

FILIPPE ABDALLA DOS REIS

EFEITOS DA APLICAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE
(830nm) NO DESEMPENHO MUSCULAR ANTES E APÓS
PROTOCOLO DE FADIGA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO EM ATLETAS
DE FUTEBOL

CAMPO GRANDE

2013

FILIPPE ABDALLA DOS REIS

EFEITOS DA APLICAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE
(830nm) NO DESEMPENHO MUSCULAR ANTES E APÓS
PROTOCOLO DE FADIGA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO EM ATLETAS
DE FUTEBOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Paulo de Tarso Camillo de Carvalho

CAMPO GRANDE
2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

FILIPPE ABDALLA DOS REIS

EFEITOS DA APLICAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE (830nm) NO DESEMPENHO MUSCULAR ANTES E APÓS PROTOCOLO DE FADIGA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO EM ATLETAS DE FUTEBOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Resultado _____

Campo Grande (MS), 21 de junho de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo de Tarso Camillo de Carvalho
Instituição: Universidade Nove de Julho (Uninove)

Prof. Dr. Baldomero A. Kato da Silva
Instituição: Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. Mario Sérgio Vaz da Silva
Instituição: Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)

Prof. Dr. Tulio Marcos Kalife
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Profa. Dra. Iandara Schettert Silva
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Aos meus pais Sebastião dos Reis e Ana Maria Abdalla dos Reis, minha esposa Ana Carulina Guimarães Belchior e meus filhos Amanda Belchior dos Reis e Davi Belchior dos Reis, que me guiam em todas as batalhas e me emocionam em todas as conquistas.

AGRADECIMENTOS

-À Deus. Por tudo que tens feito e por tudo que vais fazer.

-Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo de Tarso Camillo de Carvalho, que doou não somente seu conhecimento e experiência, mas seu tempo e sua amizade, dividindo comigo as preocupações e ansiedades. Minha eterna gratidão.

-A minha esposa Ana Carulina Guimarães Belchior, por sempre incentivar meu caminho de pesquisador, dando forças nos momentos ruins e por sempre fazer parte de minha vida pessoal e profissional.

-Aos meus amigos Gabriel Bogalho Nogueira e Mychael Pereira Cordeiro, por todo o apoio durante os momentos de dificuldade e sempre que foi preciso estavam ao meu lado.

-Aos meus amigos Wallace Moura Prado e Fabrícia Souza Conceição, por todo o auxílio nos meus momentos de ausência em nossa clínica de Fisioterapia.

-Às fisioterapeutas Patrícia Henrique Silva e Rhaiza Melo, pelo auxílio durante as coletas dos dados e toda ajuda prestada.

-Aos meus amigos José Luis Feltrin Oréfice, Erica Martinho Salvador Laraia e Daniel Martins Pereira, pela paciência e principalmente pela amizade.

-À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela oportunidade de poder cursar um dos melhores programas de Doutorado nacionais.

-À professora Dra. Iandara Schettert Silva, por todo o auxílio na execução deste trabalho.

-Aos atletas voluntários, pois sem vocês esta pesquisa não teria objetivo.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda
pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

Reis FA. Efeitos da aplicação do laser de baixa intensidade (830nm) no desempenho muscular antes e após protocolo de fadiga induzida pelo exercício em atletas de futebol. Campo Grande; 2013. [Tese - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

Estudos recentes investigaram se o laser de baixa intensidade (LBI) pode otimizar o desempenho muscular durante o exercício físico. Trata-se de um estudo randomizado duplo-cego, placebo controlado que objetivou investigar a ação do LBI na performance muscular do quadríceps femoral antes e após o protocolo de fadiga induzida e avaliar níveis séricos de lactato e creatina quinase (CK). Uma amostra de 27 voluntários saudáveis, do sexo masculino, jogadores de futebol, distribuídos em três grupos: Placebo (n=9, idade média=26,7±11 anos, altura média=1,77±0,09 m e peso médio=76,2±9,9 kg); Laser Pré-Fadiga (n=9, idade média=19,6±1,4 anos, altura média=1,75±0,09 m e peso médio=67,0±7,6 kg) Laser Pós-Fadiga (n=9, idade média=21,7±8 anos, altura média=1,76±0,09 m e peso médio=71,9±8,4 kg). Realizaram-se duas sessões consistindo em alongamento seguido de coleta (lactato e CK) basal e após fadiga do quadríceps femoral na mesa extensora. Foram mensurados o tempo de fadiga, número repetições e carga máxima (RM) tolerada. Foram avaliados níveis séricos de lactato antes e após (5, 10 e 15 minutos) da fadiga e CK antes e após cinco minutos. Não houve nenhuma resposta significativa no número de repetições (p=0,8965), RM (p=0,9915), tempo de fadiga (p=0,8424). Já o lactato intergrupo apresentou redução significativa (p<0,01) (Laser Pós-Fadiga versus Placebo). No lactato intragrupo, observou-se redução significativa [Laser Pré-Fadiga versus Laser Pós-Fadiga 10 e 15 minutos (p<0,05)]. O CK foi reduzido no grupo Laser Pós-Fadiga (p<0,01). Tanto a aplicação prévia quanto a pós-fadiga conseguiram reduzir as concentrações séricas de lactato e CK após a fadiga, melhorando o desempenho do quadríceps. O grupo Laser Pós-Fadiga apresentou resultados mais significativos para tanto.

Palavras-chave: Irradiação a laser de baixa intensidade, exercício de alta intensidade, fadiga muscular, lactato.

ABSTRACT

Reis FA. Effects of low-level laser therapy application (830nm) in muscle performance before and after fatigue protocol induced by exercise in soccer players. Campo Grande; 2013. [Tese - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

Recent studies have investigated whether low-level laser therapy (LLLT) can optimize muscle performance during exercise. A randomized, double-blind, placebo-controlled study that investigate the effect of LLLT before and after exercise on quadriceps muscle performance and evaluate the changes in serum lactate and creatine kinase (CK) levels. A sample of 27 healthy volunteers (male soccer players) were divided into 3 groups: placebo, pre-fatigue laser, and post-fatigue laser. Subjects performed 2 sessions of stretching followed by blood collection (for measurement of lactate and CK) at baseline and after fatigue of the quadriceps by leg extension. We measured the time to fatigue and the number and maximum load (ML) of repetitions tolerated. Serum lactate levels were measured before and 5, 10, and 15 minutes after exercise and CK levels before and 5 minutes after exercise. The number of repetitions ($p = 0.8965$), ML ($p = 0.9915$), and duration of fatigue ($p = 0.8424$) were similar among the groups. Post-fatigue laser treatment significantly decreased the serum lactate concentration relative to placebo treatment ($p < 0.01$) and also within the group over time (after 5 min vs. after 10 and 15 minutes, $p < 0.05$ both). The CK level was lower in the post-fatigue laser group ($p < 0.01$). Laser application either before or after fatigue reduced the post-fatigue concentrations of serum lactate and CK, improving the performance of the quadriceps. The results were more pronounced in the post-fatigue laser group.

Key-words: Low-level laser therapy (LLLT), high-intensity exercise, muscle fatigue, blood lactate

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação (ANOVA) entre as médias ($\pm$ desvio-padrão) dos valores de idade, altura e peso dos voluntários estudados, Campo Grande - 2013 (n = 27) 68

Tabela 2 - Valores de média $\pm$ desvio-padrão dos valores de número de repetições, tempo e RM 75% para os grupos estudados nos diversos momentos avaliados, Campo Grande, 2013 (N = 27) 68,69

Tabela 3 - Valores de média $\pm$ desvio padrão dos valores de creatina quinase para os grupos estudados nos diversos momentos avaliados, Campo Grande, 2013 (N = 27) 73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeitos físicos da interação laser-tecido biológico	46
Figura 2 - Coeficiente de absorção para alguns comprimentos de onda	46
Figura 3 - Linha de tempo referente ao período de avaliação dos Grupos A e B	63
Figura 4 - Linha do tempo referente ao período de avaliação do Grupo C	64
Figura 5 - Laser GaAlAs DMC [®] modelo Photon Laser III	64
Figura 6 - Pontos de aplicação do LBI no músculo quadríceps femoral	65
Figura 7 - Analisador portátil de lactato (Accutrend [®])	67
Figura 8 - Evolução dos valores de lactato para os Grupos na primeira avaliação conforme o tempo de análise (“□” Kruskal-Wallis, $p = 0,0111$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,01$; “□□” ANOVA, $p = 0,0150$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,05$)	69
Figura 9 - Evolução dos valores de lactato para os Grupos na segunda avaliação conforme o tempo de análise (“□” ANOVA, $p = 0,0037$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,01$, “□□” Laser Pré Fadiga versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,05$)	70
Figura 10 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Placebo entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (Kruskal-Wallis; $p = 0.0009$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0,001$, “+” Basal versus 10 minutos: $p < 0,05$)	70
Figura 11 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Placebo entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p < 0.0001$; “□” Basal	

versus 5 minutos: $p < 0,001$, “+” Basal versus 10 minutos: $p < 0,001$, “#” Basal versus 15 minutos: $p < 0,05$, “□□” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0,001$) 71

Figura 12 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pré Fadiga entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (ANOVA; $p = 0.0041$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0,01$, “+” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0,05$) 71

Figura 13 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pré Fadiga entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p < 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0,001$, “+” Basal versus 10 minutos: $p < 0,05$, “#” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0,001$, “□□” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0,001$) 72

Figura 14 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pós Fadiga entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (ANOVA; $p = 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0,001$, “+” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0,01$, “#” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0,001$) 72

Figura 15 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pós Fadiga entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p < 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0,001$, “+” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0,01$, “#” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0,001$) 73

Figura 16 - Comparação dos valores de creatina quinase pós-exercício entre os diversos grupos na segunda semana (Kruskal-Wallis; $p = 0.004$), “*” Laser Pré-Fadiga versus Laser Pós-Fadiga $p < 0,05$, “**” Placebo versus Laser Pós-Fadiga $p < 0,01$ 74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[ATP]	Concentração de ATP
[Ca ⁺²] _i	Concentração intracelular de íons cálcio
[Mg ⁺²]	Concentração de íons magnésio
5-HT	5-hidroxitriptamina
AACR	Aminoácidos de cadeia ramificada
acetil-CoA	Acetilcoenzima
ADP	Difosfato de adenosina
AGL	Ácido graxo livre
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
ANOVA	Análise de variância
ATP	Trifosfato de adenosina
Ca ⁺²	Íons cálcio
CEFE	Centro Especializado em Fisioterapia Esportiva
CENE	Centro Esportivo Nova Esperança
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene calcitonina
CK	Creatina quinase
Cl ⁻	Íons cloro
CP	Creatina fosfato
CWIT	Terapia por imersão em água fria
DHP _r	Receptores de dihidropiridina
DMT	Dor muscular tardia
EC	Excitação-contração
EDL	Extensor longo dos dedos
EMG	Eletromiografia
FAD ⁺	Flavina adenina dinucleotídeo
FAF	Fadiga de alta frequência
FBF	Fadiga de baixa frequência
FME	Fadiga muscular esquelética
GaAlAs	Arsenieto de gálio e alumínio
HPO ⁻	Forma protonada do fósforo
H ⁺	Íons hidrogênio
IMP	Monofostato de iosina

InGaAlP	Índio gálio alumínio fósforo
IRI	Lesão por isquemia-reperfusão
K ⁺	Íons potássio
LA	Limiar de anaerobiose
LBI	Laser de baixa intensidade
LBP	Laser de baixa potência
LDH	Lactato desidrogenase
LED	Diodo emissor de luz
LLLT	Low level laser therapy
LTBI	Laserterapia de baixa intensidade
Mg ⁺²	Íons de magnésio
MI	Infarto do miocárdio
MMII	Membros inferiores
Na ⁺	Íons sódio
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	Forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo
NO	Óxido nítrico
O ₂	Oxigênio
PCR	Proteína c-reativa
PDH	Enzima piruvato desidrogenase
PFK	Fosfofrutoquinase
pH	Potencial hidrogeniônico
Pi	Fosfato inorgânico
RM	Repetição máxima
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RS	Retículo sarcoplasmático
SNC	Sistema nervoso central
TRP	Triptofano
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
VO ₂ máx	Consumo máximo de oxigênio

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	comprimento de onda
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
Hz	hertz
J	joules
J/cm ²	joules por centímetro quadrado
mM	milimol
mmol/L	milimol por litro
mW	miliwatt
nm	nanômetro
°C	graus Celsius
vs	versus
W/cm ²	watts por centímetro quadrado
μm	micrômetro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 Desempenho muscular.....	20
2.1.1 Metabolismo do exercício e bioenergética	20
2.1.2 Limiar de anaerobiose e metabolismo do lactato	23
2.2 Avaliação do Desempenho Muscular	27
2.2.1 Marcadores Bioquímicos (Lactato e CK)	27
2.3 Fadiga muscular.....	28
2.3.1 Tipos de fadiga muscular.....	30
2.4 Laser de baixa intensidade.....	44
2.4.1 Aspectos gerais.....	44
2.4.2 Interações biológicas	45
2.5 Laser na fadiga muscular.....	48
2.5.1 Características do feixe e interação com o tecido.....	49
2.5.2 Dose-dependência.....	50
2.5.3 Função contrátil, resistência à fadiga, recuperação pós-exercício.....	51
2.6 Mecanismos de ação.....	55
2.6.1 Efeitos ergogênicos	55
2.6.2 Efeitos profiláticos.....	56
2.7 Implicações clínicas.....	58
3. OBJETIVOS	61
3.1. Objetivo geral.....	61
3.2. Objetivos específicos	61
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	62
4.1 Participantes.....	62
4.2 Procedimento de randomização.....	62
4.3 Grupos experimentais.....	63
4.4 Instrumentação	64
4.5 Protocolo experimental.....	65
4.5.1 Período de avaliação.....	65
4.5.2 Protocolo de fadiga.....	66
4.5.3 Amostras de sangue e análise da creatina quinase (CK)	66
4.5.4 Amostras de sangue e análise da concentração de lactato	66

4.6 Análise estatística	67
5. RESULTADOS	68
6. DISCUSSÃO	75
7. CONCLUSÃO.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
ANEXOS	106
ANEXO A.....	107
ANEXO B.....	110
TABLES AND FIGURES.....	136

1. INTRODUÇÃO

A fadiga muscular esquelética (FME) é um fenômeno inevitável na rotina de treinos e competições para muitos atletas, podendo prejudicar o desempenho e predispor-os a uma variedade de distúrbios musculoesqueléticos (LEAL JUNIOR et al. 2009a), sendo também muito comum nas atividades de vida diária, embora os mecanismos de ação, desenvolvimento e prevenção não estejam esclarecidos (GREEN et al. 2000). Esse tipo de fenômeno pode ser transitório, durar minutos ou horas após o exercício, mas também durar vários dias. Algumas características comumente observadas em condições de FME são a diminuição da força muscular e do controle motor, bem como dor muscular (BARNET, 2006).

A FME apresenta componentes centrais e periféricos e estudos (ALMEIDA et al. 2011; DE MARCHI et al. 2012) a respeito do papel deles são recentes. Os componentes periféricos que afetam a produção de força muscular durante a atividade física são: o tipo e intensidade do exercício, os grupos musculares envolvidos e o ambiente bioquímico e físico local. Desta forma, a fadiga é um processo complexo e multifacetado, envolvendo elementos fisiológicos, biomecânicos e psicológicos (WEIR et al. 2006).

