cluster probe before an isokinetic concentric knee flexion–extension fatigue protocol.

## Materials and Methods

### *Ethical aspects*

The study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul. All subjects signed an informed-consent form before participating in the study.

### *Sample*

Sample size was determined based on the following aspects: similar sample size to the one used in studies with a similar isokinetic fatigue protocol (*e.g.*, Pincivero et al.,<sup>15</sup> who demonstrated high intraclass correlation coefficients between test and retest in 21 subjects); and based on the fact that most experiments conducted with humans involving light therapy and fatigue have used samples with five to 12 participants.<sup>8–10,14</sup> Therefore, a total of 20 subjects was initially determined. These subjects were included according to the following criteria: (a) male volunteers between 18 and 35 years old; (b) healthy and physically active subjects (exercising at least 3 times per week); (c) without any lower-limb musculoskeletal injury within a period of 30 days before the tests; and (d) able to perform the fatigue test in such a way that they reach maximal peak torque by the fifth repetition with progressive decrease in peak torque with subsequent repetitions.

### *Experimental design*

The study was designed as a crossover, randomized, double-blind, and placebo-controlled trial. Before data acquisition volunteers were randomized by using a simple drawing of lots (A and B). For participants in the lot A, LEDT was given at the first session, and placebo treatment was

given at the second session. The inverse order was used for participants in lot B. All participants were crossed over during the experiment, to compare the outcomes after LEDT and placebo treatments, respectively.

The group allocation code from the drawing of lots was performed by a technician who set the control unit accordingly to either an LEDT or a placebo mode. This technician was instructed not to communicate the type of treatment given to either the participants or the researchers responsible for the dynamometer data collection. The volunteers used opaque goggles during the therapy to protect their eyes from the treatment and to help in the blindness of the study. For the same reason, researchers were not present in the dynamometer room during LEDT or placebo treatments. Thus, the treatment allocation was concealed from participants and researchers.

The experiment followed a 2-day protocol with a minimum of a 72-h interval between testing sessions. The volunteers were submitted to the same evaluation protocol in these two sessions.

### *Protocol*

Information regarding procedures and exercise tests was given, and any questions were answered before the testing protocol. All subjects performed a warm up on a cycle ergometer for 5 min (mean cadence of 80 rpm and load established by the volunteer). After the warm up, the subject was properly positioned with the dominant lower limb on the Isokinetic Dinamometer Biodex System 3 Pro (Biodex Medical System, Shirley, NY), following the recommendations of the manufacturer for evaluations of knee flexion–extension movement.

In the first part of the protocol, the knee-extensor maximal peak torque was determined. Three knee-extensor maximal isometric voluntary contractions (MVCs) were performed at the knee-joint angle of 60 degrees (0 degrees = total knee extension). Each MVC lasted 5 sec, and 2-min intervals were observed between consecutive contractions. Subjects were verbally encouraged during MVCs to obtain maximal effort. The highest isometric peak torque value obtained among the three MVCs was considered the maximal isometric voluntary knee-extensor contraction before exercise (PRE-MVC).

PRE-MVC was followed by a resting period of 60 sec, after which volunteers performed a familiarization isokinetic protocol. This protocol consisted of five submaximal voluntary repetitions of knee flexion–extension in concentric mode at an angular velocity of 180 degrees per second, with a 90-degree total range of motion (ROM). After familiarization, subjects rested for 5 min before the fatigue protocol. During this period, LEDT or placebo treatment was conducted (see LEDT application and parameters).

Two minutes after LEDT or placebo application, the fatigue protocol started. This protocol consisted of 30 maximal isokinetic concentric repetitions of knee flexion–extension performed at an angular velocity of 180 degrees per second with a 90-degree ROM.<sup>15</sup> All participants were instructed to perform the exercise with the highest intensity possible from the first repetition, and verbal encouragement was given to the subjects throughout the fatigue protocol.

After completion of the fatigue protocol, the dynamometer automatically positioned the lower limb at a knee-joint angle

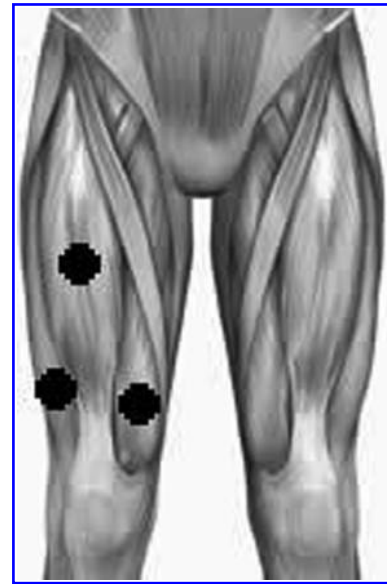
of 60 degrees, and a new 5-sec knee-extensor MVC was performed, approximately 10sec after exercise finish. The peak torque value was considered the maximal isometric voluntary knee-extensors contraction after exercise (POST-MVC).

An experimental protocol flow chart is presented in Fig. 1.

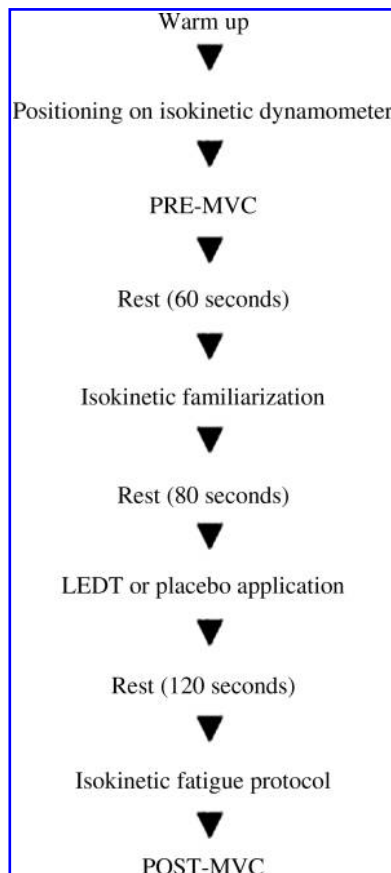
*LEDT application and parameters*

During all trials, participants received a single treatment (LEDT or placebo), according to the randomization procedure) through a Thor DD2 Control Unit (Thor®, London, England) with a LED multidiode cluster probe (with 34 diodes of 660nm and 35 diodes of 850nm) of the same manufacturer.

LEDT parameters were similar to those used by Leal Junior et al.<sup>16</sup>: 30 sec per point, except that three application points were used instead of two, with the aim of irradiating a larger quadriceps area. The central belly of the rectus femoris, as well as the most prominent point of the vastus medialis and vastus lateralis muscles, was defined by palpation and marked for LEDT or placebo irradiation. The application started 80 sec after the end of the familiarization protocol and finished 120 sec before the fatigue protocol, with a total irradiation time of 30 sec per point. Between each application point, a 5-sec period was necessary to correct the cluster-probe position. The placebo application was exactly the same as the LEDT, but with the device turned off. Fig. 2



**FIG. 2.** Application points (black circles) used for LEDT or placebo treatment.



**FIG. 1.** Flow chart illustrating subjects' progression through the protocol.

shows the LEDT or placebo application points, and Table 1 presents the parameters used during LEDT treatment.