A idade e o gênero também são fatores importantes que determinam a capacidade para contrair o músculo esquelético e suportar o desenvolvimento da fadiga (HURLEY, 1995). Há indícios de que a força exercida diminui rapidamente em indivíduos do sexo masculino durante o desenvolvimento da FME (SZUBSKI; BURTSCHER; LOSCHER, 2007).

Existem vários tipos de fadiga muscular e a contribuição de cada um deles para a queda do desempenho muscular depende do tipo de fibra muscular, da intensidade e duração da atividade física (BILLAUT et al. 2006). O primeiro tipo é causado pelo acúmulo de íons potássio (K^+) no sistema tubular transversal nas fibras musculares. Já o segundo tipo é a fadiga metabólica, gerada por efeitos diretos ou indiretos do acúmulo de metabólitos, tais como: fosfato inorgânico (P_i), difosfato de adenosina (ADP), íons de magnésio (Mg^{+2}) e espécies reativas de oxigênio (EROS), além da redução dos substratos (trifosfato de adenosina [ATP], creatina fosfato e glicogênio) (ALLEN; LAMB; WESTERBLAD, 2008).

Algumas variáveis têm sido utilizadas para analisar o desempenho em um exercício, como: consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) (HAUTALA et al. 2006;

LAFORTUNA et al. 2006), dosagem de lactato sanguíneo (SANTOS; NETO, 2004; VIEIRA et al. 2005a), atividade enzimática (LEEK et al. 2001; SIU et al. 2003; VIEIRA et al. 2006), bem como o índice de fadiga do músculo esquelético (PINCIVERO; GANDAIO; ITO, 2003; THOMAS et al. 2005), caracterizado pela mensuração do número de contrações musculares e tempo de início da fadiga.

Em condições anaeróbias, como o exercício extensivo, inevitavelmente há grande número de EROS que prejudicam a função mitocondrial, favorecendo a despolarização mitocondrial e redução da força (NETHERY et al. 2000). Apenas o acúmulo de ácido láctico dentro da fibra muscular não pode ser responsável pela redução do desempenho muscular, e seu papel fisiológico na fadiga permanece controverso (FRIEDMANN et al. 2007). Entretanto, na maioria das atividades esportivas de alto nível, o monitoramento de concentrações de ácido láctico no sangue é ainda a principal ferramenta utilizada para planejar programas de treinamento (BOURDIN; MESSONIER; LACOUR, 2004).

Os níveis séricos de enzimas musculares são marcadores do estado funcional do tecido muscular e variam muito em ambas as condições patológicas e fisiológicas. Inicialmente, níveis aumentados dessas enzimas estão associados com necrose celular e depois dano tecidual em lesões musculares agudas e crônicas (SLUMILAK; SULOWICZ; WALATEK, 1998).

As mudanças nos níveis séricos de enzimas musculares, como por exemplo a creatina quinase (CK) e isoenzimas também são encontradas em indivíduos saudáveis e em atletas após o exercício extenuante (WOLF et al. 1987; IDE et al. 1999), e os níveis de enzimas do tecido muscular no sangue podem ser influenciados pelo exercício físico (BOROS-HATFALUD; FELETE; APOR, 1986). A atividade da CK, medida a partir de biópsias musculares, muda durante e após sessões de treinamento (MacDOUGALL et al. 1998) e o nível sérico de CK, de acordo com diferentes protocolos de treinamento e seus respectivos volumes e intensidades de treino (KLAPCINSKA et al. 2001; SZABO et al. 2003).

Os níveis de CK são importantes na medicina do esporte para obtenção de informações sobre o estado atual da integridade muscular (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007). Desta forma, altos níveis séricos de CK em indivíduos aparentemente saudáveis são normais após a atividade física. No entanto, se um alto nível persiste em repouso, pode ser um sinal de alteração

subclínica do músculo, o que pode desencadear o aparecimento de sintomas de fadiga profunda quando a atividade física é realizada (ANGELINI, 2004).

Um grande número de modalidades terapêuticas é utilizado na reabilitação esportiva para acelerar a recuperação muscular após os exercícios, tais como: recuperação ativa (AHMAIDI et al. 1996; MARTIN et al. 1998; BALDARI, 2004), crioterapia (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2003; HOWATSON; GAZE; VAN SOMEREN, 2005; SELLWOOD et al. 2007), massagem (MARTIN et al. 1998; WEERAPONG; HUME; KOLT, 2005; CRANE et al. 2012), terapia por banho de contraste (imersão em água quente e fria) (COFFEY; LEVERITT; GILL, 2004; GILL; BEAVEN; COOK, 2006), hidroterapia (DOWZER; REILLY; CABLE, 1998), alongamentos (BARNET, 2006), oxigenioterapia hiperbárica (MEKJAVIC et al. 2000), anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) (BALDWIN, 2003) e eletroestimulação (LATTIER et al. 2004).

A FME é uma nova área de pesquisa utilizando o laser de baixa intensidade (LBI) porém, os parâmetros ideais de aplicação ainda não são totalmente compreendidos (LEAL JUNIOR et al. 2009b). Em contextos clínicos, o LBI tem sido utilizado no tratamento de dores musculares e alguns resultados positivos foram encontrados para dores musculares na região cervical (CHOW; HELLER; BARNSELEY, 2006), em condições de fibromialgia (GÜR et al. 2002), que podem estar relacionadas com a FME.

Lopes-Martins et al. (2006) observaram que a LBI pode retardar o declínio inevitável da contração muscular máxima durante contração tetânica eletricamente induzida. Para isso, utilizaram o laser diodo InGaAlP com comprimento de onda de 655 nm (vermelho visível) com doses que variavam de 0,08 a 0,4 Joules (J), porém nem todos os parâmetros de aplicação foram mencionados e houve a escolha de comprimento de onda pequeno, o que talvez inviabilize a aplicação em seres humanos.

Com relação ao LBI um dos parâmetros de maior importância é o comprimento de onda (λ), uma vez que determina a profundidade de penetração e absorção do laser e conseqüentemente seus efeitos. Desta forma, comprimentos de onda maiores são absorvidos em camadas mais profundas do tecido biológico, por exemplo, o tecido muscular, e comprimentos de onda menores, mais superficialmente. Atualmente, têm se utilizado comprimentos de onda maiores, na faixa do infravermelho, para a recuperação de músculos fadigados apresentando importantes

resultados tanto em animais (LEAL-JUNIOR et al. 2010b) quanto em seres humanos (LEAL-JUNIOR et al. 2010a).

Estudos realizados com humanos mostram uma tendência à melhora do desempenho muscular com a utilização do laser. Contudo, alguns pesquisadores (GORGEY; WADEE; SOBHI, 2008; LEAL-JUNIOR et al. 2008) têm dado preferência à aplicação do laser antes da realização dos exercícios de fadiga, apresentando respostas satisfatórias na redução dela, porém outros (VIEIRA et al. 2011; FERRARESI et al. 2011) têm realizado a aplicação do laser após a indução da fadiga, obtendo resultados significativos na melhora do desempenho.

Recentemente (BORSA; LARKIN; TRUE, 2013) pesquisadores tem mostrado que a fototerapia administrada ao músculo esquelético pode melhorar a função contrátil, prevenir o dano celular e melhorar a recuperação pós-exercício. Desta forma, atualmente se sabe a importância para atletas de alto desempenho e até amadores/recreativos de haver formas que aumentem o desempenho em suas atividades esportivas, ou até mesmo a diminuição da fadiga muscular de pessoas que apresentem patologias que geram a fadiga.

Portanto, este estudo justifica-se na tentativa de elucidar quais os parâmetros ideais e principalmente quando se deve aplicar o LBI, como forma preventiva ou como forma de tratamento da fadiga muscular já instalada. Objetivando investigar a ação do LBI no desempenho muscular do quadríceps femoral antes e após o protocolo de fadiga induzida, implementar um protocolo de indução de fadiga muscular de membros inferiores (MMII) em atletas de futebol e avaliar os níveis séricos de lactato e CK antes e após a aplicação do LBI.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Desempenho muscular

torque, trabalho, potência e resistência (FONSECA et al. 2007). Diversos estudos mostram que alterações nesses parâmetros encontram-se associadas a lesões esportivas gerando queda no desempenho muscular (KNAPIK et al. 1991; KANNUS et al. 2003; THOMPSON et al. 2001). Para a compreensão do desempenho muscular, é necessária a observação do metabolismo do exercício e bioenergética dos músculos.

2.1.1 Metabolismo do exercício e bioenergética

O exercício físico apresenta grande desafio às vias bioenergéticas dos músculos em atividade, em virtude da grande demanda de energia por parte destes durante o exercício. Dessa forma, o organismo conta com sistemas metabólicos responsáveis pela ressíntese e/ou produção de moléculas altamente energéticas, como exemplo, a ATP no interior das células que operam com considerável sobreposição para suprir a energia necessária do exercício (CONLEY; KEMPER; CROWTHER, 2001).

Esse processo metabólico converte nutrientes alimentares (carboidratos, gorduras e proteínas) em uma forma de energia biologicamente utilizável, este processo é denominado de bioenergética, cuja transferência de energia no corpo ocorre por meio da liberação da energia contida em ligações químicas de várias moléculas (WILDEN; KARTHEIN, 1998).

As gorduras e os carboidratos são fontes principais de energia na atividade de um indivíduo saudável que apresenta dieta balanceada, e as proteínas possuem pequena parcela como substrato energético durante o exercício (POWERS; HOWLEY, 2000). Porém, o rendimento energético obtido com essas diferentes fontes de energia, bem como a proporção de cada combustível utilizado como forma de energia, depende, de vários fatores: o tecido, a dieta, a intensidade e a duração

do exercício e o estado hormonal e de treinamento do organismo (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; ZONDERLAND et al. 1999).

Em relação à duração e intensidade do exercício e seleção do substrato energético utilizado, observa-se que, durante o exercício prolongado de baixa intensidade, ou seja, mais que trinta minutos e menor que 30% do $\text{VO}_2\text{máx}$, respectivamente, as gorduras são os substratos predominantes (ZONDERLAND et al. 1999). Isto tem sido atribuído à ativação das lipases (enzimas responsáveis pela degradação das gorduras) por parte de hormônios sanguíneos, como a adrenalina e o glucagon que, por sua vez, produzem aumento nos níveis sanguíneos e musculares de ácidos graxos livres (AGL) ativando o metabolismo das gorduras (POWERS; HOWLEY, 2000; WILMORE; COSTILL, 2001).

De outra forma, à medida que a intensidade do exercício aumenta, observa-se aumento progressivo do metabolismo dos carboidratos e redução concomitante do metabolismo das gorduras. Dentre os fatores que contribuem para esse fato, destacam-se: 1) o recrutamento das fibras de contração rápida e 2) o aumento do nível sanguíneo de adrenalina (ZONDERLAND et al. 1999).

A respeito do item 1 supracitado, quando ocorre elevação na intensidade do exercício, há recrutamento de maior quantidade de fibras musculares rápidas, sendo estas mais bem-preparadas para metabolizar carboidratos do que gorduras, em virtude do grande número de enzimas glicolíticas em detrimento da baixa quantidade de enzimas oxidativas que essas fibras apresentam, ou seja, são fibras fisiologicamente especializadas para atividades de alta intensidade e curta duração. Já em relação ao item 2, se sugere que o nível de adrenalina no sangue aumenta, ativando o metabolismo dos carboidratos (aumento da glicólise/glicogenólise) e a produção de lactato, fazendo com que esse aumento de lactato diminua o metabolismo das gorduras para a produção de energia (WILMORE; COSTILL, 2001).

Os mecanismos utilizados pelas células para gerar ATP, a partir da metabolização dos substratos energéticos, visando a suprir suas funções e permitir que ações musculares ocorram, são classificados em anaeróbio (quando não envolve a utilização de O_2) e em aeróbio (quando utiliza o O_2). Desta forma, têm-se:

a) via anaeróbia:

1. sistema ATP-CP: formação de ATP pela degradação da creatina fosfato (CP);

2. sistema glicolítico: formação de ATP por meio da degradação da glicose ou do glicogênio;

b) via aeróbia:

1. sistema oxidativo: formação oxidativa de ATP.

O sistema fosfagênico (ou ATP-CP) é considerado o mecanismo mais simples e rápido de geração de energia na forma de ATP. Inicia-se a partir da depleção do ATP armazenado no músculo (com duração em torno de 3 a 4 segundos). Após isso, um grupo fosfato é doado da ligação energética da CP para o ADP, disponibilizando ATP (energia) para a contração muscular no início do exercício, esgotando-se em, no máximo, 15 segundos. Essa reação é catalisada pela enzima creatina quinase e tem como principal função manter um suprimento de ATP relativamente constante. No entanto, a quantidade total de ATP que pode ser formada por essa reação é limitada, de modo que a ressíntese da CP exige ATP e ocorre somente durante a recuperação do exercício (WILMORE; COSTILL, 2001).

Em relação ao sistema glicolítico (ou glicólise), este também é capaz de produzir ATP rapidamente e envolve a degradação da glicose, na sequência de dez reações enzimáticas, formando duas moléculas de ácido pirúvico, com rendimento de duas moléculas de ATP no sarcoplasma da célula muscular (WILMORE; COSTILL, 2001).

Já o sistema oxidativo funda-se na produção de ATP com a utilização de O_2 , que ocorre no interior das mitocôndrias abrangendo a interação de dois processos metabólicos: 1) o ciclo de Krebs ou do ácido tricarboxílico, cuja função principal é a remoção de íons hidrogênio (H^+) e a energia associada a esses hidrogênios de vários substratos envolvidos no ciclo e 2) a fosforilação oxidativa, que consiste na formação de ATP na cadeia de transporte de elétrons ou cadeia respiratória. Os hidrogênios são removidos dos substratos nutricionais não só durante o ciclo de Krebs, mas, também, durante a glicólise e são transportados por “moléculas transportadoras” (ou equivalentes de redução), como as coenzimas: nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD^+) para serem utilizadas na geração de ATP em processos aeróbios (POWERS; HOWLEY, 2000).

A importância dessa remoção reside no fato de que os hidrogênios, em virtude de seus elétrons, contêm a energia potencial das moléculas dos alimentos. Entretanto, para que ocorra o transporte desses equivalentes de redução no citoplasma até a matriz mitocondrial, são necessários mecanismos de “lançadeiras

de substratos”, presentes na membrana mitocondrial interna, envolvendo a transferência recíproca de elementos oxidados e reduzidos das várias duplas de oxirredução. Dessa forma, se existir oxigênio suficiente, os hidrogênios da forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) podem ser “lançados” via sistema de lançadeiras (malato-aspartato e/ou α -glicerofosfato) para o interior das mitocôndrias das células, cujos elétrons, uma vez transportados para a cadeia de transporte de elétrons, fluem em ordem sequencial das estruturas de menor para maior potencial de redução, presentes nessa cadeia, onde a molécula de O_2 é o aceptor final, liberando energia suficiente para refosforilar o ADP e formar, consequentemente, ATP (POWERS; HOWLEY, 2000; WILMORE; COSTILL, 2001).

O mecanismo para explicar a formação aeróbia de ATP é conhecido como hipótese quimiosmótica, baseando-se no fato de que a energia liberada durante a passagem dos elétrons pela cadeia respiratória sempre é utilizada para bombear prótons (H^+) liberados a partir da NADH e $FADH_2$ do interior das mitocôndrias, por meio da membrana mitocondrial interna, para o espaço entre as membranas mitocondriais interna e externa, sendo armazenada na forma de um gradiente eletroquímico de prótons cuja energia é, em última instância, utilizada para gerar ATP (ALBERTS et al. 1997; DEVLIN, 1998; LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

Porém, caso o O_2 não esteja disponível para aceitar hidrogênios nas mitocôndrias, o ácido pirúvico pode aceitá-los para formar o ácido láctico, na reação catalisada pelo lactato desidrogenase (LDH) e recuperar a NAD^+ , ou seja, a forma oxidada da coenzima para que a glicólise possa continuar (POWERS; HOWLEY, 2000; SPRIET; HOWLETT; HEIGENHAUSER, 2000; WILMORE; COSTILL, 2001).

2.1.2 Limiar de anaerobiose e metabolismo do lactato

O limiar de anaerobiose (LA), identificado pela lactacidemia, também denominado limiar de lactato, consiste na carga de trabalho correspondente ao momento em que o ácido láctico sanguíneo aumenta sistematicamente durante o exercício de esforço progressivo, ou seja, consiste no ponto de inflexão da curva de lactato sanguíneo versus à carga de exercício (LANGFORT et al. 1996; PILIS et al. 1993; POWERS; HOWLEY, 2000; VOLTARELLI; GOBATTO; MELLO, 2002; WILMORE; COSTILL, 2001).

Esse aumento no nível sanguíneo de ácido láctico, historicamente, tem sido considerado uma forma de aumento do metabolismo anaeróbico dos músculos que estão se contraindo em relação ao metabolismo aeróbico, em razão da maior demanda de O_2 nas células musculares e, conseqüentemente, dos baixos níveis de O_2 disponíveis (BROOKS, 1998; KATZ; SAHLIN, 1988; SPRIET; HOWLETT; HEIGENHAUSER, 2000; WASSERMAN, 1984). Porém, outros fatores podem estar envolvidos na determinação do acúmulo de ácido láctico no sangue, tendo destaque a aceleração da glicólise, o maior recrutamento de fibras de contração rápida e a redução na taxa de remoção do lactato, de modo que qualquer um ou uma combinação desses fatores pode fornecer uma explicação para o LA (POWERS; HOWLEY, 2000).

Howlett et al. (1998) sugeriram que a produção de lactato pode ocorrer durante o exercício aeróbico intenso, em decorrência de uma lenta ativação das rotas metabólicas que fornecem substrato para a produção aeróbica de ATP, por exemplo, a ativação da enzima piruvato desidrogenase (PDH) que catalisa a reação de conversão do piruvato à acetilcoenzima (acetil-CoA), um substrato do ciclo de Krebs.

O acúmulo de lactato no sangue e no músculo, em decorrência da ativação da via metabólica anaeróbia, normalmente está associado ao acúmulo de íons H^+ . Quando a capacidade do organismo para tamponá-los for superada, há uma redução do pH, ocasionando, dessa forma, uma acidose metabólica. Esse fenômeno pode alterar o processo de contração muscular no momento em que esses íons H^+ podem deslocar os íons Ca^{+2} do interior da fibra muscular. Esse deslocamento, por sua vez, interfere no acoplamento actina-miosina, ocasionando diminuição na força do músculo e conseqüentemente queda no desempenho (HATTA, 1990; LIEBER, 1992; WILMORE; COSTILL, 2001).

O limiar de lactato ocorre em intensidade submáxima do exercício, normalmente entre 50% e 80% da carga máxima, cuja concentração de lactato sérico tem sido estimada entre 2 e 4 mmol/L. No entanto, esse valor é inferido para cada indivíduo (PILIS et al. 1993; WILMORE; COSTILL, 2001).

Monedero; Donne (2000) sugeriram que o LA pode variar em decorrência de fatores genéticos, nutricionais, hormonais, sexo, dentre outros, e segundo o volume e a intensidade de treinamento a que o indivíduo foi submetido. De tal forma que, em indivíduos não treinados, o LA se dá em torno de 50%-60% da carga máxima, que pode ser representada pelo consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), enquanto que

nos treinados, ocorre em taxas de trabalho mais elevadas (65%-80% da carga máxima), representando, assim, uma maior capacidade aeróbia.

Baseado nisto, tem sido sugerido na literatura científica que o acúmulo de lactato no sangue é reduzido, para uma mesma carga de trabalho, após um período de treinamento de endurance tanto nos estudos em animais (BROOKS, 1998) quanto em humanos (GLADDEN, 2000; McDERMOTT; BONEN, 1993), cujas explicações para tal benefício têm sido atribuídas ao aumento na capacidade oxidativa, à redução na produção de lactato e ao aumento na taxa de sua remoção (SPRIET; HOWLETT; HEIGENHAUSER, 2000).

Especificamente, sobre a remoção de lactato, esta pode ocorrer, após um programa de treinamento, por diversos fatores, tais como: 1) aumento na distribuição do lactato para outros tecidos, como fígado, coração, músculo esquelético e rins; 2) aumento da gliconeogênese por parte do músculo esquelético e dos hepatócitos; 3) utilização do lactato pela contração de fibras oxidativas; 4) eficiente transporte de lactato por meio da membrana sarcolemal (McDERMOTT; BONEN, 1993; GLADDEN, 2000; POWERS; HOWLEY, 2000).

Além disso, o exercício pode aumentar o transporte de lactato via ativação de proteínas da membrana sarcolemal (BROOKS, 1998) e da atividade enzimática (DOHM; KASPEREK; BAKARAT, 1985), contribuindo no aumento do caminho gliconeogênico do lactato. Entretanto, de acordo com Hatta (1990), a remoção oxidativa do lactato após o exercício ainda é o maior caminho de remoção desse metabólito.

Existe a sugestão de que a principal consequência metabólica do treinamento aeróbio é a redução da velocidade de utilização do glicogênio muscular e o aumento no uso dos ácidos graxos livres (AGL) como substrato energético, tendo como resultado final menor produção de lactato durante o exercício em determinada velocidade (BROOKS, 1998).

Já outros pesquisadores (GLADDEN, 2000; SPRIET; HOWLETT; HEIGENHAUSER, 2000; WASSERMAN, 1984) observaram que o baixo nível de lactato sanguíneo após treinamento de endurance pode ser reflexo não só da maior capacidade de sua utilização, mas, também, por causa da alta densidade mitocondrial e otimização da via oxidativa, com consequente oferta de O₂ para ser utilizado na produção de ATP.

Dessa forma, o lactato, já considerado como produto inútil do metabolismo glicolítico, mostra-se, por meio de recentes evidências, ser um metabólito que pode ter papel benéfico durante o exercício, servindo como substrato tanto para a oxidação pelos músculos esqueléticos e coração, mecanismo que responde por cerca de 70%-75% de sua distribuição, quanto para a formação de glicose por meio da gliconeogênese (HATTA, 1990; POWERS; HOWLEY, 2000), com esse processo contribuindo em 25%-30% para a produção de glicose hepática tanto em humanos quanto em animais de experimentação (BROOKS, 1998).

Outro mecanismo sugerido para a metabolização do lactato consiste no consumo e oxidação do lactato em grande quantidade pelas mitocôndrias, sobretudo, dos músculos esqueléticos, coração e fígado, considerando-se a presença de proteínas de membrana transportadora de lactato, bem como de isoformas mitocondriais de enzimas como a LDH (BROOKS, 1998).

Bonen; Homonko (1994) demonstraram um modelo no qual fibras de contração rápida (tipo IIb) produzem lactato que é oxidado, subsequentemente, por fibras vermelhas (tipos I e IIa), tendo em vista que essas duas últimas são metabolicamente adaptadas à oxidação do lactato e contêm maior capacidade para seu transporte sarcolemal e citoplasmático quando comparadas às fibras glicolíticas (BROOKS, 1998; GLADDEN, 2000).

O LA tem importantes implicações práticas na predição do desempenho no esporte, bem como no planejamento da intensidade de treinamento, de modo que vem se tornando popular na avaliação da efetividade do treinamento em atletas, tendo em vista a facilidade e a rapidez na obtenção e análise das amostras sanguíneas, quando avaliado pela lactacidemia (MONEDERO; DONNE 2000).

No entanto, esse método de avaliação do LA, apesar de sua importância na prescrição e no controle do treinamento, por ser invasivo, nem sempre é utilizado em rotina de pesquisas laboratoriais, sobretudo nos estudos em humanos (LANGFORT et al. 1996; PILIS et al. 1993; VOLTARELLI; GOBATTO; MELLO, 2002).

Pilis et al. (1993), Voltarelli; Gobatto; Mello (2002) demonstraram que alterações no lactato sanguíneo em ratos ocorrem de forma semelhante às alterações em humanos. Entretanto, os estudos em animais de experimentação ainda são escassos, tornando-se, pois, importante essa análise como forma de contribuir na busca das evidências para determinar o(s) mecanismo(s) fisiológico(s) que altera(m) a concentração sanguínea de lactato durante o exercício progressivo.

2.2 Avaliação do Desempenho Muscular

2.2.1 Marcadores Bioquímicos (Lactato e CK)

A queda no desempenho muscular pode ocorrer em esportes ou em outras atividades nas quais a fadiga se desenvolve. Esse dano é caracterizado por alterações estruturais, incluindo a desordem sarcomérica e dano da membrana, resultando na perda de enzimas solúveis (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2003). A atividade sérica de enzimas do músculo esquelético é um marcador do estado funcional do tecido muscular, e varia amplamente, em condições tanto patológicas como fisiológicas. Um aumento dessas enzimas pode representar um índice de necrose celular e danos nos tecidos após lesões musculares agudas e crônicas gerando queda no desempenho muscular do atleta (SZUMILAK; SULOWICZ; WALATEK, 1998).

A alta intensidade da atividade muscular aumenta os níveis séricos de lactato e está associada com o aumento na concentração de H^+ e, conseqüentemente, redução do pH intracelular ou acidose (FOSS; KETEVIAN, 2000). A acidificação do acoplamento excitação-contração (EC coupling) é responsável pelo comprometimento da transmissão neuromuscular e conseqüente diminuição na capacidade do músculo de contrair, processo que influencia na redução do desempenho.

A mensuração do nível de lactato no sangue é de grande valor no planejamento de treino desportivo e de supervisão (PYNE; LEE; SWANWICK, 2001), uma vez que está intimamente relacionada ao desenvolvimento da fadiga muscular. Embora alguns autores (WESTERBLAD; ALLEN, LANNERGREN, 2002; ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004; BARNETT, 2006) discutiram a validade de monitoramento da concentração de lactato sanguíneo durante o treinamento e recuperação após o exercício, medidas de lactato no sangue ainda têm sido amplamente utilizadas para tais fins (MARTIN et al. 1998; DOTAN; FALK; RAZ, 2000; SPIERER et al. 2004). Alguns autores (CHIN; ALLEN, 1998) têm indicado que o aumento de concentração de H^+ inibe a ligação de Ca^{+2} à troponina e pode afetar a interação entre as proteínas contráteis.

O nível de CK sérica pode ser elevado como consequência de danos no tecido muscular, por causa do treinamento intensivo prolongado. Isto pode ser uma consequência de causas tanto metabólicas quanto mecânicas. Na verdade, metabolicamente fibras musculares esgotadas apresentam redução da resistência da membrana após um aumento nos níveis internos de cálcio livres, promovendo a ativação do canal de potássio. Outro mecanismo pode ser o dano tecidual local com degeneração sarcomérica de fragmentação da banda Z. A CK sérica é amplamente aceita como um indicador de início de lesão muscular após exercícios de resistência, e muitos pesquisadores têm utilizado essa enzima para indicar lesão muscular e consequentemente avaliar a redução do desempenho muscular no atleta (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007; LEAL-JUNIOR et al, 2010b).

2.3 Fadiga muscular

A fadiga muscular tem-se revelado como um dos tópicos centrais na investigação em fisiologia do exercício. Efetivamente, o volume de trabalhos publicados em torno dessa temática parece conferir-lhe o status de uma das áreas mais estudadas na fisiologia do exercício. No entanto, os mecanismos precisos associados a sua etiologia encontram-se ainda por determinar (GREEN, 1995; McLESTER Jr, 1997).

Uma das principais características do sistema neuromuscular é a sua capacidade adaptativa crônica, uma vez que, quando sujeito a um estímulo como a imobilização, o treino ou durante o efeito do envelhecimento, pode adaptar-se às exigências funcionais (ENOKA; STUART, 1992). Da mesma forma, consegue adaptar-se a alterações agudas, tais como as associadas ao exercício prolongado ou intenso, sendo uma das mais conhecidas o fenômeno habitualmente referido como fadiga muscular (ENOKA; STUART, 1992).

A incapacidade de o músculo esquelético gerar elevados níveis de força muscular ou manter esses níveis no tempo designa-se fadiga neuromuscular (ENOKA; STUART, 1992; GREEN, 1997). Relativamente à definição do conceito de fadiga, é importante salientar a diversidade de trabalhos que, embora intitulados e expressamente associados à fadiga, se afasta claramente do conceito clássico de fadiga, ou seja, da incapacidade de produzir e manter um determinado nível de força ou potência muscular durante a realização do exercício. De fato, alguns autores

ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; McKENNA, 1992) têm associado o termo “fadiga” a inúmeras manifestações de incapacidade funcional evidenciadas, seja durante o exercício (máximo ou submáximo) ou com caráter retardado relativamente à realização dele.

Desse modo, ao longo desta revisão será utilizada essa designação de forma, não só para nos referirmos aos estudos claramente relacionados com o conceito tradicional de fadiga, mas também a outras formas de manifestação dela. Adicionalmente, as manifestações da fadiga têm sido associadas ao declínio da força muscular gerada durante e após exercícios submáximos e máximos, à incapacidade de manter uma determinada intensidade de exercício no tempo, à diminuição da velocidade de contração e ao aumento do tempo de relaxamento muscular (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; BANGSBO, 1997; DAVIS; BAILEY, 1997; McKENNA, 1992).

Esse fenômeno encontra-se ainda relacionado com determinadas alterações de alguns parâmetros eletromiográficos (EMG) (GUÉVEL; HOGREL; MARINI, 2000; MASUDA et al. 1999; WEIR et al. 1999), durante contrações musculares isométricas e dinâmicas, máximas e submáximas, bem como com a variação das concentrações intra e extracelulares de alguns metabólitos e íons (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; BANGSBO, 1997; McKENNA, 1992). A fadiga tem sido, igualmente, sugerida como um mecanismo de proteção contra possíveis efeitos deletérios da integridade da fibra muscular esquelética (WILLIAMS; KLUG, 1995).