*Statistical analysis*

From the isokinetic fatigue protocol, the following parameters were obtained for analysis: Peak Torque, defined as the maximal knee-extensor torque value obtained during the fatigue test, always reached between first and fifth repetition (expressed in Newton-meters); Average Peak Torque, the mean value calculated by the peak torque reached in each repetition of the fatigue test (in Newton-meters); Average Power, the mean value calculated by the power reached in each repetition of fatigue test (in Watts); Total Work, the sum of work performed in each repetition of fatigue test (in Joules); and Work Fatigue Index, defined as a percentage decline in work performed and calculated by the division of the work performed during the last one third of the fatigue

**TABLE 1.** LEDT PARAMETERS USED PREVIOUS TO THE FATIGUE PROTOCOL

Number of LEDs: 69 (34 red diodes; 35 infrared diodes)
Wavelength: 660nm (red diodes); 850nm (infrared diodes)
LED mode: Continuous output
Optical output: 10 mW (red diodes); 30 mW (infrared diodes)
LED spot size: 0.2 cm <sup>2</sup> (for both red and infrared diodes)
Power density: 0.05 W/cm <sup>2</sup> (red diodes); 0.15 W/cm <sup>2</sup> (infrared diodes)
Energy: 41.7 Joules at each point (0.3J from each red diode; 0.9J from each infrared diode)
Energy density: 1.5J/cm <sup>2</sup> at each point (red diodes); 4.5J/cm <sup>2</sup> at each point (infrared diodes)
Treatment time: 30 sec at each point
Number of irradiation points per muscle: 3
Total energy delivered per muscle: 125.1 Joules
Application mode: Probe held stationary in skin contact at a 90-degree angle with slight pressure

TABLE 2. KNEE EXTENSOR MUSCLE PERFORMANCE ON ISOKINETIC FATIGUE PROTOCOL (MEAN  $\pm$  SD)

	LEDT	Placebo	p Value
Peak torque (Nm)	153.62 $\pm$ 27.11	156.00 $\pm$ 27.01	0.231
AVG peak torque (Nm)	114.51 $\pm$ 16.54	114.02 $\pm$ 15.73	0.648
AVG power (W)	216.62 $\pm$ 32.46	210.77 $\pm$ 41.86	0.397
Total work (J)	4,113.25 $\pm$ 677.31	4,205.19 $\pm$ 746.15	0.182
Work fatigue index (%)	47.17 $\pm$ 8.38	49.18 $\pm$ 5.06	0.140

test (last 10 repetitions) by the work performed during the first one third (first 10 repetitions). Comparison between LEDT and placebo conditions was analyzed by using a paired two-sided Student's *t* test.

The absolute torque values obtained in the MVCs were compared by using a two-way ANOVA followed by a Holm-Sidak *post hoc* test to determine differences between PRE-MVC and POST-MVC after LEDT and placebo treatments. All statistical comparisons were performed by using a significance level set at 5%.

## Results

After data collection, three volunteers had to be excluded from the sample: one subject could not perform the second session because of a musculoskeletal injury (inclusion criterion c), and two subjects did not have a satisfactory performance during the isokinetic fatigue protocol in any of the two testing sessions (inclusion criterion d). Therefore, the final sample was composed of 17 volunteers (26.29  $\pm$  4.33 years; 75.24  $\pm$  6.34 kg; and 1.78  $\pm$  0.05 m).

No differences were observed for all performance variables of the knee-extensor muscles in the isokinetic fatigue protocol between LEDT and placebo treatments (Table 2). No difference was found ( $p=0.675$ ) in PRE-MVC torque values between LEDT (284.81  $\pm$  54.52 Nm) and placebo (282.65  $\pm$  53.64 Nm) treatments. The isokinetic fatigue protocol led to a decrease ( $p < 0.001$ ) in maximal isometric torque after both LEDT and placebo treatments. However, higher torque values ( $p=0.034$ ) were observed in POST-MVC for LEDT (237.68  $\pm$  48.82 Nm) compared with placebo (225.68  $\pm$  44.14 Nm) treatment (Fig. 3).

## Discussion

The similarity in the isokinetic results of knee extensors during the two sessions of the fatigue protocol (Table 2) demonstrated that the volunteers' performance was very similar between tests (*i.e.*, the crossover design was justified and worked to reduce any effect of bias or learning that may have occurred between the first and second sessions). Also, the similarity in maximal isometric torque between LEDT and placebo conditions during PRE-MVC (Fig. 3) demonstrated that subjects had the same capacity for force production at the initial moment of both testing sessions. In other words, subjects came for the two sessions with similar maximal isometric torque capacities and performed both tests with similar intensity. Therefore, any differences found in POST-MVC values cannot be attributed to possible pre-existent differences in the two experimental conditions.

The difference in POST-MVC values between placebo and LEDT treatments shows that an effect of LEDT treatment

was present on maximal isometric knee-extensor torque. More specifically, the fact that POST-MVC in the placebo condition was smaller than in the LEDT is evidence of preservation of the maximal capacity for torque generation by LEDT irradiation. Whereas in the LEDT condition, the ability to generate isometric torque decreased on average by  $\sim 16\%$ , in the placebo condition, it decreased  $\sim 20\%$ . This further demonstrates that the application of LEDT before the isokinetic fatigue protocol improves the isometric performance after exercise. These results are in agreement with previous studies that tried to prevent fatigue by using LLLT<sup>7-9</sup> and LEDT.<sup>10</sup>

The use of light therapy to prevent muscle fatigue was first reported by Lopes-Martins et al.<sup>7</sup> These authors performed electrically elicited repetitive tetanic contractions in the tibialis anterior muscle of rats previously irradiated with different doses of LLLT (0.5 J/cm<sup>2</sup>, 1.0 J/cm<sup>2</sup>, 2.5 J/cm<sup>2</sup>, and control) by using a visible red laser (655 nm) and a continuous power output of 2.5 mW. This study demonstrated that LLLT could delay the inevitable decline in maximal peak force due to fatigue during repeated contractions. In addition, specific doses of LLLT reduced muscle damage, measured by creatine kinase levels.

By using the same visible red laser (655 nm) of the previously mentioned animal study, Leal Junior et al.<sup>8</sup> applied 5 J in each of four points along the ventral side of the biceps humeri muscle belly (50 mW of power output; 20 J of total energy delivered) of 12 male professional volleyball players, subjected to repetitive voluntary elbow flexion-extension movements by using free weights. A significant increase was observed in the total number of repetitions performed after LLLT treatment, despite the fact that the increase of blood

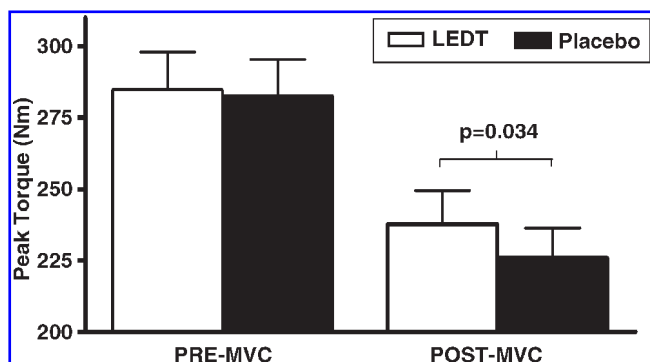


FIG. 3. PRE-MVC and POST-MVC knee-extensor maximal isometric torques for LEDT and placebo treatments (mean  $\pm$  SEM). The bracket indicates differences in POST-MVC between LEDT and placebo ( $p$  value above the bracket).



lactate levels did not differ from the control situation. In a subsequent experiment,<sup>9</sup> authors found similar results by using the same fatigue protocol to measure the effects of an infrared laser (830 nm, 100 mW, and 5 J, delivered at four points on the muscle belly, also 20 J of total energy) delivered on the biceps muscle.

Recently, this experimental model was used in a third experiment,<sup>10</sup> now using the same multidiode cluster probe of the present study (660/850 nm; 10/30 mW; 41.7 J of total energy irradiated). The results demonstrated again the positive effects on performance, as well as a minor increment in blood lactate concentration and a protective effect of LEDT on muscle damage (measured by creatine kinase levels), similar to that shown in another study involving high-intensity cycle-ergometer exercise.<sup>16</sup> These findings corroborate an idea defended by Enwemeka<sup>11</sup> that therapeutic effects of monochromatic light relate more to wavelength (range of 600–1,000 nm) and doses than to the source of light (laser or LED, for example).