Para além dos estudos (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; BANGSBO, 1997; McKENNA, 1992; NICOL; KOMI; MARCONNET, 1991; NOAKS, 2000, SAHLIN, 1992) relacionados com a identificação cada vez mais pormenorizada da sua etiologia na perspectiva da melhoria do desempenho no desporto de alto rendimento, outros estudos de fadiga têm sido realizados no âmbito da recuperação funcional de sujeitos com patologias ou lesões em determinadas estruturas do sistema nervoso (CASTRO et al. 2000; LINDEMAN et al. 1999; SVANTESSON et al. 1999) e em sujeitos com patologias neuromusculares (DROST et al. 2001). Alguns estudos (MIZRAHI; VERBITSKY; ISAKOV, 2000; MIZRAHI; VERBITSKY; ISAKOV, 2001) relacionaram as alterações de parâmetros cinemáticos, induzidas pela fadiga, na identificação de fatores de risco para ocorrência de lesões de sobrecarga. O papel da fadiga neuromuscular na variação da propriocepção (GURNEY; MILANI; PEDERSEN, 2000) e do controle motor

(JOHNSTON et al. 1998) tem sido, também, a par da influência da idade (PAGALA et al. 1998), do sexo dos indivíduos (SEMMLER; KUTZSCHER; ENOKA, 1999) e da manifestação dos padrões de ativação (BENTLEY et al. 2000) e coativação (WEIR et al. 1998) de alguns grupos musculares.

Apesar do interesse de mais de um século por parte dos pesquisadores, os agentes definitivos indutores de fadiga encontram-se ainda por identificar. De fato, a fadiga muscular pode resultar de alterações da homeostasia no próprio músculo esquelético, isto é, o resultado do decréscimo da força contrátil independentemente da velocidade de condução do impulso neural, habitualmente designada de fadiga com origem predominantemente periférica. Pode também ser o resultado de alterações do input neural que chega ao músculo, traduzidas por uma redução progressiva da velocidade e frequência de condução do impulso voluntário aos motoneurônios durante o exercício, normalmente denominada de fadiga com origem predominantemente central (DAVIS, 1995).

Adicionalmente, é importante salientar que a fadiga muscular depende da duração e intensidade do exercício, da tipologia de fibras musculares recrutadas, do nível de treino do indivíduo e das condições ambientais de realização do exercício (ENOKA; STUART, 1992; ROBERTS; SMITH, 1989).

As alterações do pH, da temperatura e do fluxo sanguíneo, o acúmulo de produtos do metabolismo celular, particularmente dos resultantes da hidrólise do ATP (ADP, fosfato inorgânico [Pi], amônia), a perda da homeostasia do íon Ca^{+2} , o papel da cinética de alguns íons nos meios intra e extracelulares nomeadamente, os íons K^+ , Na^+ , Cl^- , Mg^{+2} , a lesão muscular, principalmente a induzida pelo exercício com predominância de contrações excêntricas, e o estresse oxidativo têm sido algumas das causas sugeridas para a fadiga muscular e queda do desempenho (VIEIRA et al. 2011).

2.3.1 Tipos de fadiga muscular

2.3.1.1 Fadiga de origem central

A fadiga de origem central traduz-se em falha voluntária ou involuntária na condução do impulso que promove (1) uma redução do número de unidades

motoras ativas e (2) diminuição da frequência de disparo dos motoneurônios (STACKHOUSE et al. 2000; SUNNERHAGEN et al. 2000).

O possível papel do sistema nervoso central (SNC) na origem da fadiga é, habitualmente, estudado com recurso a técnicas designadas por contrações interpoladas (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; STACKHOUSE et al. 2000). Alguns autores (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995) sugerem que a força máxima que o sujeito consegue gerar voluntariamente é comparada com a força produzida por eletroestimulação exógena do nervo motor ou do próprio músculo.

Inicialmente, os resultados de alguns desses estudos supra-citados pareciam demonstrar que, em sujeitos treinados e motivados, a superimposição de um estímulo elétrico supramáximo não se traduzia, habitualmente, em aumento da força em músculos isolados durante a fadiga (DAVIS; BAILEY, 1997). Essa premissa foi muitas vezes utilizada para concluir que o decréscimo da atividade nervosa na condução dos impulsos e, por isso, do sistema nervoso, não representava um fator conducente à instalação de fadiga muscular.

Contudo, estudos mais recentes (DAVIS; FITTS, 2001; GANDEVIA, 2001) parecem evidenciar a existência de um feedback sensorial que inibe a taxa de descarga dos motoneurônios durante a fadiga, justificando a importância dos mecanismos centrais na manutenção de um determinado nível de força. Essa inibição poderá resultar de um mecanismo de feedback reflexo proveniente dos mecanorreceptores, nomeadamente dos fusos neuromusculares e/ou dos órgãos tendinosos de Golgi, ou das terminações nervosas do tipo III e IV, que parecem ser sensíveis ao acúmulo de alguns metabólitos musculares durante o exercício (DAVIS; BAILEY, 1997; GANDEVIA, 2001).

No entanto, não se pode excluir a importante contribuição do déficit na condução do impulso a partir das regiões superiores do cérebro como causa da fadiga. Técnicas recentes utilizando estimulação magnética transcraniana têm fornecido, igualmente, evidências sobre o papel dos mecanismos superiores do SNC na fadiga, particularmente na diminuição da atividade cortical, na condução corticoespinal do impulso nervoso, bem como na ativação de áreas cerebrais conducentes à maior produção de dopamina (DAVIS; BAILEY, 1997; DAVIS; FITTS, 2001; GANDEVIA, 2001; TAYLOR et al. 2000).

Efetivamente, em um trabalho com o objetivo de estudar as evidências da existência de um output subótimo do córtex motor utilizando um protocolo de contrações máximas voluntárias indutoras de fadiga durante três minutos, Gandevia (2001) verificaram que, quando os níveis de ativação começam a ser insuficientes, a força gerada pelos músculos flexores do cotovelo pode ser incrementada por meio da estimulação do córtex motor ou do nervo motor, o que sugere um envolvimento das referidas estruturas na gênese dos mecanismos associados de fadiga com origem central.

Adicionalmente, têm sido realizados diversos trabalhos (DAVIS et al. 2001; DAVIS; BAILEY, 1997; STRUDER et al. 2001) sobre a relação entre o tempo de exercício até à exaustão e a variação da síntese e liberação cerebral de alguns neurotransmissores, normalmente associados a estados/fatores de natureza psicológica, como a motivação, a atenção, o humor e a depressão, e também à coordenação neuromuscular. Desse modo, têm sido estudadas (1) as alterações da razão serotonina/dopamina (STRUDER et al. 2001), (2) o papel da cafeína como bloqueador dos receptores de adenosina (potente inibidor dos mecanismos de excitação do SNC) (DAVIS et al. 2001) em exercícios de longa duração e (3) as consequências da administração de diferentes dosagens de alguns aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) (leucina, isoleucina e valina), quer como inibidores do aumento da síntese cerebral de serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT] – o metabólito mais frequente), por causa do aumento das concentrações plasmáticas e cerebrais de triptofano (TRP) (BLOMSTRAND, 2001; DAVIS, 1995; KREIDER; MIRIEL; BERTUN, 1993; NEWSHOLME; BLOMSTRAND; EKBLOM, 1992; VARNIER et al. 1994), quer no aumento da toxicidade cerebral induzida pelo aumento das concentrações de amônia plasmática (DAVIS, 1995).

Efetivamente, existem duas formas sob as quais o TRP se encontra em equilíbrio no plasma, sendo uma forma livre e outra ligada à albumina. Durante a realização de exercícios prolongados, esse equilíbrio parece ser alterado a favor da forma livre, uma vez que, por estimulação da lipólise, quando a concentração plasmática de ácidos graxos aumenta acima de 1 mM, estes se ligam à albumina, contribuindo para o aumento das concentrações de TRP livre, forma sob a qual esse aminoácido é transportado por meio da barreira hematoencefálica (BLOMSTRAND, 2001; KREIDER; MIRIEL; BERTUN, 1993; NEWSHOLME; BLOMSTRAND; EKBLOM, 1992). Tal aumento conduz ao incremento da concentração de TRP

cerebral e, conseqüentemente, da síntese de serotonina. Desse modo, uma vez que os AACR e o TRP concorrem pela entrada no cérebro pela mesma via, a suplementação ergogênica com esse tipo de aminoácido é referida por alguns autores (KREIDER; MIRIEL; BERTUN, 1993) como benéfica no atraso da fadiga em exercícios de longa duração.

A influência da ingestão de dietas ricas em hidratos de carbono na diminuição da razão TRP livre/AACR (BLOMSTRAND, 2001; DAVIS, 1995) e o eventual papel dos níveis plasmáticos de colina na síntese de acetilcolina (SPECTOR et al. 1995) têm sido igualmente objetivo de alguns trabalhos no âmbito da fadiga com origem central (DAVIS, 1995; DAVIS; BAYLEI, 1997). De acordo com esses estudos, a ingestão de suplementos dietéticos enriquecidos em hidratos de carbono parece atrasar a manifestação da fadiga de origem central, uma vez que poderá promover, durante o exercício prolongado, um aumento dos níveis de glicose plasmática com conseqüente redução relativa das concentrações de ácidos graxos plasmáticos ligados à albumina. Essa alteração parece favorecer um incremento das concentrações de TRP ligado à albumina e, assim, diminuição das concentrações de TRP livre, com conseqüente diminuição da razão TRP livre/AACR e da produção de 5-HT (DAVIS; BAYLEI, 1997).

Farris et al. (1998) confirmaram a ação do TRP como potente agente de fadiga com origem central ao verificarem que infusões desse precursor e estimulador da síntese cerebral de serotonina promoveram reduções na performance de resistência em cavalos, e, por isso, se apresentam consistentes com a hipótese de fadiga de origem central.

Outro neurotransmissor normalmente relacionado com a produção de força muscular é a acetilcolina. A taxa de síntese dela é determinada pela disponibilidade do seu precursor, a colina. Embora não seja definitiva a sua associação à fadiga de origem central ou periférica, as reduções nas concentrações plasmáticas de colina têm sido recentemente relacionadas com o início da fadiga em exercícios de longa duração (DAVIS, 1995). Contudo, no estudo conduzido por Spector et al. (1995), a suplementação oral de bitartrato de colina (2,43g com uma hora antes do exercício em cicloergômetro) não induziu incrementos, quer no tempo de exercício até à exaustão (70% e 150% $\text{VO}_2\text{máx}$), quer nos níveis plasmáticos de colina.

2.3.1.2 Fadiga de origem periférica

2.3.1.2.1 Tipos de fadiga periférica

Independentemente de algum conflito terminológico relativo a alguns tipos de fadiga periférica (SEGERSTED; SJOGAARD, 2000), particularmente entre fadiga de baixa frequência (FBF) e fadiga de alta frequência (FAF), é evidente um quadro de particularidades que as diferencia. Assim, a FBF caracteriza-se: (1) por uma acentuada diminuição da força relativa gerada pelas fibras, quando estimuladas à baixa frequência (10-30 Hz), comparativamente com frequências de estimulação elevadas (100 Hz); (2) por uma recuperação lenta da força e (3) pela persistência de sinais de fadiga (expressa na diminuição, aproximadamente, de 15%-20% da tensão máxima gerada pela fibra a partir da primeira hora de recuperação) na ausência de significativos distúrbios elétricos ou metabólicos (BINDER-MACLEOD; RUSS, 1999; CHIN; BALNAVE; ALLEN, 1997; FAVERO, 1999; SEGERSTED; SJOGAARD, 2000). Importa salientar, no entanto, que esse tipo de fadiga não é causado apenas pela realização de exercícios com baixas frequências de estimulação (BINDER-MACLEOD; RUSS, 1999).

Efetivamente, a FBF é caracterizada pela duração da sua manifestação (horas ou dias), sendo a designação *long lasting fatigue* a alternativa terminológica sugerida (CHIN; BALNAVE; ALLEN, 1997). A recuperação da FBF está, provavelmente, relacionada com a taxa de turnover proteico necessário para a regeneração e reparação das estruturas proteicas musculares lesadas durante e após o exercício (microtraumas). Alguns autores sugerem que a perda de homeostasia celular ao íon Ca^{+2} , particularmente o seu aumento citoplasmático, parece ser a outra causa mais prováveis da FBF (BINDER-MACLEOD; RUSS, 1999; CHIN; ALLEN, 1996).

Chin; Balnave; Allen (1997) verificaram que o papel do íon Ca^{+2} na fadiga tem, pelo menos, dois componentes: (1) um componente metabólico que, na presença de glicose, é atenuado durante a primeira hora de recuperação e (2) um componente dependente da elevação das concentrações intracelulares ($[\text{Ca}^{+2}]_i$), cuja recuperação é mais lenta. Assim, após o exercício, a dificuldade de recaptção do $[\text{Ca}^{+2}]_i$ pode conduzir em repouso a uma elevação das concentrações no citoplasma desse íon, contribuindo para acentuá-lo das alterações funcionais do retículo sarcoplasmático (RS). Esses autores verificaram diminuição da captação do $[\text{Ca}^{+2}]_i$ e

da atividade das ATPases do RS cerca de 46% e 21%, respectivamente, em fibras musculares desmembranadas e fadigadas, o que conduz ao aumento das $[Ca^{+2}]_i$. Lamb; Cellini (1999) verificaram diminuição da funcionalidade do RS de fibras musculares desmembranadas quando as $[Ca^{+2}]_i$ eram elevadas, referindo que esses resultados poderão ser relevantes na compreensão das bases da FBF.

Esse acúmulo intracelular de Ca^{+2} , normalmente denominado por Ca^{+2} overload, estimula a atividade de enzimas proteolíticas (por exemplo, enzimas lisossômicas) e a fosfolipase A2, contribuindo para a degradação das proteínas e dos fosfolipídios de membrana. Da mesma forma, promove o swelling (aumento de volume) mitocondrial e contribui para a disrupção dos túbulos T e do RS (SUPINSKY; NETHERY; DiMARCO, 1999; WILLIAMS, 1997; WILLIAMS et al. 1998).

Adicionalmente, os níveis elevados de Ca^{+2} , conjuntamente com os períodos prolongados de exposição a períodos de isquemia/reperfusão decorrentes do exercício, ativam a produção acrescida de ROS, que se apresentam associadas aos mecanismos indutores de lesão muscular esquelética, por meio da sua ação sobre algumas estruturas celulares (REID, 2000; SUPINSKY; NETHERY; DiMARCO, 1999; WILLIAMS, 1997). Essing; Nosek (1997) referiram ainda que o estresse oxidativo decorrente do exercício se apresenta como uma das causas da diminuição da capacidade de gerar força pelas fibras musculares, particularmente a associada à FBF.

Dessa forma, os fatores responsáveis pela FBF estão relacionados com alguns mecanismos subjacentes à lesão muscular esquelética induzida pelo exercício. Por outro lado, a FAF é caracterizada (1) por diminuição da força durante períodos de estimulação de alta frequência (50-100 Hz), e que é reversível quando a frequência de estimulação diminui; (2) pela diminuição da força, acompanhada pela diminuição da amplitude e duração do potencial de ação e (3) pela diminuição da força, acentuada pelo aumento das concentrações de Na^{+} intracelulares e K^{+} extracelulares, encontrando-se a recuperação dependente do rápido restabelecimento da homeostasia iônica (JONES, 1996; SEGERSTED; SJOGAARD, 2000).