To the best of our knowledge, only one published pilot study involved light-therapy application using an isokinetic dynamometer to evaluate fatigue.<sup>14</sup> Five volunteers had fatigue induced in their quadriceps muscles by repeated electrical stimulation. The authors opted to use a scanner laser (808 nm, 500 mW) that irradiated the quadriceps muscle during 5 and 10 min, applying the respective dosages of 3 J and 7 J. Their results showed no differences in peak torque decrement between LLLT and control situations. Their absence of laser effects on electrically elicited torques might be related to the laser parameters used. More specifically, their delivered dosage was considerably lower than that used in the present study. Also, the scanner application method leads to a possible insufficient interaction time between laser and skeletal muscle tissue. The noncontact between skin and apparatus may have promoted a higher reflection of the irradiated energy, and consequently, less laser penetrated into the skin and muscle.

The likely mechanism that explains the prevention of muscle fatigue after light therapy is in the light–tissue interaction properties and the phenomena generate by this interaction, especially on blood circulation and cellular mitochondria.

It is well known that laser promotes arteriolar vasodilation and improves the peripheral microcirculation.<sup>17,18</sup> Consequently, an increase occurs in the muscle's blood supply, thereby increasing the oxygen supply to the tissue. Probably it provides better conditions to perform activities using the aerobic system and reduces the blood lactate accumulation, as observed by Leal Junior et al.<sup>10</sup> by using the same LEDT apparatus of the present study, although other studies<sup>8,9</sup> observed no effect of laser therapy in blood lactate accumulation after exercise.

The interaction between laser and mitochondria has been the focus of many studies, which observed a stimulatory effect that promotes an increment in mitochondrial capacity to generate adenosine triphosphate (ATP).<sup>19–21</sup> Manteifel et al.<sup>22</sup> observed, through three-dimensional analysis of human lymphocytes, the presence of giant mitochondria after laser irradiation, able to produce higher levels of ATP concentration. Studies in animal models also have shown laser effectiveness on oxidative stress to decrease.<sup>23,24</sup> This phenomenon consists of serial damage to the organ-

ism caused by imbalance between prooxidant and antioxidant agents, which may be due to an increase in the production of reactive oxygen species (ROS) or a decrease of cellular antioxidant capacity<sup>25</sup> that is closely related to a reduction in muscle performance.<sup>26,27</sup> In an experiment involving electrical stimulation of rat muscle cells in culture, Xu et al.<sup>28</sup> verified that laser treatment significantly decreased ROS production and restored the mitochondrial function. These authors suggested that light therapy is an innovative and noninvasive treatment in prevention of exercise-induced muscle fatigue, muscle damage, and other processes where mitochondrial function has a key role. This evidence supports the hypothesis that the key point to explain muscle-fatigue prevention by light therapy is at the mitochondrial level, especially related to an increase in the ATP synthesis and to a decrease in ROS production.

Although our results show evidence of a reduction in knee-extensor fatigue after LEDT, caution should be taken about the generalization of these findings. An interesting observation is that three of 17 participants did not show an increment in performance with LEDT treatment. It is possible that external factors, not related to LEDT or placebo administration, contributed to these results. An individual response to this type of therapy cannot be ignored. The monitoring of some biochemical markers of muscle function, such as blood lactate and creatine kinase levels, might help future studies to determine better the effects of LEDT in human muscle function. A more rigorous control of the volunteers' physical activities between sessions and a preliminary familiarization session on a separate day to train the subjects with the isokinetic fatigue protocol are some of the aspects that should be controlled in future studies.

In summary, LEDT was able to promote a smaller decrease in isometric torque after an isokinetic high-intensity concentric fatigue protocol. These findings reinforce the effectiveness of light therapies on muscle-fatigue prevention. Our results are novel in the area of light therapy and performance because they demonstrated for the first time the preventive effects of LEDT on muscle fatigue by using the most reliable apparatus to evaluate muscle function in humans.

#### Acknowledgment

Professor Ernesto Cesar Pinto Leal Junior would like to thank Fundo de Apoio a Pesquisa–FAP/UNINOVE for financial support.

#### Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

#### References

1. Allen, D.G., Lamb, G.D., and Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol. Rev.* 88, 287–332.
2. Fitts, R.H. (2008). The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.* 104, 551–558.
3. Enoka, R.M., and Duchateau, J. (2008). Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *J. Physiol.* 586, 11–23.

4. Cairns, S.P., Knicker, A.J., Thompson, M.W., and Sjogaard, G. (2005). Evaluation of models used to study neuromuscular fatigue. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 33, 9–16.
5. Weir, J.P., Beck, T.W., Cramer, J.T., and Housh, T.J. (2006). Is fatigue all in your head? A critical review of the central governor model. *Br. J. Sports Med.* 40, 573–586.
6. Szubski, C., Burtscher, M., Loscher, W.N. (2007). Neuro-muscular fatigue during sustained contractions performed in short-term hypoxia. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 948–954.
7. Lopes-Martins, R.A., Marcos, R.L., Leonardo P.S., et al. (2006). Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J. Appl. Physiol.* 101, 283–288.
8. Leal Junior, E.C., Lopes-Martins, R.B., Dalan, F., et al. (2008). Effect of 655 nm low power laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed. Laser Surg.* 26, 419–424.
9. Leal Junior, E.C., Lopes-Martins, R.B., Vanin, A.A., et al. (2009). Effect of 830 nm low level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med. Sci.* 24, 425–431.
10. Leal Junior, E.C.P., Lopes-Martins, R.A.B., Rossi, R.P., et al. (2009). Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Laser Surg. Med.* 41, 572–577.
11. Enwemeka, C.S. (2005). Light is light. *Photomed. Laser Surg.* 23, 159–160.
12. Hill, A.V. (1938). The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc. R. Soc.* 126, 136–195.
13. Brown, L.E. (2000). *Isokinetics in human performance.* Champaign, IL: Human Kinetics.
14. Gorgey, A.S., Wade, A.N., and Sobhi, N.N. (2008). The effect of low-level laser therapy on electrically induced muscle fatigue: a pilot study. *Photomed. Laser Surg.* 26, 501–506.
15. Pincivero, D.M., Lephart, S.M., and Karunakara, R.A. (1997). Reliability and precision of isokinetic strength and muscular endurance for the quadriceps and hamstrings. *Int. J. Sports Med.* 18, 113–117.
16. Leal Junior, E.C., Lopes-Martins, R.B., Baroni, B.M., et al. (2009). Comparison between single diode and cluster multi-diode low-level laser therapy (LLLT) applications before high-intensity exercises. *Photomed. Laser Surg.* 27, 617–623.
17. Maegawa, Y., Itoh, T., Hosokawa, T., Yaegashi, K., and Nishi M. (2000). Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg. Med.* 27, 427–437.
18. Ihsan, F.R. (2005). Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed. Laser Surg.* 23, 289–294.
19. Karu, T., Pyatibrat, L., and Kalendo, G. (1995). Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J. Photochem. Photobiol. B* 27, 219–223.
20. Oron, U., Ilic, S., De Taboada, L., and Streeter, J. (2007). Ga-As (808 nm) laser irradiation enhances ATP production in human neuronal cells in culture. *Photomed. Laser Surg.* 25, 180–182.
21. Silveira, P.C., Silva, L.A., Fraga, D.B., Freitas, T.P., Streck, E.L., and Pinho, R. (2009). Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J. Photochem. Photobiol. B* 95, 89–92.
22. Manteifel, V., Bakeeva, L., and Karu T. (1997). Ultra-structural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. *J. Photochem. Photobiol. B* 38, 25–30.
23. Fillipin, L.I., Mauriz, J.L., Vedovelli, K., et al. (2005). Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg. Med.* 37, 293–300.
24. Rizzi, C.F., Mauriz, J.L., Freitas Corrêa, D.S., et al. (2006). Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg. Med.* 38, 704–713.
25. Radák, Z., Kaneko, T., Tahara, S., et al. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 69–74.
26. Essig, D.A., and Nosek, T.M. (1997). Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. *Can. J. Appl. Physiol.* 22, 409–428.
27. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., and Wiley, R.L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 32, 1576–1581.
28. Xu, X., Zhao, X., Liu, T.C., and Pan H. (2008). Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomed. Laser Surg.* 26, 197–202.