De fato, o aumento das concentrações intersticiais de K^{+} , em consequência do seu movimento para o exterior da célula durante o potencial de ação, tem sido referido por inúmeros autores como um importante fator no desenvolvimento da fadiga durante o exercício intenso de curta duração (BANGSBO, 1997; BANGSBO et

al. 1996; JUEL et al. 1990; JUEL et al. 2000; SEGERSTED; SJOGAARD, 2000). Esse aumento poderá resultar da incapacidade de manter o gradiente iônico em torno da membrana sarcoplasmática das fibras musculares esqueléticas, por falência conjunta ou isolada das bombas de membrana de Na^+/K^+ responsáveis pela recaptação do K^+ no espaço extracelular para o interior da célula. Consequentemente, verifica-se diminuição progressiva da amplitude do potencial de ação, da excitação do sarcolema e dos túbulos T, bem como uma redução da liberação de Ca^{+2} para o citoplasma e da força produzida (McKENNA, 1992; SEGERSTED; SJOGAARD, 2000).

As concentrações intersticiais de K^+ podem aumentar de 5 mM em repouso para aproximadamente 13 mM durante a fadiga (JUEL et al. 2000), comprometendo, assim, a tensão gerada pelas fibras musculares isoladas em 10%-20% (8 mM), 25%-75% (10 mM) e 60%-100% (12,5 mM).

Um dos hipotéticos mecanismos sugeridos por Bangsbo (1997) para explicar a relação entre o acúmulo intersticial de K^+ e o desenvolvimento da fadiga é a estimulação das fibras nervosas sensitivas do grupo III e IV pelo K^+ . Efetivamente, a estimulação dessas fibras nervosas parece promover inibição do cortical e dos nervos motores na medula espinhal, impossibilitando a manutenção de uma determinada intensidade de exercício. Adicionalmente, a par do efluxo de K^+ das fibras durante a fadiga, ocorre um influxo desregulado de Na^+ e água para o interior das fibras, acentuando a disfunção dos processos associados à despolarização da membrana e túbulos T, prolongando o potencial de ação e reduzindo a taxa de liberação de Ca^{+2} para o citoplasma (McKENNA, 1992).

2.3.1.2.1.1 Causas de fadiga muscular de origem periférica

- Depleção energética e fadiga muscular

A diminuição da disponibilidade de substratos energéticos ao músculo esquelético ativo durante o exercício é a hipótese clássica colocada por alguns autores para justificar a fadiga (DAVIS; FITTS, 2001; FITTS; METZGER, 1988; SAHLIN, 1992a; SAHLIN, 1992b; SHALIN, 1996; SAHLIN; TONKONOIGI; SÖDERLUND, 1998). De fato, a influência dos níveis de alguns substratos

energéticos na cinética de alguns íons e a atividade de algumas enzimas específicas, designadas habitualmente por ATPases de Na^+/K^+ , de Ca^{+2} e miofibrilares, têm sido amplamente estudadas (FITTS; METZGER, 1988; GREEN, 1997; ROBERTS; SMITH, 1989).

O movimento iônico sistemático subjacente aos processos de EC ocorre, habitualmente, por mecanismos de difusão simples, a favor do gradiente de concentração, e por transporte ativo ATP dependente contra o gradiente de concentração. Os processos de transporte ativo responsáveis pelo restabelecimento do ambiente eletroquímico celular e extracelular parecem ser largamente influenciados, entre outros fatores, pela funcionalidade de algumas bombas de membrana ATP dependentes, nomeadamente aquelas do sarcolema e do RS (designadas de bombas de Na^+/K^+ e bombas de Ca^{+2} , respectivamente) (GREEN, 1997).

Desse modo, a disponibilidade de substratos energéticos, nomeadamente, de fosfocreatina, de glicose sanguínea e de glicogênio, para a síntese de ATP como substrato para as ATPases específicas, quer as localizadas na membrana plasmática e do RS, quer as miofibrilares, tem sido discutida como um dos fatores predisponentes para a ocorrência de fadiga muscular (THOMPSON; FITTS, 1992).

De fato, a relação de causa-efeito entre a diminuição das concentrações de ATP e CP musculares e a diminuição da força não é evidente, por causa da falta de coincidência temporal entre, por exemplo, a ressíntese dos referidos substratos e a recuperação da força (ROBERTS; SMITH, 1989; THOMPSON; FITTS, 1992). As reservas intramusculares de ATP e PC nunca são completamente deplecionadas, sendo sugerido que esse mecanismo funciona com o sentido de proteger e manter a integridade celular.

Após exercício exaustivo, foram encontrados valores mínimos de 70% e de 10% do valor de repouso para o ATP e CP, respectivamente (ROBERTS; SMITH, 1989). Contudo, apesar da reduzida depleção de ATP, os produtos da hidrólise do ATP (ADP e P_i), hipoteticamente inibidores dos processos de EC, podem registrar aumento relativo considerável, sugerindo que as concentrações de ATP [ATP] celulares não se constituem, per se, fator determinante para a fadiga muscular (SAHLIN, 1992).

Contudo, Blazev; Lamb (1999a) mostraram que, em fibras musculares, a despolarização-indutora da libertação de Ca^{+2} é modelada pelas [ATP] e de $[\text{Mg}^{+2}]$.

Verificaram que, após o exercício prolongado, a diminuição da libertação de Ca^{+2} resulta do aumento das $[\text{Mg}^{+2}]$ e da diminuição das $[\text{ATP}]$ nas zonas próximas dos canais de Ca^{+2} do RS. Observaram, igualmente, que o aumento das concentrações de AMP e monofosfato de iosina (IMP) aumentava o referido efeito de diminuição da libertação de Ca^{+2} . No entanto, em outro estudo, Blazev; Lamb (1999b) sugeriram que o aumento das concentrações de IMP não constitui o fator inibidor dos processos de EC, pois, no músculo normal, as concentrações de adenosina resultantes da desaminação do AMP parecem ter um papel inibidor desses processos.

Em condições de déficit energético (depleção de CP, glicogênio), a taxa máxima de refosforilação do ADP diminui, verificando-se aumento das concentrações de ADP e AMP. Essas concentrações musculares de ADP parecem interferir nos processos de contração (SAHLIN, 1992). Soluções adicionadas com ADP inibem a dissociação actomiosínica, promovendo aumento da tensão gerada pelas fibras como resultado da inibição da taxa de dissociação actomiosínica (McLESTER Jr, 1997). Essa ação do ADP parece manifestar-se apenas em exercícios de longa duração, já que, em exercícios de curta duração e intensidade elevada, a ressíntese de ATP a partir de duas moléculas de ADP forma AMP, que é desaminado em IMP e amônia.

Esse mecanismo, o principal sistema utilizado pelo músculo esquelético no catabolismo da pool de nucleotídeos de adenina, promove redução das concentrações de ADP. O tipo de fibras musculares deve, igualmente, ser considerado, uma vez que a razão ATP/ADP nas fibras rápidas é superior à das lentas. Desse modo, a taxa de relaxamento das fibras rápidas durante a fadiga é muito superior à das fibras lentas em consequência das maiores concentrações de ADP das fibras lentas (McLESTER Jr, 1997).

- Cálcio e fadiga muscular

O mecanismo intracelular responsável pela fadiga que, provavelmente, menos contestação tem sofrido na literatura é, de fato, a diminuição da libertação de Ca^{+2} pelo RS e, conseqüentemente, o decréscimo da concentração intracelular ou mioplasmática de Ca^{+2} ($[\text{Ca}^{+2}]_i$). Efetivamente, foi demonstrado que, durante o exercício intenso e de curta duração, reduções na libertação de Ca^{+2} pelo RS

comprometem a tensão desenvolvida pelas fibras musculares (ALLEN; LÄNNERGREN; WESTERBLAD, 1995; FEBBRAIO; DANCEY, 1999).

Apesar de as $[Ca^{+2}]_i$ nas fibras musculares esqueléticas poderem ser influenciadas pelas alterações desse íon no sarcolema, elas são reguladas, principalmente, pelo RS. O papel principal do RS é libertar e recaptar Ca^{+2} durante os sucessivos ciclos de contração-relaxamento, regulando os níveis de ativação do aparelho contráctil. Quando o potencial de ação percorre o sarcolema e se propaga por meio do sistema T, os sensores moleculares de voltagem localizados na membrana dos túbulos T, normalmente designados de receptores de dihidropiridina (DHPr), permitem a libertação de Ca^{+2} a partir das cisternas terminais do RS e há também o influxo dos íons Ca^{+2} pelo canal (FEBBRAIO; DANCEY, 1999).

Os íons Ca^{+2} difundem-se, então, até às miofibrilas adjacentes, ligam-se à troponina C permitindo a interdigitação entre as cabeças de miosina e os locais ativos da actina e, conseqüentemente, o desenvolvimento de tensão. Durante o relaxamento, o Ca^{+2} dissocia-se da troponina C, sendo captado para a porção longitudinal do RS pela ação de bombas intramembranares (Ca^{+2} ATPase).

Assim, pelo fato de a funcionalidade do RS estar claramente associada quer com os processos de contração, quer com os de relaxamento, as alterações na capacidade de libertação e/ou de captação de Ca^{+2} são apontadas como fatores que afetam, de forma marcante, o desenvolvimento de tensão pelas fibras musculares. Desse modo, alterações nas propriedades funcionais do RS podem estar na gênese da fadiga muscular (WILLIAMS; KLUG, 1995).

Em repouso, a $[Ca^{+2}]_i$ de cerca de 50 nM não é suficiente para que se registre qualquer tensão gerada pelo aparelho contráctil. Contudo, durante uma contração tetânica, a $[Ca^{+2}]_i$ aumenta rapidamente para cerca de 5–10 μ M, saturando os locais de ligação à troponina (WILLIAMS; KLUG, 1995).

A evidência clara de que as $[Ca^{+2}]_i$ são fator determinante na manutenção de determinado nível de força provém dos resultados de alguns estudos (FAVERO, 1999), nos quais a diminuição da força, em consequência da fadiga, é atenuada pela administração de cafeína, um agente estimulador da libertação de Ca^{+2} pelo RS por meio da ativação dos canais de Ca^{+2} (entrada pelo canal L). Esses trabalhos demonstraram que as alterações induzidas na funcionalidade do RS durante a fadiga, por meio da administração de cafeína, resultam na capacidade acrescida do

aparelho contráctil em gerar força, uma vez que a quantidade de Ca^{+2} libertada pelo RS é incrementada.

Resultados semelhantes foram encontrados em fibras individuais isoladas, como resultado da administração de paraxantina, um metabólito da cafeína (HAWKE; WILLMETS; LINDINGER, 1999). Nesse trabalho, foi concluído que baixas concentrações farmacológicas, ou mesmo concentrações fisiológicas desse metabólito, induzem um aumento das $[\text{Ca}^{+2}]_i$ de repouso (HAWKE; ALLEN; LINDINGER, 2000), bem como do influxo de K^+ a partir do espaço intersticial, por aumento da atividade das ATPases Na^+/K^+ (HAWKE; WILLMETS; LINDINGER, 1999).

A importância do papel da $[\text{Ca}^{+2}]_i$ na fadiga parece reforçada pelos resultados de estudos (MOUSSAVI; LEHMAN; MILLER, 1992), que, utilizando dantroleno de sódio, substância inibidora da libertação de Ca^{+2} pelo RS, revelaram efeitos muito semelhantes aos induzidos pela fadiga, ou seja, diminuição das $[\text{Ca}^{+2}]_i$, da força tetânica de contração, bem como aumento da taxa de relaxamento das fibras. Alguns autores (ALLEN; LÄNNERGRENN; WESTERBLAD, 1995) utilizando fibras musculares intactas isoladas, deixam claro que durante a fadiga se verifica uma acentuada diminuição da $[\text{Ca}^{+2}]_i$, com consequente diminuição da força, bem como uma evolução paralela da força e das $[\text{Ca}^{+2}]_i$, durante a recuperação.

Ingalls et al. (1998) atribuíram à falência dos processos de EC, que culminam com a libertação de Ca^{+2} a partir do RS, a principal causa da diminuição da força máxima de contração isométrica no músculo extensor longo dos dedos (EDL) após a realização de um protocolo de exercício indutor de fadiga muscular que consistiu na realização de 150 contrações no modo excêntrico. Os processos de EC parecem ser responsáveis pela fadiga (diminuição da força máxima isométrica), não só durante e imediatamente após o final do exercício, como também durante os vários dias de recuperação da lesão muscular, ou seja, pela fadiga de baixa frequência (INGALLS et al. 1998).

Os mecanismos sugeridos para a diminuição das $[\text{Ca}^{+2}]_i$ durante a fadiga parecem estar relacionados com (1) alterações nos processos de tamponamento mioplasmático do Ca^{+2} (troponina e parvalbumina); (2) diminuição da eficácia da ligação do complexo DHPr-canais de Ca^{+2} , por aumento das concentrações de Mg^{+2} , dificultando a libertação do íon em causa para o mioplasma e (3) disrupção da

propagação do potencial de ação ao longo do sarcolema e para o interior da fibra, por causa do acúmulo de Ca^{+2} e/ou K^{+} nos túbulos T (WILLIAMS; KLUG, 1995).

- pH, fosfato, lactato e fadiga muscular

Outro fator comumente discutido como possível agente de fadiga é a acidose metabólica induzida pelo exercício, com destaque para a resultante do exercício de curta duração e de alta intensidade.

A maioria dos efeitos do ácido láctico no desenvolvimento da fadiga muscular resulta do aumento da concentração de íons H^{+} e consequente diminuição do pH, decorrente da rápida dissociação do ácido láctico. Contudo, apesar de a fadiga ser muitas vezes associada ao decréscimo do pH, a literatura é controversa (ROBERTS; SMITH, 1989; SAHLIN, 1992) relativamente à existência de uma relação direta entre a diminuição do pH intracelular e a diminuição da força muscular, assim como da influência dos íons lactato e H^{+} na fadiga muscular.

Efetivamente, estudos (CHIN; ALLEN, 1998; DUTKA; LAMB, 2000; FAVERO et al. 1997) foram realizados para determinar a influência do aumento das concentrações, seja de H^{+} ou de lactato, na funcionalidade de vários processos e estruturas celulares implicadas na contração muscular e, consequentemente, no desenvolvimento da força. Balog; Fitts (2001) não encontraram relação clara de causa-efeito entre os baixos valores de pH intracelulares e a despolarização dos túbulos T durante a fadiga de fibras musculares de anfíbios.

Por outro lado, Hargreaves et al. (1998) atribuíram ao H^{+} , entre outros agentes (CP, funcionalidade do retículo), a causa da fadiga muscular em exercício intermitente de intensidade elevada. Bangsbo et al. (1996) referiram que a diminuição do pH não se apresenta como a única causa da fadiga em exercícios de intensidade elevada e curta duração, atribuindo ao acúmulo de K^{+} intersticial um importante papel no desenvolvimento da fadiga. Efetivamente, modelos e metodologias experimentais distintos utilizados nos diferentes estudos parecem justificar a diversidade dos resultados obtidos.

Diversos estudos (COOKE; PATE, 1990; DEGROOT et al. 1991; THOMPSON; FITTS, 1992) referiram que a fadiga muscular se correlaciona melhor com a concentração de $\text{H} \text{ PO}^{-}$ (forma protonada do P) do que com o pH, sendo sugerido que a influência do H^{+} no decréscimo da produção de força se deve ao

consequente aumento nas concentrações de H^+ e PO_4^{3-} (FITTS; METZGER, 1988). A utilização de técnicas de ressonância magnética nuclear tem permitido estudar *in vivo* a relação entre as alterações metabólicas musculares e o declínio da força durante o exercício, ou seja, a fadiga muscular. Por meio da utilização das referidas técnicas, Degroot et al. (1991) verificaram correlações de 0,76, 0,82 e 0,84 entre a força máxima de contração voluntária e as concentrações musculares de H^+ , P e H^+ e PO_4^{3-} , respectivamente. Desse modo, embora considerando o H^+ como um importante mediador da fadiga muscular, os autores atribuíram ao P e ao H^+ e PO_4^{3-} as causas principais da redução da força.

Cooke; Pate (1990) verificaram diminuição da tensão máxima isométrica das fibras musculares isoladas como resultado do aumento das concentrações de Pi, bem como da variação da forma diprotonada do Pi em função do pH (7 e 6,2). Por outro lado, resultados de estudos *in vivo* (BALOG et al. 2000) suportam a hipótese de, durante a fadiga, o Pi poder ser um importante modelador endógeno da liberação de Ca^{+2} pelos canais do RS no músculo esquelético.

Em pesquisa de revisão sobre os mecanismos celulares responsáveis pela fadiga, Allen et al. (1995) referiram-se à influência da acidose e do Pi na inibição da atividade das bombas de Ca^{+2} do RS e das ATPases miofibrilares, as suas consequências no aumento do tempo de relaxamento muscular (captação do Ca^{+2} pelo RS) e na taxa de dissociação das pontes transversas, respectivamente. A ação do H^+ como agente indutor de fadiga é corroborada por diversos autores (CHIN; ALLEN, 1998; FITTS; METZGER, 1988; STIENEN; PAPP; ZAREMBA, 1999), que acrescentam, ainda, uma possível e parcial ação do H^+ na inibição da afinidade do Ca^{+2} pela troponina C, inviabilizando a interação entre as proteínas contráteis. A controvérsia em torno do papel do decréscimo do pH na interrupção dos processos de EC é analisada por Fitts; Balog (1995), referindo trabalhos com resultados antagônicos relativamente à influência do pH na inibição dos canais de Ca^{+2} do RS.

Utilizando um protocolo de estimulação intermitente (contrações máximas repetidas em cada quatro segundos induzidas por estímulos elétricos de 100 Hz) em fibras musculares isoladas e intactas, Westerblad (1999) estudou o efeito do pH e do Pi como agentes de fadiga muscular. Durante o protocolo, a força de contração das fibras apresentou um padrão de declínio característico, com rápida redução para 80% da força máxima gerada nas primeiras estimulações (fase 1), seguindo-se período de alguma estabilidade (fase 2) e, finalmente, diminuição rápida da força

(para 40%) até ao final da estimulação (fase 3). Enquanto o decréscimo inicial da força gerada (fase 1) é atribuído a uma diminuição da funcionalidade dos elementos contrácteis, a diminuição da força durante a fase 3 é por causa da redução da liberação e captação de Ca^{+2} pelo RS. De fato, os níveis de Ca^{+2} mioplasmáticos durante a fase 1 e 2 mantinham-se elevados, o que já não acontecia durante a fase 3.

Foi sugerido que a concentração de Pi e o pH impedem a interdigitação entre proteínas contráteis e, por isso, devem ser apontados como fatores responsáveis pelo declínio da força nas fases 1 e 2 (ALLEN; LÄNNERGREEN; WESTERBLAD, 1995). Westerblad (1999), por outro lado, referiu que o efeito da redução do pH na diminuição da força muscular parece ser atenuado à medida que a temperatura aumenta de 10°C (temperatura a que normalmente são realizados os estudos em fibras musculares individuais) até cerca dos 30°C, ou seja, à medida que se aproxima da temperatura considerada fisiológica. Relativamente aos efeitos do íon lactato, na fadiga, não é evidente uma tendência clara dos resultados dos estudos.

Posterino; Fryer (2000) e Dutka; Lamb (2000) encontraram relação desprezível entre o acúmulo de lactato e os processos de excitação-contração, particularmente com a liberação e recaptação do Ca^{+2} , sugerindo que o lactato não constitui o principal fator na indução de fadiga. Por outro lado, Favero et al. (1997) verificaram que, na presença de elevadas concentrações do íon em causa, ocorria uma disrupção dos processos de EC e, conseqüentemente, diminuição do movimento do íon Ca^{+2} , com conseqüente decréscimo da tensão desenvolvida e instalação de fadiga. A presença do lactato demonstrou possuir efeito inibitório, ainda que moderado, na contratibilidade das proteínas contrácteis (POSTERINO; FRYER, 2000). Juel (1997) evidenciou relação do pH e do lactato com a diminuição da função muscular. Essa ação parece manifestar-se em níveis diferentes desde o sarcolema, passando pelos túbulos T, RS, aparelho contrátil até às várias reações metabólicas.

Já Lindinger; McKelvie; Heigenhauser, (1995) referiram a importância da captação de lactato e K^{+} pelos eritrócitos e pelos tecidos não contráteis, como mecanismo regulador da homeostasia iônica plasmática, intersticial e intracelular durante o exercício, na manutenção da funcionalidade dos músculos ativos e no atraso do aparecimento da fadiga, particularmente em exercícios de curta duração e de intensidade elevada.

Adicionalmente, em exercícios em que a taxa glicolítica é elevada, o acúmulo de lactato e H^+ tem papel inibidor da atividade das enzimas da glicólise, particularmente da fosfofrutoquinase (PFK) e dos mecanismos de ativação da fosforilase na glicogenólise, com consequente interrupção do suprimento energético (KIRKENDALL, 1990). A acidose parece também, indiretamente, influenciar o metabolismo de refosforilação do ADP (SAHLIN, 1992), alterando alguns processos metabólicos, entre os quais os relacionados com hidrólise da CP (SAHLIN; TONKONOGI; SÖDERLUND, 1998).

Em suma, os trabalhos experimentais têm demonstrado que reduções nas concentrações intracelulares de cálcio parecem comprometer a tensão gerada pelas fibras durante contrações musculares intensas. As alterações nas concentrações de H^+ , lactato, P_i e ATP, embora influenciem a produção de força pelas fibras musculares, não parecem constituir, por si só, os fatores determinantes da fadiga.

2.4 Laser de baixa intensidade

2.4.1 Aspectos gerais

A luz tem sido utilizada com fins terapêuticos desde tempos antigos. A origem do laser se dá a partir de eventos que ocorrem dentro de uma cavidade óptica, na qual determinado material tem seus átomos excitados, culminando em geração de emissão estimulada de fótons com a mesma frequência, direção e comprimento de onda (COTTON, 2004).

O estágio final desse processo, denominado de amplificação da luz, decorre da existência de espelhos dentro da cavidade, um totalmente refletor e outro parcialmente, fazendo com que os fótons sofram reflexão, estimulando novos fótons e emitindo o feixe laser (KARU et al. 2005; COTTON, 2004).

As características, isto é, as propriedades que diferem o feixe laser de outras fontes luminosas, são a monocromaticidade, colimação, coerência e polarização (KARU et al. 2005). A monocromaticidade indica que cada meio gerador de laser corresponde a um único comprimento de onda, característica importante, pois determina quais moléculas o absorverão e sofrerão os efeitos fotobiológicos específicos. O laser é colimado por consequência apenas da somatória dos fótons

que estão perpendiculares aos espelhos presentes dentro da cavidade óptica, contribuindo para o processo de amplificação. A coerência ocorre, pois os fótons estão em fase, consequência do processo de emissão estimulada. Essa coerência pode ser temporal, quando os fótons se encontrarem em fase, ou espacial, quando os mesmos estão ajustados em planos espaciais paralelos entre si, sendo mantidos por grandes distâncias (BAXTER, 1998; KARU et al. 2005).

A polarização ocorre quando as ondas de luz estão todas orientadas para um só plano, gerando a vibração dos campos elétricos em uma só direção, podendo ser linear ou circular (COTTON, 2004).

O comprimento de onda mais utilizado na laserterapia de baixa intensidade está entre 630 a 1.300 nm, incluindo a luz visível e parte próxima da luz infravermelha. Essa parte do espectro é denominada de janela óptica, por ser essa faixa capaz de penetrar nos tecidos e produzir os efeitos específicos (KARU et al. 2005).

2.4.2 Interações biológicas

A radiação luminosa ao atingir o tecido biológico pode ser refletida, transmitida, absorvida ou espalhada (Figura 1). A absorção é o principal parâmetro da interação laser-tecido, pois dela depende a quantidade de energia entregue ao tecido e por sua vez os efeitos nele provocados. Dependendo da energia do fóton, a radiação pode ser transferida à molécula causando transições rotacionais, vibracionais ou eletrônicos, provocando nos tecidos, efeitos fotoquímicos, fotofísicos, fototérmicos, fotomecânicos e fotoelétricos (KARU et al. 2005).

O princípio básico da terapia a laser é o fato de a irradiação, por meio da propriedade de monocromaticidade, possuir capacidade de alterar o comportamento celular sem que seja necessária a presença de aquecimento. Por essa razão, denomina-se de terapia de baixa intensidade. Nesse fenômeno, apesar de ser primeiramente denominado de bioestimulante, notou-se que, em certos momentos, apresenta efeito inibitório sobre as ações celulares, tendo assim a sua terminologia modificada para biomodulador (BASFORD, 1995; BAXTER, 1998; VLADIMIROV; OSIPOV; KLEBANOV, 2004).

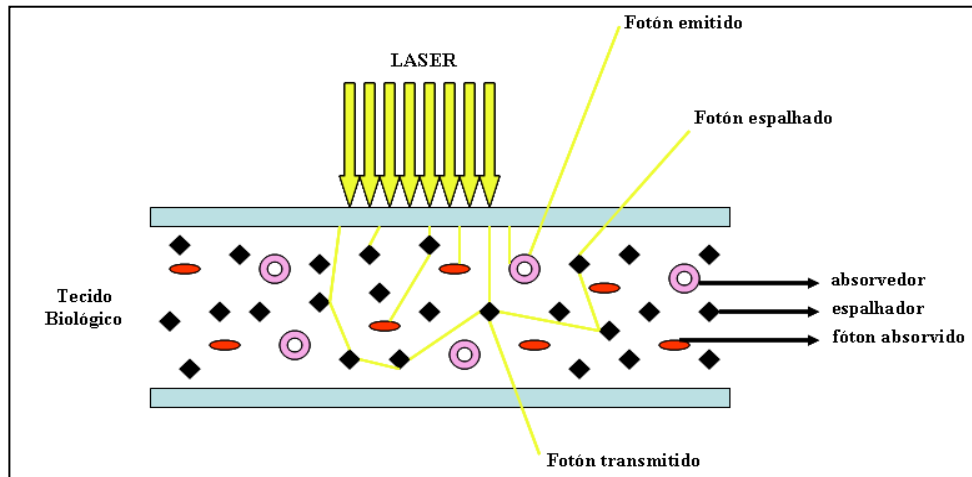


Figura 1 - Efeitos físicos da interação laser-tecido biológico.

A interação biológica laser-tecido promove reações atérmicas, produzindo o efeito fotoquímico. Tal efeito está associado à absorção particular de cada cromóforo, isto é, substâncias absorvedoras de luz presentes nos tecidos, tendo como alvo principal os citocromos presentes nas mitocôndrias (Figura 2). Para lasers de 488 e 515 nm (argônio), tem-se a hemoglobina como principal cromóforo, enquanto que para 10.600 nm (CO₂), a água. Para o 632,8 nm (He-Ne), 904 nm (GaAs) e 630-830 nm (GaAlAs), ou seja, comprimentos na região do vermelho e infravermelho próximo, não apresentam fortes cromóforos, possibilitando maior capacidade de penetração (BASFORD, 1995; VLADIMIROV; OSIPOV; KLEBANOV, 2004; COTTON, 2004).

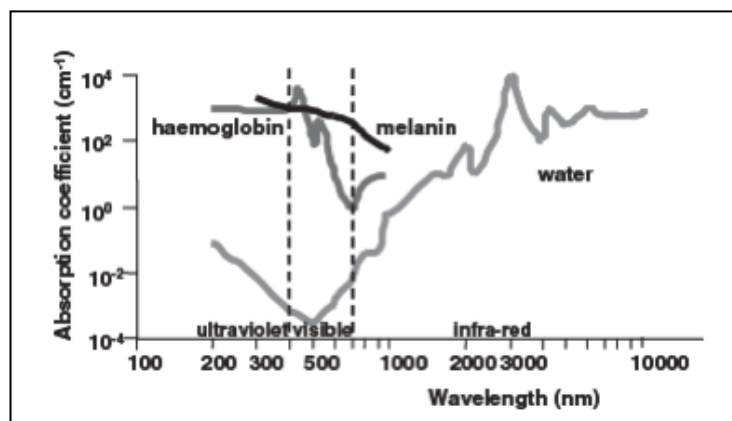


Figura 2 - Coeficiente de absorção para alguns comprimentos de onda.

Fonte: Cotton (2004)

Karu et al. (2005) afirmaram que esses efeitos podem ocorrer por processos que provocam modificações no potencial da membrana, resultando em aumento da síntese de ATP, gerando os efeitos de biomodulação.

As porfirinas endógenas, presentes nas mitocôndrias, absorvem a luz na porção vermelha do espectro servindo como cromóforos da irradiação do laser e atuando como fotossensibilizadores, induzindo reações de radicais livres (incluindo a peroxidação lipídica com formação predominante de hidroperóxido de ácidos e gorduras não saturadas nos fosfolipídios) após a absorção do quantum de energia (KLEBANOV et al. 2001).

A peroxidação lipídica aumenta a permeabilidade iônica da membrana plasmática, em particular, dos íons cálcio. O aumento intracelular da $[(Ca^{2+})_i]$ em leucócitos ativa processos dependentes de Ca^{2+} e finalmente incrementa o potencial funcional celular. Esse processo é acompanhado pela reunião de NADPH-oxidases na membrana no estado ativo de espera e expressão de receptores de superfície. O aumento do potencial funcional dos leucócitos também é acompanhado pela produção de agentes bioativos, como O_2 , H_2O_2 , ClO^- , NO, e várias citocinas. Alguns possuem propriedades bactericidas enquanto outros afetam a microcirculação sanguínea (KLEBANOV et al. 2001).

A participação do citocromo-c-oxidase e do Ca^{2+} -ATPase, atuantes como cromóforos, não explica todos os efeitos da irradiação infravermelha (KLEBANOV et al. 2001). O óxido nítrico (NO) é considerado um mediador dos efeitos celulares decorrentes à laserterapia, sendo responsável pelo incremento da ligação celular, estando associado à produção de energia, estimulação da biogênese de mitocôndrias, apoptose, e envolvido com efeitos analgésicos, aumento da microcirculação, possuindo reservatório nas hemoglobinas (KARU; PYATIBRAT; AFANASYEVA, 2005). A irradiação a laser (632,8 nm, 45,19 J, 162 J/cm²) regula o aumento do peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP), que serve como um indicador da regeneração nervosa após a lesão e da sobrevivência neuronal (SNYDER et al., 2002). A proliferação de fibroblastos gengivais é aumentada pela aplicação da terapia a laser, independentemente do comprimento de onda (670, 780, 692, 782 nm), mas com a mesma fluência (2 J/cm², 0,02 J), e quanto menor o tempo de exposição (maior potência de saída), melhor serão os resultados (ALMEIDA-LOPES et al. 2001).