Address correspondence to:

*Bruno Manfredini Baroni*

*Exercise Research Laboratory (LAPEX)*

*Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS)*

*Rua Felizardo, 750–Bairro Jardim Botânico*

*CEP: 90690-200*

*Porto Alegre RS*

*Brazil*

*E-mail: bmbaroni@yahoo.com.br*

**ANEXO B**

- Artigo publicado no periódico *European Journal of Applied Physiology* -



# Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans

Bruno Manfredini Baroni · Ernesto Cesar Pinto Leal Junior ·  
Thiago De Marchi · André Luiz Lopes · Mirian Salvador · Marco Aurélio Vaz

Accepted: 23 June 2010  
© Springer-Verlag 2010

**Abstract** The purpose of the present study was to determine the effect of low level laser therapy (LLLT) treatment before knee extensor eccentric exercise on indirect markers of muscle damage. Thirty-six healthy men were randomized in LLLT group ( $n = 18$ ) and placebo group ( $n = 18$ ). After LLLT or placebo treatment, subjects performed 75 maximal knee extensors eccentric contractions (five sets of 15 repetitions; velocity =  $60^\circ \text{ seg}^{-1}$ ; range of motion =  $60^\circ$ ). Muscle soreness (visual analogue scale—VAS), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) levels were measured prior to exercise, and 24 and 48 h after exercise. Muscle function (maximal voluntary contraction—MVC) was measured before exercise, immediately after, and 24 and 48 h post-exercise. Groups had no difference on kinanthropometric characteristics and on eccentric exercise

performance. They also presented similar baseline values of VAS (0.00 mm for LLLT and placebo groups), LDH (LLLT = 186 IU/l; placebo = 183 IU/l), CK (LLLT = 145 IU/l; placebo = 155 IU/l) and MVC (LLLT = 293 Nm; placebo = 284 Nm). VAS data did not show group by time interaction ( $P = 0.066$ ). In the other outcomes, LLLT group presented (1) smaller increase on LDH values 48 h post-exercise (LLLT = 366 IU/l; placebo = 484 IU/l;  $P = 0.017$ ); (2) smaller increase on CK values 24 h (LLLT = 272 IU/l; placebo = 498 IU/l;  $P = 0.020$ ) and 48 h (LLLT = 436 IU/l; placebo = 1328 IU/l;  $P < 0.001$ ) post-exercise; (3) smaller decrease on MVC immediately after exercise (LLLT = 189 Nm; placebo = 154 Nm;  $P = 0.011$ ), and 24 h (LLLT = 249 Nm; placebo = 205 Nm;  $P = 0.004$ ) and 48 h (LLLT = 267 Nm; placebo = 216 Nm;  $P = 0.001$ ) post-exercise compared with the placebo group. In conclusion, LLLT treatment before eccentric exercise was effective in terms of attenuating the increase of muscle proteins in the blood serum and the decrease in muscle force.

Communicated by Arnold de Haan.

B. M. Baroni (✉) · A. L. Lopes · M. A. Vaz  
Exercise Research Laboratory (LAPEX),  
Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS),  
Rua Felizardo, 750—Bairro Jardim Botânico,  
Porto Alegre, RS 90690-200, Brazil  
e-mail: bmaroni@yahoo.com.br

E. C. P. Leal Junior  
Section for Physiotherapy Science,  
Institute of Public Health and Primary Health Care,  
University of Bergen, Bergen, Norway

T. De Marchi  
Laboratory of Human Movement (LMH),  
University of Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS, Brazil

T. De Marchi · M. Salvador  
Laboratory of Oxidative Stress and Antioxidants,  
Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul (UCS),  
Caxias do Sul, RS, Brazil

**Keywords** Eccentric exercise · Delayed onset muscle soreness · Lactate dehydrogenase · Creatine kinase · Torque

## Introduction

Theodore Hough, in 1902, suggested that certain types of exercise could cause microdamage on muscle cells structure, establishing the concept of exercise-induced muscle damage (Hough 1902). Currently, damage has been suggested to happen when subjects perform an unaccustomed physical activity. Eccentric actions induce higher levels of muscle damage (Morgan and Allen 1999; Proske and Morgan 2001; Byrne et al. 2004; Howatson and van

Someren 2008), mainly when performed on the descending limb of the force–length relationship, as proposed by the popping-sarcomere theory (Morgan 1990). The most vulnerable structure to damage induced by exercise seems to be the Z-line, with damage also occurring on the sarcoplasmic membrane, sarcoplasmic reticulum, T-tubules, myofibrils and cytoskeletal system (in particular, titin and desmin) (Morgan and Allen 1999; Fridén and Lieber 2001).

This microscopic structural damage promotes functional impairment on the whole muscle, resulting in a decrease of force production capacity, change in force production optimal length and increase of passive tension (Morgan and Allen 1999; Proske and Morgan 2001). Delayed onset muscle soreness (DOMS), increase of muscle proteins in the blood, swelling and inflammatory response are also associated with damage (Morgan and Allen 1999; Proske and Morgan 2001; Clarkson and Hubal 2002; Cheung et al. 2003). Altogether, these changes lead to limitation of athletic performance (Byrne et al. 2004) and increased risk of injury (Cheung et al. 2003).

Direct verification of muscle damage in humans is possible using biopsy or magnetic resonance images. While biopsy may underestimate or overestimate the real damage, since the results of a small tissue fraction are extrapolated to the whole muscle, evaluation of magnetic resonance images still generates controversy related to the methods of image analysis in determining muscle damage (Clarkson and Hubal 2002). Therefore, most of the research in the area has used indirect markers of muscle damage. DOMS estimation is probably the most used tool for measuring muscle damage in humans, followed by the determination of muscle proteins in the blood (especially creatine kinase—CK) and the assessment of muscle force, which is considered as one of the best ways for measuring the damage magnitude (Warren et al. 1999).

Parallel to understanding the mechanisms of exercise-induced muscle damage, a growing interest in determining effective strategies to reduce their undesirable effects has been observed. Careful reviews (Cheung et al. 2003; Howatson and van Someren 2008), evaluating preventive and therapeutic modalities against muscle damage effects, showed the efficacy of strategies involving exercise, nutritional supplementation and pharmacological therapy. However, the lack of scientific evidence of some methods widely used in the field (e.g. cryotherapy, massage, stretching and electrical stimulation) emphasizes the importance of studying innovative non-invasive therapies in this area.

Therapeutic action of low level laser therapy (LLLT) has been the focus of research since the 1960s. The mechanism of action of this therapy on tissues has been attributed to the ability of light energy to be absorbed by cells, stimulating or inhibiting intracellular processes

according to the parameters used (Huang et al. 2009). Numerous studies have reported the effects of phototherapy on cutaneous wound healing (Al-Watban et al. 2007); regeneration of tendinous (Oliveira et al. 2009), muscle (Cressoni et al. 2008) and nervous tissues (Rochkind et al. 2009); and analgesic (Chow et al. 2009) and anti-inflammatory action (Yamaura et al. 2009).