Na prática clínica, a laserterapia emprega densidades de energia de 1 a 4 J/cm², associadas com potência de saída entre 10 e 90 mW, sendo amplamente utilizada em diversas lesões de músculo esquelético, assim como em processos algícos e inflamatórios (BASFORD, 1995).

Karu (1987) verificou que a irradiação de mitocôndrias isoladas induzia alterações na homeostasia celular resultando em reações em cascata. Sugerindo que alguns componentes da cadeia respiratória (citocromos e flavinas desidrogenase) serviriam como fotorreceptores ou cromóforos primários, ou seja, capazes de absorver luz de determinado comprimento de onda, ativando a cadeia respiratória. Resultando no aumento da síntese de ATP, afetando os níveis de hidrogênio da célula, ativando outros íons transportados como sódio e potássio, além de alterarem o fluxo de cálcio entre as mitocôndrias e o citoplasma (REIS, 2006, p.37).

Em 1999, foi confirmada a hipótese de que o citocromo-c-oxidase, enzima terminal da cadeia respiratória, é um fotorreceptor da luz na região do vermelho. A absorção da luz por essa enzima aceleraria o transporte de elétrons na cadeia respiratória levando ao aumento de potencial elétrico transmembrana da mitocôndria, ativando a síntese de ATP, conseqüentemente, o metabolismo celular (MANTEIFEL; KARU, 2005).

Já Rochkind; Quaknine (1992) relataram que os efeitos do laser de baixa potência (LBP) são dependentes da densidade de energia, pois baixas densidades causam a regulação na oxirredução do metabolismo celular, e com altas densidades ocorrem danos fotodinâmicos. Tal afirmação foi possível após analisarem diferentes comprimentos de ondas e densidades de energia aplicadas sobre células de fibroblastos, verificando que a 630 nm obtinha-se maior número de mitoses em comparação a 360 nm e 780 nm enquanto que o pico era alcançado com densidade de energia de 15 J/cm²; porém, acima de 60 J/cm², apresentavam redução da reprodução celular.

2.5 Laser na fadiga muscular

Recentemente, pesquisadores (LEAL-JUNIOR et al. 2010; VIEIRA et al. 2011; VIEIRA et al. 2005a) têm explorado os efeitos ergogênicos da fototerapia para retardar o início ou resistir aos efeitos da fadiga muscular e do cansaço.

Outros pesquisadores (LEAL JUNIOR et al. 2010b; LOPES-MARTINS et al. 2006) também indicaram que doses específicas de fototerapia reduzem o lactato no sangue e os níveis de biomarcadores inflamatórios após exercício extenuante em

membros inferiores e superiores. Com base nesses resultados, pode-se inferir que a fototerapia também proporciona efeito profilático para o tecido, limitando os danos celulares induzidos pelo exercício. Limitar a inflamação e danos celulares durante o exercício também pode melhorar a recuperação da força muscular e função após o exercício.

Desta forma, esta revisão objetiva determinar a capacidade dos dispositivos de fototerapia, tais como dispositivos de laser e diodos emissores de luz (LEDs), em melhorar a função contrátil do músculo, reduzir a fadiga induzida por exercício muscular e facilitar a recuperação pós-exercício.

2.5.1 Características do feixe e interação com o tecido

Os aparelhos de fototerapia encontrados em revisão sistemática na literatura (BORSA; LARKIN; TRUE, 2013) são o semicondutor ou diodo laser em estado sólido ou LEDs. Diodos de laser semicondutores ou de estado sólido contêm um meio de laser para estimular a emissão de fótons. Eles emitem fótons na forma mais colimada e coerente do que as fontes de LED. Outra característica importante da emissão de fótons é o diâmetro do feixe ou a área do feixe. Feixes com diâmetros menores produzem maior irradiação de densidade de energia no ponto de contato com a pele. Nos estudos observados (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c; LEAL JUNIOR et al. 2009d; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a), os lasers utilizados apresentavam área de feixe variando de 0,003-0,01 cm², enquanto LEDs (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c; LEAL JUNIOR et al. 2011; BARONI et al. 2010b) usavam áreas de feixe variando de 2 a 0,5 cm² irradiando a luz sobre a pele em padrão muito mais divergente.

O comprimento de onda tem papel fundamental na capacidade da luz penetrar o tecido mole (HASHMI et al. 2010; ENWEMEKA, 2009), quando a laserterapia é administrada diretamente à pele do indivíduo, certa quantidade de luz é atenuada pelas camadas mais superficiais. Tunér; Hode (2002) indicaram que 50% a 90% da energia é absorvida pela pele e tecidos subcutâneos e a energia de luz remanescente penetra em camadas mais profundas dos tecidos (músculo, fáscia profunda, ligamentos).

Esnouf et al. (2007) utilizaram laser de diodo (850 nm), com potência de saída de 100 mW para irradiar uma seção 0,784 mm de espessura da pele humana e observaram que 66% da intensidade do feixe inicial era atenuada pela seção de pele. Da mesma forma, Kolari; Airaksinen (1993) expuseram tecido à irradiação laser infravermelho e vermelho visível e comprovaram que uma quantidade substancial de energia de luz era absorvida dentro de 0,5 mm, após a penetração. Pesquisadores (ENWEMEKA et al. 2004; REDDY, 2004; ENWEMEKA, 2009) indicaram que os diodos com comprimentos de onda entre 820-904 nm podem transmitir energia de luz entre 2 a 4 cm para além da interface da pele e, portanto, são mais adequados para o tratamento de desordens profundas dos tecidos moles, tais como aqueles envolvendo músculos, ligamentos e tendões. Diodos com comprimentos de onda entre 400 e 700 nm podem transmitir energia de luz apenas para as camadas de tecido da epiderme e derme (1 cm) e, portanto, são mais adequados para o tratamento de feridas superficiais e doenças de pele (BECKERMAN et al. 1992; ENWEMEKA, 2001).

2.5.2 Dose-dependência

A dose terapêutica é relatada na literatura como um dos principais fatores que tem influência sobre a cicatrização do tecido biológico (ENWEMEKA, 2009; BJORDAL; BAXTER, 2006; HUANG et al. 2009). Alcançar uma dose terapêutica sem hipoestimular ou hiperestimular os tecidos-alvo é muitas vezes o componente mais difícil da prática clínica da laserterapia (BJORDAL; BAXTER, 2006).

O princípio de Arndt-Schultz foi adotado a partir de estudos de toxicologia iniciais da cultura de levedura para explicar o nível de dose terapêutica ideal do laser. Doses ótimas foram estabelecidas experimentalmente em culturas de células e de tecidos. Essa dose terapêutica de laser ou o nível de fotoestimulação deve ser atingido; se a quantidade de energia absorvida é insuficiente para estimular os tecidos absorventes, nenhuma reação ou alteração pode ocorrer nos tecidos do corpo (STARKEY, 2004). Estímulos fracos (subdosagem) não produzem qualquer efeito ou produzem apenas efeito reduzido sobre a função celular, por outro lado, estímulos moderados a fortes podem melhorar a função celular, e os estímulos

muito fortes (overdose) podem suprimir ou inibir a função celular (HUANG et al. 2009).

As doses ótimas, que são fotoestimuladas em muitos tecidos humanos (pele, músculos, nervos periféricos, ossos e tendões) não são conhecidas, no entanto, resultados de estudos em animais e celulares (LOPES-MARTINS et al. 2006; AIMBIRE et al. 2006; AMARAL; PARIZOTTO; SALVINI, 2001) indicaram que os efeitos terapêuticos da fototerapia são dependentes da dose e esta deve operar dentro de uma janela terapêutica no tratamento de lesões do sistema musculoesquelético.

Desta forma, pode-se supor que a dose-dependência para o tratamento de condições musculoesqueléticas patológicas em humanos realmente exista. No entanto, existem problemas quando se tenta traduzir estudos de fototerapia a partir de modelos animais para humanos. Nenhum método conhecido ou aceito universalmente está disponível para calcular a dose de tratamento ideal em seres humanos. Portanto, as doses de tratamento de luz e do tipo de fonte de luz variam entre os estudos, com a tendência a favor de uma dose mais elevada quando se utiliza um dispositivo de LED do que quando se utiliza um diodo laser. Essa descoberta faz sentido, porque a luz que emana de LEDs tem maior largura de pulso, não é coerente, e é mais divergente do que a luz que emana de diodos laser, o que resulta em maior reflexão ou transmissão e menor absorção do LED gerado por meio da pele. Baseado nisto, doses maiores, ao usar a terapia LED, podem compensar a reflexão do feixe e divergência.

2.5.3 Função contrátil, resistência à fadiga, recuperação pós-exercício

Recentemente, pesquisadores demonstraram que a fototerapia pode proporcionar efeitos ergogênicos, melhorando a função contrátil do músculo esquelético (LEAL JUNIOR et al. 2010a; LOPES-MARTINS et al. 2006; LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b; FERRARESI et al. 2011). Em vários estudos, foram investigados os efeitos do laser e do LED na fadiga muscular e em lesões musculares usando tanto modelos animais (LEAL JUNIOR et al. 2010a; LOPES-MARTINS et al. 2006) quanto populações humanas (LEAL

JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c).

Lopes-Martins et al. (2006) e Leal Junior et al. (2010b) mostraram atraso na resposta à fadiga, após contrações tetânicas induzidas por estimulação elétrica no músculo tibial anterior de ratos expostos a laserterapia. Demonstraram também que o músculo esquelético exposto ao laser apresentava níveis mais baixos de concentração de lactato e atividade de CK depois de repetidas contrações tetânicas. (LEAL JUNIOR et al. 2010a; LOPES-MARTINS et al. 2006). Já estudos em humanos, o músculo esquelético exposto a laser (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2010b) ou LED (LEAL JUNIOR et al. 2009b; BARONI et al. 2010b) mostra melhor desempenho, mantendo a força contrátil e retardando o aparecimento da fadiga, após exercícios de resistência. O músculo esquelético exposto ao laser ou LED também apresentava danos menores das células após o exercício, o que indica um efeito protetor fornecido a partir da fototerapia (LEAL JUNIOR et al. 2010a; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a).

Em vários estudos (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b), pesquisadores administraram tratamentos com fototerapia ativos e placebos para o músculo bíceps braquial de jogadores profissionais de vôlei e os instruiu a realizar repetidos exercícios de flexão de cotovelo até a exaustão. A intervenção consistiu de fototerapia com 20 J (5 J por ponto em 4 pontos) (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a), 42 J (1 ponto) (LEAL JUNIOR et al. 2009b) ou 60 J (30 J por ponto 2 pontos) (LEAL JUNIOR et al. 2010b) de luz emitida, ou com diodo laser ou LED para o músculo bíceps braquial do membro superior dominante antes do exercício. O músculo bíceps braquial, tratado com laser ativo ou terapia LED realizou mais repetições até a exaustão voluntária do que o músculo bíceps na forma placebo. Os níveis de lactato sanguíneo comparados, antes e após o exercício foram ligeiramente mais baixos e menores após o exercício, quando o tratamento de luz ativo foi administrado aos bíceps. A CK e os níveis de proteína C-reativa (PCR) também foram menores após o tratamento com luz ativa do que no placebo (controle).

Leal Junior et al. (2008) e Leal Junior et al. (2009a), inicialmente avaliaram os efeitos da terapia com laser na função muscular do bíceps braquial, comparando

lasers com diferentes comprimentos de onda (655 nm e 830 nm) respectivamente. O nível de dose total acumulada em ambos os estudos foi de 20 J (5 J por ponto em 4 pontos). Embora ambos os comprimentos de onda tenham produzido resultados similares de melhora de desempenho e recuperação muscular pós-exercício, notam-se resultados interessantes com comprimentos de onda menores (655 nm), isto é, com profundidade de absorção mais baixa do que os lasers infravermelhos (830 nm). Pesquisadores (ENWEMEKA, 2009; ENWEMEKA, 2001) indicaram que quantidades menores de luz podem ser transmitidas ao tecido muscular quando se opta por comprimentos de onda menores (655 nm) no vermelho, desta forma, esperava-se que o músculo absorvesse a luz de maneira mais rápida, favorecendo a melhora do desempenho e evitando a instalação dos danos pós-exercício.

Em estudos posteriores (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b) a respeito dos efeitos ergogênicos e profiláticos da fototerapia utilizando 5 diodos laser infravermelhos (810 nm) e um conjunto de LED multidiódos (34 vermelhos e 35 infravermelhos), puderam observar mais uma vez que ambos os dispositivos produziram resultados similares para a melhoria do desempenho e recuperação pós-exercício. O LED e laserterapia aplicados pré-exercício aumentaram o número de repetições até a exaustão de 12,9% e 14,5%, respectivamente, e o tempo decorrido até a exaustão de 11,6% e 8%, respectivamente. Além disso, o músculo exposto à fototerapia ativa apresentou menor dano celular induzido pelo exercício do que o músculo na condição de tratamento placebo.

Leal Junior et al. (2009c) e Leal Junior et al. (2009d) avaliaram os efeitos da terapia com laser ou LED na fadiga muscular, induzida pelo exercício e analisaram a recuperação pós-exercício extenuante da extremidade inferior. Os participantes preencheram uma única sessão de exercícios de resistência para a extremidade inferior utilizando o cicloergômetro (Wingate test). Foram avaliados jogadores de voleibol masculino e futebol após administração de uma dose controlada de laser ou LED ou uma dose falsa (placebo) no músculo reto femoral antes de completar o teste de Wingate. Os pesquisadores não encontraram diferenças no pico ou potência média ou na quantidade de trabalho muscular realizado entre as condições de tratamento com fototerapia ativa e grupo placebo, no entanto, os níveis de biomarcadores sanguíneos pós-exercício foram menores quando os atletas receberam a dose ativa fototerapia. As doses administradas ao músculo variaram

consideravelmente entre os estudos. O diodo laser (810-830 nm) com doses de tratamento consistiu 12 J (6 J por ponto, 2 pontos) ou 30 a 40 J (3-4 J por ponto, 10 pontos) por músculo, enquanto que a dose de LED consistiu de 83,4 J (41,7 J por ponto, 2 pontos) administrado bilateralmente.

Esse achado indica que a fototerapia, seja por laser ou LED, pode proteger os músculos de danos ou aprimorar os mecanismos de recuperação pós-exercício após exercício extenuante.

Em dois estudos (BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b) utilizando dinamometria isocinética, foram avaliadas a fadiga muscular e recuperação pós-exercício do grupo muscular quadríceps femoral em resposta a fototerapia ativa e na forma placebo. Eles investigaram os efeitos protetores do laser ou LED na terapia induzida pelo exercício, perda de força e recuperação pós-exercício. O músculo quadríceps femoral foi exposto a laserterapia ativa e placebo e LED, em seguida, os participantes realizaram regime de exercícios de resistência para o mesmo grupo muscular.

Os autores trataram o grupo muscular quadríceps (reto femoral, vasto medial e vasto lateral) com um multidiodo laser infravermelho (810 nm) (BARONI et al. 2010a) e com um cluster (34 com 660 nm e 35 com 850 nm) multidiodo LED (BARONI et al. 2010b) antes do exercício em doses cumulativas de 180 J (30 J por ponto em 6 pontos) e 125,1 J (41,7 J por ponto em 3 pontos), respectivamente. Em ambos os estudos, mostraram que o laser ativo e LED antes do exercício reduz os níveis pós-exercício de marcadores de lesão muscular, limitado à extensão da fadiga muscular e melhorando a recuperação pós-exercício em comparação com a terapia placebo.