Recent studies also showed the effectiveness of phototherapy in reducing muscle damage in animal experiments (Liu et al. 2009; Sussai et al. 2010; Leal Junior et al. 2010), corroborating previous findings observed in humans on DOMS (Douris et al. 2006) and blood markers (Leal Junior et al. 2009). These promising results perhaps can be explained by the anti-inflammatory effects of phototherapy (Yamaura et al. 2009), such as the ability of this therapy to reduce reactive oxygen species release (Rizzi et al. 2006), increase antioxidant capacity (Avni et al. 2005) and improve mitochondrial function (Xu et al. 2008).

Therefore, given the need for effective techniques against the undesirable effects of exercise-induced muscle damage and the promising results involving phototherapy, the purpose of this study was to determine the effects of LLLT (810 nm) before knee extensor eccentric exercise on DOMS, muscle proteins in blood and muscle function up to 48 h after exercise.

## Methods

### Subjects

Thirty-six male subjects aged between 19 and 35 years agreed to participate in the study through a written informed consent. All were healthy and physically active students, enrolled in recreational sports, but not competing at any specific level. They had no recent experience with isokinetic eccentric exercise, were not enrolled in strength training programs of the lower body and declared to be non-users of nutritional supplements. Volunteers agreed to not perform physical exercise or use any other therapeutic modalities and avoided the consumption of alcoholic beverages between data collection sessions.

### Experimental design

This study was approved by the university Ethics in Research Committee and was designed as a randomized double-blind placebo-controlled trial to verify the effects of LLLT before eccentric exercise on indirect markers of muscle damage. Subjects were randomized in LLLT group ( $n = 18$ ) and placebo group ( $n = 18$ ) by a technician responsible for LLLT or placebo application. Researchers were blinded to the subjects' allocation to the groups, and

were not present in the room during treatment application. Similarly, volunteers were blinded to LLLT or placebo applications, since both treatments did not result in any thermal stimulus for the subjects.

### Procedures

Each volunteer completed three visits to the laboratory with an interval of  $24 \pm 1$  h between visits. In the first session, volunteers were subjected to (1) kineanthropometric evaluation; (2) quadriceps muscle soreness evaluation through a visual analogue scale (VAS); (3) blood sampling for subsequent measurement of serum levels of lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK); (4) muscle function evaluation through maximal voluntary contraction (MVC) of knee extensors before eccentric exercise; (5) LLLT or placebo treatment; (6) eccentric exercise protocol; and (7) muscle function evaluation through knee extensors MVC immediately after eccentric exercise.

In the following sessions (24 and 48 h post-eccentric exercise), subjects returned to the laboratory for (1) blood sampling (LDH and CK); (2) quadriceps soreness evaluation (VAS); and (3) muscle function evaluation (MVC).

### Kineanthropometry

All body composition evaluations were performed by the same technician (level II of the International Society for the Advancement of Kineanthropometry—ISAK) using procedures established by ISAK (Marfell-Jones et al. 2006). Height, weight, length, diameter, perimeter and skinfold measurements allowed fractioning of total body mass into five components (fat, muscle, residual, bone and skin mass), which were used for group comparison as an additional way to ensure the group homogeneity.

### Muscle soreness—VAS

A visual analogue scale (VAS) was used to assess the volunteers' muscle soreness. In each evaluation, the same researcher instructed subjects in a standardized manner to perform a sub-maximal voluntary isometric knee extensor contraction, marking a vertical line at the scale point that best reflected their muscle soreness. The 100-mm horizontal line of the VAS did not have any marks or numbers, having just indications of “no soreness” at beginning and “extreme soreness” at end of the line. The soreness quantification was determined by the distance between the initial point line (0 mm) and the point marked by the subject (French et al. 2008; White et al. 2008; Wilson et al. 2009).

### Blood markers—LDH and CK

A licensed professional collected approximately 10 ml of blood from a suitable antecubital forearm vein before exercise, and 24 and 48 h after exercise. Blood was carefully transferred to evacuated blood collection tubes and centrifuged at 3,000 rpm for 20 min. Serum samples were removed and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until subsequent analysis. Enzymatic activity of lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) were determined in duplicate using commercially available kinetic UV assay kits (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa—MG, Brazil) according to the manufacturer's guidelines. The mean values obtained between the two samples were used for statistical analysis.

### Muscle function—MVC

Subjects were properly positioned with the dominant lower limb on the Isokinetic Dynamometer Biodex System 3 Pro (Biodex Medical System, Shirley—NY, USA), following the manufacturer's recommendations for evaluation of knee flexion–extension movements. Before each evaluation a warm-up (10 concentric knee flexion–extension repetitions at  $180^{\circ} \text{seg}^{-1}$  and maximal range of motion) was performed. Muscle function was assessed through the highest torque value obtained among three 5-s maximal voluntary contractions (MVC) at  $60^{\circ}$  of knee flexion ( $0^{\circ}$  = full knee extension). Two-minute rest between each MVC was observed to minimize possible fatigue effects. Volunteers were previously instructed to perform maximal force and verbal encouragement was given by researchers in each MVC.

### Treatment—LLLT or placebo

Both treatments were applied using the equipment THOR DD2 Control Unit (THOR<sup>®</sup>—London, UK), with the Infra-Red Laser Cluster Probe of the same manufacturer, consisting of five 810 nm diodes, each one with  $0.029 \text{ cm}^2$  area and 200 mW output power. Placebo treatment was performed exactly the same way as LLLT treatment, but with the device turned off. Treatments were performed before eccentric exercise with the probe held stationary in skin contact at a  $90^{\circ}$  angle with slight pressure. Figure 1 illustrates the six application points, defined by palpation of muscle bellies: two points on the distal region of vastus medialis; two points on the distal region of vastus lateralis; and two points on the central region of rectus femoris. LLLT or placebo treatment was applied for 30 s in each point. In this way, 30 J were applied per point (6 J each diode), resulting in a total of 180 J for the whole quadriceps muscle.



**Fig. 1** Application points (*black circles*) used for LLLT or placebo treatment

### *Eccentric exercise protocol*

In the first session, a 2-min rest was observed between the last MVC and the eccentric exercise familiarization. Thus, five sub-maximal knee extensor eccentric contractions were used to familiarize subjects with the movement, angular velocity and range of motion of the subsequent eccentric protocol used to induce muscle damage. Before each eccentric contraction, the volunteer's limb was passively extended to 30° of knee flexion. Each subject was encouraged to promote a knee extensor contraction as soon as the dynamometer arm reached this position. In response to the subject's extensor torque, the dynamometer drove the segment to 90° of knee flexion (range of motion = 60°) at an angular velocity of 60° seg<sup>-1</sup>. One minute after familiarization, LLLT or placebo treatment were administered as previously described.

After treatment, a 2-min rest period was observed before starting the eccentric exercise protocol. Muscle damage was induced through 75 maximal knee extensor eccentric contractions, which were divided in five sets of 15 repetitions with 30 s' rest between them. The exercise was

performed at an angular velocity of 60° seg<sup>-1</sup> (both passive and eccentric phases) and with a 60° range of motion (30°–90° of knee flexion). Thus, each eccentric contraction lasted 1 s, followed by 1-s rest during which the limb was passively extended, with each set lasting 30 s. Immediately after eccentric exercise, the dynamometer automatically positioned the lower limb at a knee joint angle of 60°, and about 10 s after exercise was finished, a new 5-s knee extensor MVC was performed. The MVC peak torque value was considered the volunteer's maximal force production capacity immediately after exercise.

### Statistical analyses

Kineanthropometric data of LLLT and placebo groups were compared through a One-Way ANOVA. The same statistical procedure was used to compare the eccentric exercise performance through the knee extensors peak torque per set and the knee extensors work per set.

A Two-Way ANOVA (group × time) was used to compare each of muscle soreness (VAS), enzymatic activity of lactate dehydrogenase (LDH), enzymatic activity of creatine kinase (CK) and muscle function (MVC). The same statistical procedure was adopted to compare the percentage change of LDH, CK and MVC. Data sphericity was tested through Mauchly's Test, and Greenhouse-Geisser correction factor was used when necessary. When interaction was observed, a repeated measures ANOVA was used within each group to determine changes between variables along the time, followed by a Bonferroni post-hoc test. In addition, a One-Way ANOVA was used within each time period (pre-exercise, immediately after exercise, 24 and 48 h after exercise) to compare the groups.

All statistical analyses were performed with an alpha level of  $P < 0.05$ . Results are presented in the text and tables as mean ± standard deviation and in the figures as mean ± standard error.

### Results

Significant differences were not observed between groups for kineanthropometric variables ( $P > 0.05$ ; Table 1). There was no difference ( $P > 0.05$ ) between groups on peak torque of knee extensors per set or knee extensor work per set (i.e. eccentric exercise performance). LLLT and placebo groups showed the following eccentric peak torque values: set 1 (303.40 ± 47.02 Nm; 298.14 ± 55.65 Nm); set 2 (275.91 ± 51.26 Nm; 274.97 ± 55.52 Nm); set 3 (262.28 ± 59.63 Nm; 265.74 ± 56.09 Nm); set 4 (262.38 ± 61.67 Nm; 252.63 ± 42.18 Nm); and set 5 (249.45 ± 60.25 Nm; 245.73 ± 41.84 Nm). LLLT and placebo groups presented

**Table 1** Physical characteristics of LLLT and placebo groups (mean  $\pm$  SD)

	LLLT	Placebo
Age (years)	25.35 $\pm$ 3.41	24.28 $\pm$ 5.48
Height (m)	1.76 $\pm$ 0.06	1.76 $\pm$ 0.06
Weight (kg)	75.94 $\pm$ 9.96	77.59 $\pm$ 10.35
Fat mass (%)	27.51 $\pm$ 5.87	29.66 $\pm$ 3.07
Muscle mass (%)	43.37 $\pm$ 5.20	42.10 $\pm$ 2.92
Residual mass (%)	11.76 $\pm$ 0.79	11.08 $\pm$ 0.74
Bone mass (%)	12.16 $\pm$ 0.93	12.09 $\pm$ 1.66
Skin mass (%)	5.19 $\pm$ 0.43	5.07 $\pm$ 0.60

the following eccentric knee extensor work values: set 1 (3009.75  $\pm$  438.77 J; 3002.92  $\pm$  734.94 J); set 2 (2619.01  $\pm$  534.74 J; 2713.37  $\pm$  768.15 J); set 3 (2555.24  $\pm$  682.59 J; 2532.51  $\pm$  746.94 J); set 4 (2414.64  $\pm$  699.33 J; 2354.39  $\pm$  535.88 J); and set 5 (2313.24  $\pm$  744.49 J; 2142.40  $\pm$  580.59 J).

Only data from the VAS did not show group by time interaction ( $P = 0.066$ ). VAS values were similar between groups ( $P = 0.071$ ) and increased with time in both groups (Table 2). Groups were also similar ( $P > 0.05$ ) on baseline values for all the other muscle damage markers (Table 2). However, LLLT group presented (1) smaller increase of absolute (Table 2;  $P = 0.017$ ) and percentage (Fig. 2;  $P = 0.013$ ) LDH values 48 h after exercise; (2) smaller increase of absolute (Table 2;  $P = 0.020$ ) and percentage (Fig. 2;  $P = 0.023$ ) CK values 24 h after exercise; (3) smaller increase of absolute (Table 2;  $P < 0.001$ ) and percentage (Fig. 2;  $P = 0.001$ ) CK values 48 h after exercise; (4) smaller fall of absolute (Table 2;  $P = 0.011$ ) and percentage (Fig. 3;  $P = 0.031$ ) MVC values

immediately after exercise; (5) smaller fall of absolute (Table 2;  $P = 0.004$ ) and percentage (Fig. 3;  $P = 0.002$ ) MVC values 24 h after exercise; and (6) smaller fall of absolute (Table 2;  $P = 0.001$ ) and percentage (Fig. 3;  $P = 0.001$ ) MVC values 48 h after exercise compared with the placebo treatment group.

## Discussion

The aim of the present study was to verify the effect of LLLT before knee extensor eccentric exercise on the most commonly used indirect markers of muscle damage in humans: muscle soreness, blood circulating proteins and impairment of muscle function. VAS data did not show group by time interaction, indicating that treatments promoted similar effects on muscle soreness. However, results indicated that subjects treated with LLLT before eccentric exercise show attenuation of some indirect markers of muscle damage: LLLT group showed a smaller increment of LDH levels 48 h after exercise, a smaller increment of CK levels 24 and 48 h after exercise, as well as a less marked decrease in force immediately after exercise and a better recovery of muscle function 24 and 48 h post-exercise.

Muscle soreness subjective perception is the most used measurement tool in studies involving exercise-induced muscle damage in humans (Warren et al. 1999). Although VAS is a validated instrument largely used in muscle damage studies (Cheung et al. 2003), several authors reported data with high dispersion in soreness perception (Brown et al. 1997; French et al. 2008; White et al. 2008). This variability makes it difficult to obtain significant results from a statistical point of view, as observed in this

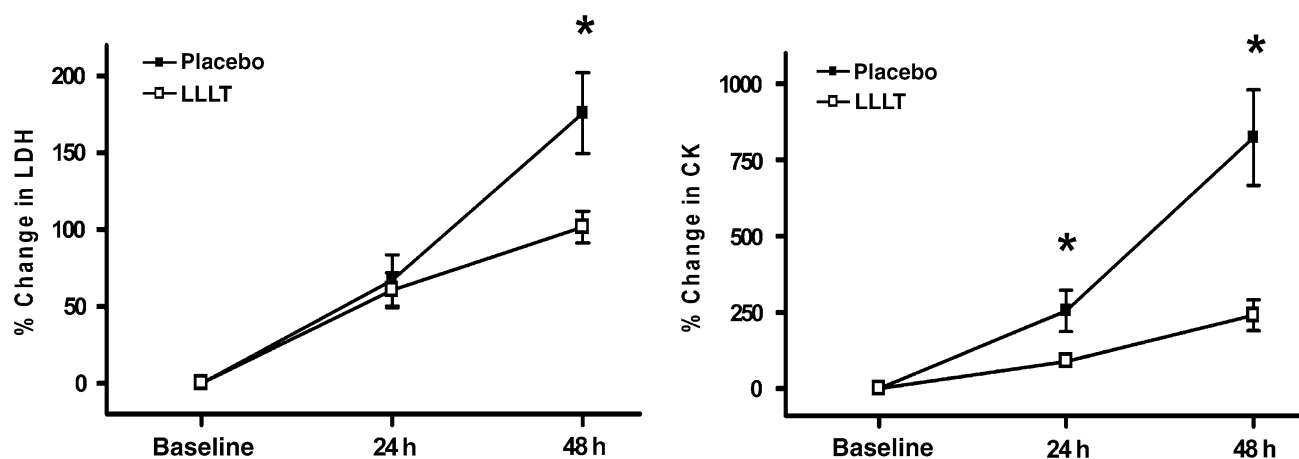
**Table 2** Indirect markers of exercise-induced muscle damage (mean  $\pm$  SD)

	Baseline	Immediately after	24 h	48 h
VAS (mm)				
LLLT	0.00 $\pm$ 0.00	–	21.39 $\pm$ 20.31 <sup>a, d</sup>	29.78 $\pm$ 30.75 <sup>a, c</sup>
Placebo	0.00 $\pm$ 0.00	–	32.17 $\pm$ 19.92 <sup>a, d</sup>	50.78 $\pm$ 29.79 <sup>a, c</sup>
LDH (IU/l)				
LLLT	186.02 $\pm$ 44.92	–	296.93 $\pm$ 99.98 <sup>a, d</sup>	366.06 $\pm$ 84.46 <sup>* a, c</sup>
Placebo	182.59 $\pm$ 43.84	–	290.10 $\pm$ 87.54 <sup>a, d</sup>	483.85 $\pm$ 180.29 <sup>* a, c</sup>
CK (IU/l)				
LLLT	144.69 $\pm$ 59.01	–	271.70 $\pm$ 146.31 <sup>* a, d</sup>	435.95 $\pm$ 238.04 <sup>* a, c</sup>
Placebo	155.16 $\pm$ 51.27	–	497.75 $\pm$ 362.97 <sup>* a, d</sup>	1327.58 $\pm$ 949.82 <sup>* a, c</sup>
MVC (Nm)				
LLLT	292.92 $\pm$ 42.93	188.93 $\pm$ 43.04 <sup>* a, c, d</sup>	249.43 $\pm$ 42.61 <sup>* a, b, d</sup>	267.09 $\pm$ 37.40 <sup>* a, b, c</sup>
Placebo	283.98 $\pm$ 47.07	154.03 $\pm$ 34.57 <sup>* a, c, d</sup>	205.09 $\pm$ 43.52 <sup>* a, b</sup>	216.14 $\pm$ 50.17 <sup>* a, b</sup>

\* Different from the other group

<sup>a</sup> Different from baseline, <sup>b</sup> different from immediately after, <sup>c</sup> different from 24 h, <sup>d</sup> different from 48 h



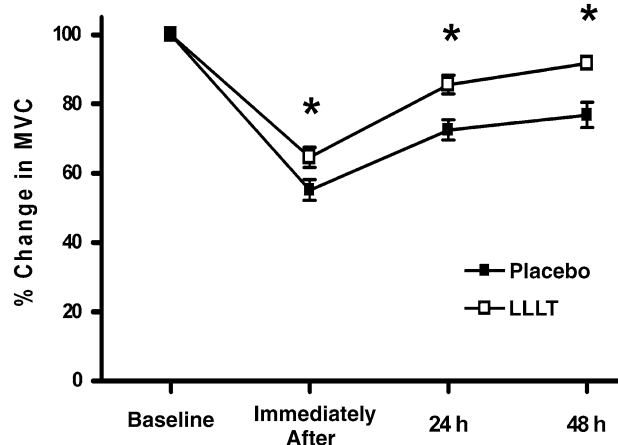


**Fig. 2** Percent change in creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) values across the 48 h after eccentric exercise (mean  $\pm$  SE). Asterisk indicates significant difference between groups ( $P < 0.05$ )

trial. Previous studies showed mixed results about the effects of LLLT on DOMS. While Douris et al. (2006) applied phototherapy after arm eccentric exercise each day for five consecutive days and found a reduction of DOMS, Craig et al. (1999) did not observe beneficial effects of this therapy. In the present study, even though the statistical approach indicated no protective effect of LLLT on DOMS, a trend in favour of this therapy can be observed in the VAS mean values.

Since intensity of exercise (Chen et al. 2007), number of repetitions (Brown et al. 1997), angular velocity (Chapman et al. 2006), range of motion (Váczai et al. 2009), and the use of upper or lower limbs (Jamurtas et al. 2005) directly influence damage magnitude, comparison with studies that used different exercise protocols is difficult. In addition, due to the large discrepancy of CK peak values observed in response to eccentric exercise (236–25,244 IU/l) (Nosaka and Clarkson 1996), some researchers have chosen to classify subjects into low and high responders (Totsuka et al. 2002), while some studies minimize this discrepancy through logarithmical transformations (Brown et al. 1997; French et al. 2008). One possibility to decrease variability would be to perform a crossover experimental design, which was not done in the present study due to the frequent reports in the literature about the protective effect promoted by repeated bouts of eccentric exercise (Brown et al. 1997; Nosaka et al. 2001). Therefore, subjects were selected with similar physical characteristics and randomized into two groups that, according to Table 1, presented similar kinanthropometric characteristics. In addition, a higher sample size per group than most studies found in the literature was used in order to minimize this heterogeneity (Brown et al. 1997; Nosaka et al. 2001; Jamurtas et al. 2005; Chapman et al. 2006; Chen et al. 2007; French et al. 2008; White et al. 2008; Wilson et al. 2009).

The smaller increase in blood markers after eccentric exercise in LLLT group agrees with recent reports (Liu



**Fig. 3** Percent change in maximal voluntary contraction (MVC) across the 48 h after eccentric exercise (mean  $\pm$  SE). Asterisk indicates significant difference between groups ( $P < 0.05$ )

et al. 2009; Leal Junior et al. 2009; Sussai et al. 2010; Leal Junior et al. 2010). Liu et al. (2009) showed histological and biochemical evidence that phototherapy reduces muscle damage in the gastrocnemius muscle of rats subjected to downhill running. Sussai et al. (2010) demonstrated that this therapy attenuates CK levels and apoptosis during forced swimming in rats. Leal Junior et al. (2010), in a study of the effects of LLLT on muscle fatigue, also found smaller CK activity after electrically stimulated contractions in the tibialis anterior muscle of rats treated with LLLT. Moreover, in humans, Leal Junior et al. (2009) observed lower signs of damage (CK) and inflammatory response (C-reactive protein) immediately after exercise when athletes were treated with phototherapy previously to exercise using free weights.

Other human studies used LLLT after eccentric exercise for the treatment of muscle damage (Craig et al. 1999; Douris et al. 2006). However, we chose to apply a single

LLLT treatment immediately before eccentric exercise as a preventative measure against muscle damage. Thus, we tried to verify possible effects of this therapy on isometric MVC immediately after exercise, when the fall in force production is due to both muscle damage and fatigue (Proske and Morgan 2001). A previous study from our group, focused on phototherapy effects on exercise-induced muscle fatigue, showed attenuation in the fall of quadriceps MVC values immediately after isokinetic concentric exercise when volunteers were treated with this therapy pre-exercise (Baroni et al. 2010). The main findings of the present study confirm these previous results, reinforcing the effectiveness of phototherapy on decreasing muscle fatigue independent of the contraction type.

While impairments of force production capacity due to fatigue are completely reversed at relatively short time periods (a few hours), damaged muscles need several days for total functional recovery (Hough 1902; Clarkson and Hubal 2002). Thus, MVC values from 24 to 48 h after exercise show the LLLT effect specifically on exercise-induced muscle damage, since maximal isometric torque evaluation is one of the most reliable ways to assess this phenomenon (Warren et al. 1999). In this way, reported results showed that impairments to muscle function until 2 days after eccentric exercise were considerably attenuated by LLLT treatment, a finding with an interesting practical applicability to sports medicine. However, recovery of force levels was measured only up to 48 h after eccentric exercise, and maximal isometric torques remained lower than baseline values at this time. It would be interesting in future studies to assess recovery for a longer period of time in order to determine the time needed by LLLT and placebo groups to completely restore their muscle function.

The exact mechanism of action by which LLLT acts on the reduction of muscle damage remains to be established. The present study was not designed at identifying these mechanisms, and the evaluated outcomes do not allow for direct determination of these mechanisms. However, some inferences may be made from etiologic knowledge of damage, which has been divided into two stages: the primary damage, caused mainly by mechanical stress (Howatson and van Someren 2008); and the secondary damage, caused by a cascade of metabolic events triggered from  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis disruption (Morgan and Allen 1999; Howatson and van Someren 2008), and that promotes the inflammatory response (Clarkson and Hubal 2002) and the deleterious action of reactive oxygen species (Nikolaidis et al. 2008), among others. Thus, when phototherapy is applied after exercise (e.g. Craig et al. 1999; Douris et al. 2006), this therapy acts just on the secondary damage stage, whilst the treatment prior to exercise influences the intracellular processes since the primary damage stage.

Evidence about the anti-inflammatory effects of phototherapy have been shown in the literature (Yamaura et al. 2009), such as the effect of LLLT in reducing the release of reactive oxygen species (Rizzi et al. 2006) and in increasing antioxidant capacity (Avni et al. 2005). In addition, phototherapy improves the mitochondrial function, as observed by experiments involving muscle cell cultures (Xu et al. 2008) and rat injured muscles (Silveira et al. 2009), suggesting that LLLT may induce an increase of ATP synthesis in humans. Altogether, these evidences help perhaps to explain the decrease in muscle damage markers observed in the LLLT group. Nevertheless, further research on the phototherapy mechanisms at the cellular level is necessary before these explanations can be linked to the observed results.

## Conclusion

LLLT treatment before knee extensor eccentric exercise was effective in terms of attenuating the deleterious effects of muscle damage on muscle function, and reduced the increment of LDH and CK serum levels. To the best of our knowledge, this seems to be the first study to demonstrate the positive effects of this therapy on muscle force recovery after eccentric exercise, which is an interesting aspect with practical applicability to sports training and performance. Although more studies involving phototherapy and muscle damage need to be performed, LLLT is presented here as a possible non-pharmacologic and non-invasive therapy against undesirable effects of exercise-induced muscle damage.

**Acknowledgments** The authors would like to thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brazil) and Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq-Brazil) for financial support and our colleagues Rodrigo Rodrigues and Giovanni dos Santos Cunha for technical assistance during data collection.

## References

- Al-Watban FA, Zhang XY, Andres BL (2007) Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. *Photomed Laser Surg* 25:72–77
- Avni D, Levkovitz S, Maltz L, Oron U (2005) Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. *Photomed Laser Surg* 23:273–277
- Baroni BM, Leal Junior ECP, Geremia JM, Diefenthaler F, Vaz MA (2010) Effect of light emitting diodes therapy (LEDT) on knee extensor muscle fatigue. *Photomed Laser Surg* (in press)
- Brown SJ, Child RB, Day SH, Donnelly AE (1997) Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci* 15:215–222
- Byrne C, Twist C, Eston R (2004) Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage—theoretical and applied implications. *Sports Med* 34:49–69

- Chapman D, Nexton M, Sacco P, Nosaka K (2006) Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *Int J Sports Med* 27:591–598
- Chen TC, Nosaka K, Sacco P (2007) Intensity of eccentric exercise, shift of optimum angle, and the magnitude of repeated-bout effect. *J Appl Physiol* 102:992–999
- Cheung K, Hume P, Maxwell L (2003) Delayed onset muscle soreness—treatment strategies and performance factors. *Sports Med* 33:145–164
- Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM (2009) Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet* 374:1897–1908
- Clarkson PM, Hubal MJ (2002) Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* 81:S52–S69
- Craig JA, Barron J, Walsh DM, Baxter GD (1999) Lack of effect of combined low-intensity laser therapy/phototherapy (CLILT) on delayed onset muscle soreness in humans. *Lasers Surg Med* 24:223–230
- Cressoni MD, Dib Giusti HH, Casarotto RA, Anaruma CA (2008) The effects of a 785-nm AlGaInP laser on the regeneration of rat anterior tibialis muscle after surgically-induced injury. *Photomed Laser Surg* (Ahead of print). doi:10.1089/pho.2007.2150
- Douris P, Southard V, Ferrigi R, Grauer J, Katz D, Nascimento C, Podbielski P (2006) Effect of phototherapy on delayed onset muscle soreness. *Photomed Laser Surg* 24:377–382
- French DN, Thompson KG, Garland SW, Barnes CA, Portas MD, Hood PE, Wilkes G (2008) The effects of contrast bathing and compression therapy on muscular performance. *Med Sci Sports Exerc* 40:1297–1306
- Fridén J, Lieber RL (2001) Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiol Scand* 171:321–326
- Hough T (1902) Ergographic studies in muscular soreness. *Am J Physiol* 7:76–92
- Howatson G, van Someren KA (2008) The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med* 38:483–450
- Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR (2009) Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response* 7:358–383
- Jamurtas AZ, Theocharis V, Tofas T, Tsiokanos A, Yfanti C, Paschalis V, Koutedakis Y, Nosaka K (2005) Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 95:179–185
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RB, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, Godoi V, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM (2009) Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers Surg Med* 41:572–577
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, Ramos L, Iversen VV, Bjordal JM (2010) Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. *Eur J Appl Physiol* 108:1083–1088
- Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ (2009) Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. *Photomed Laser Surg* 27:863–869
- Marfell-Jones M, Olds T, Stewart A, Carter L (2006) International standards for anthropometric assessment. ISAK, Potchefstroom (South Africa)
- Morgan DL (1990) New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J* 57:209–221
- Morgan DL, Allen DG (1999) Early events in stretch-induced muscle damage. *J Appl Physiol* 87:2007–2015
- Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Fatouros IG, Koutedakis Y, Kouretas D (2008) The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med* 38:579–606
- Nosaka K, Clarkson PM (1996) Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. *Int J Sports Med* 17:120–127
- Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, Sacco P (2001) How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? *Med Sci Sports Exerc* 33:1490–1495
- Oliveira FS, Pinfildi CE, Parizoto NA, Liebano RE, Bossini PS, Garcia EB, Ferreira LM (2009) Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneus tendon. *Lasers Surg Med* 41:271–276
- Proske U, Morgan DL (2001) Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol* 537:333–345
- Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Corrêa DS, Moreira AJ, Zettler CG, Filippin LI, Marroni NP, González-Gallego J (2006) Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med* 38:704–713
- Rochkind S, Geuna S, Shainberg A (2009) Chapter 25: phototherapy in peripheral nerve injury: effects on muscle preservation and nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol* 87:445–464
- Silveira PC, Silva LA, Fraga DB, Freitas TP, Streck EL, Pinho R (2009) Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B* 95:89–92
- Sussai DA, Carvalho PTC, Dourado DM, Belchior ACG, Reis FA, Pereira DM (2010) Low-level laser therapy attenuates creatine kinase levels and apoptosis during forced swimming in rats. *Lasers Med Sci* 25:115–120
- Totsuka M, Nakaji S, Suzuki K, Sugawara K, Sato K (2002) Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *J Appl Physiol* 93:1280–1286
- Váczi M, Costa A, Rácz L, Tihanyi J (2009) Effects of consecutive eccentric training at different range of motion on muscle damage and recovery. *Acta Physiol Hung* 96:459–468
- Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB (1999) Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med* 27:43–59
- White JP, Wilson JM, Austin KG, Greer BK, St. John N, Pantan LB (2008) Effect of carbohydrate-protein supplement timing on acute exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr* 5:5
- Wilson JM, Kim JS, Lee SR, Rathmacher JA, Dalmau B, Kingsley JD, Koch H, Manninen AH, Saadat R, Pantan LB (2009) Acute and timing effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on indirect markers of skeletal muscle damage. *Nutr Metab (Lond)* 6:6
- Xu X, Zhao X, Liu TC, Pan H (2008) Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomed Laser Surg* 26:197–202
- Yamaura M, Yao M, Yaroslavsky I, Cohen R, Smotrich M, Kochevar IE (2009) Low level light effects on inflammatory cytokine production by rheumatoid arthritis synoviocytes. *Lasers Surg Med* 41:282–290