Já Kelencz et al. (2010) estudaram os efeitos da terapia com LED (640 nm) sobre a atividade muscular e resistência à fadiga. O músculo masseter foi irradiado sob quatro condições de dose (placebo e 8,3 J [1,04 J por ponto em 8 pontos], 16,7 J [2,09 J por ponto em 8 pontos], e 25,1 J muscular [J 3,13 por ponto em 8 pontos]). Após o tratamento, os voluntários morderam uma placa de pressão equipada com uma célula de carga incorporada na plataforma. Os sinais de eletromiografia (EMG) e níveis de contração isométrica voluntária máxima foram registrados antes e após o tratamento e oclusão mandibular. Foi observado, após o tratamento, que os efeitos sobre a fadiga muscular e recuperação pós-exercício são dependentes da dose

aplicada sobre o músculo. A dose de 8,3 J produziu, após o tratamento, maior atividade do músculo, enquanto que a dose de 16,7 J aumentou o tempo de fadiga.

Na maioria dos estudos desta revisão, os investigadores administraram os tratamentos a laser, antes de completar o protocolo de exercícios. Em um desses estudos, a terapia com laser foi aplicada após o protocolo de exercício. Leal Junior et al. (2011) compararam os efeitos da terapia por imersão em água fria (CWIT), terapia com LED, e terapia LED placebo na recuperação pós-exercício de resistência com alta intensidade. Os participantes preencheram uma única sessão de exercícios de resistência para a extremidade inferior usando o teste de Wingate no cicloergômetro. Um LED multidiado foi administrado para os principais grupos musculares dos membros inferiores (quadríceps, isquiotibiais, tríceps sural) cinco minutos após a conclusão da sessão de exercícios. A dose cumulativa de ambas as pernas foi 417 J (41,7 J por ponto em dez pontos). A terapia LED foi mais eficaz do que a placebo para facilitar a recuperação muscular pós-exercício. Níveis de lactato sanguíneo e atividade CK foram menores após o tratamento com a terapia da luz ativa do que com a placebo.

2.6 Mecanismos de ação

2.6.1 Efeitos ergogênicos

Os autores dos estudos revisados postularam que a fototerapia pode proporcionar efeito ergogênico durante o exercício, melhorando a microcirculação intramuscular (BARONI et al. 2010a), diminuindo a produção de ácido láctico, (LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b; LEAL JUNIOR et al. 2011) melhorar a função mitocondrial (KARU, 1999; SILVEIRA et al. 2009) e melhorar a capacidade antioxidante (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; BARONI et al. 2010a) de exercício muscular. No entanto, a microcirculação e os níveis de estresse oxidativo não foram avaliados diretamente nos estudos analisados.

Níveis mais baixos de lactato sanguíneo, após o exercício extenuante de extremidades superior e inferior para o grupos que receberam doses de laser ou LED ativa, indicam que menos vias metabólicas anaeróbias ou glicolíticas foram utilizadas durante o exercício ou houve menor acúmulo de ácido láctico utilizado

como um substrato para o metabolismo oxidativo por meio da mitocôndria (BROOKS et al. 1999; TONKONOGI; SAHLIN, 2002) e células musculares bem oxigenadas tem maior capacidade de oxidar o ácido láctico para o piruvato, que depois é usado pela mitocôndria para produzir ATP. A fototerapia, especialmente no espectro infravermelho, ativa a cadeia respiratória por meio do fotorreceptor citocromo c-oxidase (SILVEIRA et al. 2009).

A ativação da cadeia respiratória resulta em uma cascata de reações bioquímicas, levando ao aumento das taxas de síntese de ATP para a sustentação da função muscular.

2.6.2 Efeitos profiláticos

Microlesões musculares induzidas pelo exercício ocorrem em duas fases distintas: primária e secundária. As lesões musculares primárias ocorrem por causa dos esforços mecânicos do exercício, e danos musculares secundários são causados por reações bioquímicas em cascata que ocorrem por causa da resposta inflamatória (LEADBETTER, 2001; MERRICK, 2002). Acredita-se que a fototerapia administrada antes do exercício tem função de proteger as células ao dano muscular primário e secundário, ao passo que a fototerapia administrada após a lesão protege as células de danos secundários (BARONI et al. 2010a). Os mecanismos exatos pelos quais a fototerapia protege os músculos contra os danos do exercício induzido não são totalmente compreendidos, no entanto, os resultados de estudos em animais in vivo revelaram informações importantes sobre como a fototerapia pode proteger o músculo de danos secundários após o trauma.

Os autores (SUSSAI et al. 2010) de estudos animais in vivo demonstraram que a fototerapia administrada ao tecido muscular lesionado produz efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes que protegem contra danos secundários do músculo.

Avni et al. (2005) investigaram o efeito citoprotetor da laserterapia usando um modelo de lesão por isquemia-reperfusão (IRI) em músculo gastrocnêmio de rato. Demonstraram que a laserterapia aplicada imediatamente e 1 hora após a oclusão arterial pode melhorar a capacidade antioxidante de estruturas musculares lesadas horas após a lesão IRI comparado com o grupo controle.

Da mesma forma, em uma série de pesquisas, Oron et al. (2001) e Ad; Oron, (2001) investigaram os efeitos da laserterapia sobre o dano muscular e formação de tecido cicatricial utilizando um modelo de infarto do miocárdio (MI) produzido experimentalmente em ratos e cães. O MI foi induzido por oclusão da artéria coronária descendente anterior. No modelo canino, terapia com laser foi aplicada na região enfartada do coração durante 15 minutos e de novo aos três dias após MI. A densidade de energia foi de $1,08 \text{ J/cm}^2$ administrada em cada momento usando o comprimento de onda de 803 nm, com densidade de potência de 6 mW/cm^2 . As amostras de tecidos foram analisadas com o software para morfometria computadorizada. Os corações que receberam a laserterapia tiveram redução de 50% a 70% da dimensão do infarto e menor formação de tecido cicatricial pós-infarto (4-6 semanas), em comparação com os corações que não receberam a terapia laser. Os autores concluíram que a terapia com laser após MI aumentou substancialmente a produção de proteínas de choque térmico e preservando a integridade mitocondrial, o qual, por sua vez protegeu o músculo do coração dos efeitos prejudiciais da isquemia, inflamação e estresse oxidativo.

Já Rizzi et al. (2006) investigaram os efeitos da laserterapia na inflamação e reparação utilizando ratos Wistar machos com uma lesão induzida no músculo gastrocnêmio. A terapia com laser foi administrada diariamente ao músculo lesionado. Os resultados revelaram que a terapia a laser reduziu as vias inflamatórias de sinalização e bloqueou os efeitos danosos das ROS. Níveis de estresse oxidativo e inflamatório foram reduzidos, minimizando assim os danos musculares secundários.

Em vários estudos (LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a) sobre fototerapia na presente revisão, reduções pós-exercícios dos níveis de CK, desidrogenase láctico e proteína C-reativa (PCR) foram observados quando o laser ou LED ativo foram administrados antes do exercício. Essas reduções indicam que houve menores danos musculares induzidos pelo exercício e a inflamação ocorreu durante a sessão de exercício de menor resistência da extremidade superior. Uma maior proteção celular durante o exercício extenuante por causa do tratamento com fototerapia provavelmente teve efeito direto sobre a melhora na recuperação pós-exercício. (LEAL JUNIOR et al. 2011; BARONI et al. 2010a).

2.7 Implicações clínicas

A fadiga muscular esquelética é uma nova área para a pesquisa utilizando a fototerapia (laser ou LED). O uso tradicional do laser na prática clínica tem sido direcionado para o tratamento de tecido lesado objetivando controlar a dor e melhorar a cicatrização. No entanto, novos paradigmas para a prática clínica estão expandindo o modelo tradicional para fototerapia em situações clínicas. Pode-se observar, nesta revisão, uma avaliação mais profunda dos efeitos da fototerapia administrados pré-exercício em limitar a extensão da fadiga induzida pelo exercício e lesão muscular, facilitando a recuperação pós-exercício.

A fototerapia parece ser uma modalidade de tratamento viável para o músculo esquelético. É um método seguro, de fácil aplicabilidade, não invasiva e não apresenta efeitos adversos conhecidos e existem poucas contra-indicações. Resultados de estudos demonstraram benefícios ergogênicos e profiláticos para o músculo esquelético após dose de tratamento de fototerapia. Resultados efetivos na melhora do desempenho ocorreram quando foi administrada a fototerapia pré-esforço (LEAL JUNIOR et al. 2010a; LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b; KELENCZ et al. 2010) e pós-exercício (LEAL JUNIOR et al. 2011; FERARESSI et al. 2011). Os investigadores puderam concluir que a exposição do músculo esquelético ao laser de diodo único e multidiodo ou LED afeta positivamente o desempenho físico retardando o aparecimento da fadiga (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b), reduzindo a resposta fadiga, (BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b; KELENCZ et al. 2010) melhorando a recuperação pós-exercício, (LEAL JUNIOR et al. 2010b; LEAL JUNIOR et al. 2011; BARONI et al. 2010a) e as células que protegem de danos induzida pelo exercício (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c; LEAL JUNIOR et al. 2010b; BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b; KELENCZ et al. 2010). Os resultados apresentados podem afetar diretamente na forma que as modalidades de fototerapia são prescritas por terapeutas e utilizadas na prática clínica.

No que diz respeito à fonte de luz, diodos laser, tipicamente emitem luz com largura de banda muito estreita em comparação com os LED (DE MORAIS et al.

2010). O spot (área de feixe) de emissão mais estreito intensifica o feixe, criando maior densidade de energia ou o nível de fluência (J/cm^2). Diodos laser emitem luz com densidades de energia mais elevadas do que os LEDs, e tal fato pode afetar a taxa de absorção de profundidade, de penetração, e os padrões de transmissão de luz para os tecidos mais profundos, independentemente do comprimento de onda (ENWEMEKA, 2009; DE MORAES et al. 2010; ENWEMEKA, 2006; GUNDERSEN, 2005). Por outro lado, diodos emissores de luz são menos dispendiosos de fabricar do que os diodos semicondutores ou de estado sólido e tem-se mostrado modalidades de tratamento eficazes e seguras (BARONI et al. 2010b).

Ser capaz de, rapidamente e efetivamente, tratar um músculo ou grupo muscular inteiro é um fator importante quando se utiliza laserterapia como auxílio ergogênico. Multidiodo lasers e LEDs podem ter vantagem sobre único diodo laser para o tratamento de músculos grandes, porque eles podem cobrir maior área de superfície ao longo do músculo (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c). Tratamentos com lasers de diodo simples despejam feixes colimados de energia para pequenas áreas sobre a pele e, conseqüentemente, o aplicador tem de ser movida continuamente para cobrir vários pontos sobre um músculo ou grupo de músculos. Em virtude dos aplicadores multidiodos LED apresentarem maior divergência do que os diodos de laser, não há necessidade de movimentação muitas vezes durante o tratamento enquanto ainda cobrindo uma grande área de superfície do músculo por ponto de aplicação. O número de pontos de tratamento por músculo ou grupo muscular variou entre os estudos analisados (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2009c). O bíceps braquial foi tratado com 1 a 2 pontos com multidiodo laser/LEDs e 4 pontos, com um laser de diodo único. Para a extremidade inferior, o número de pontos de tratamento para os quadríceps femoral variou de 2 a 6 para lasers multidiodo/LEDs e incluiu 5 pontos por um único diodo de laser.

A fototerapia administrada imediatamente antes do exercício de resistência estendeu o tempo decorrido para a fadiga e o número total de repetições até a fadiga (LEAL JUNIOR et al. 2008; LEAL JUNIOR et al. 2009a; LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et al. 2010b). Além disso, a fototerapia reduziu a resposta de fadiga do músculo esquelético durante uma sessão de exercícios de resistência, (BARONI et al. 2010a; BARONI et al. 2010b) e aumentou a recuperação pós-exercício, reduzindo o dano induzido pelo exercício quando aplicado antes e após exercícios de resistência extenuante (LEAL JUNIOR et al. 2009b; LEAL JUNIOR et

al. 2010b; LEAL JUNIOR et al. 2011; BARONI et al. 2010a). A dose eficaz para o bíceps variou de 20 a 60 J, enquanto que músculos maiores na extremidade inferior exibiram efeitos ergogênicos e profiláticos, quando doses mais elevadas de tratamento, variando 125 a 180 J, foram administradas. Em média, as doses de tratamento foram maiores nos estudos de terapia de LED do que nos de laser de diodo simples e multidiódos para alcançar um resultado terapêutico similar (GUNDERSEN, 2005). Por essa razão, os fisioterapeutas clínicos necessitam ajustar a dose de tratamento cumulativa ao utilizar dispositivos de LED para compensar a maior divergência de feixe e a redução da densidade de energia.

Atletas em recuperação de comprometimentos osteomusculares muitas vezes experimentam mudanças no desempenho físico, como os de início precoce e fadiga muscular associada com dor, e por causa de hipotrofia, alterações degenerativas (por exemplo, osteoartrite) e déficit neuromuscular. Em situações clínicas, nas quais o exercício de resistência progressiva é indicado para recuperação estrutural e funcional (por exemplo, com a reabilitação pós-operatória), a fadiga muscular e a dor induzidas pelo exercício podem ser fatores limitantes do desempenho do atleta (ALLEN, 2009). Isto é especialmente verdadeiro para os grupos de músculos que mantêm o equilíbrio e função locomotora, como por exemplo o quadríceps femoral (DUTTA; HADLEY; LEXELL, 1997).

Durante uma sessão de reabilitação, normalmente, um atleta lesionado passa por uma combinação de modalidades terapêuticas em conjunto com o exercício terapêutico. As modalidades terapêuticas, em geral, são administradas durante uma sessão de tratamento para controlar a dor e outros sintomas que podem limitar a intensidade e o volume de exercícios terapêuticos. Os objetivos do exercício terapêutico são para que o atleta recupere a amplitude de movimento, força e função, favorecendo o retorno com segurança para o esporte. A melhora do desempenho muscular e resistência à fadiga beneficiariam os atletas durante a reabilitação e recuperação de lesões, quando a hipotrofia muscular e fraqueza podem comprometer a função. Se a fototerapia é considerada como instrumento benéfico no processo de reabilitação e de recuperação pós-exercício, pode melhorar os resultados clínicos e a qualidade global dos cuidados de saúde para atletas lesionados.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar a influência do LBI no desempenho muscular do quadríceps femoral antes e após o protocolo de fadiga induzida.

3.2. Objetivos específicos

- Implementar um protocolo, de baixo custo e fácil aplicabilidade, de indução e avaliação da fadiga muscular de MMII em atletas profissionais de futebol.
- Verificar a diferença entre a aplicação do LBI prévia e posteriormente à fadiga muscular, quanto ao número de contrações, tempo de início da fadiga e carga máxima tolerada.
- Avaliar os níveis séricos de lactato e CK antes e após a aplicação do LBI.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Participantes

Realizamos um estudo randomizado, duplo-cego e placebo-controlado, sendo submetido à análise e aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) n.º 180.271 (Anexo A). Antes do início do experimento, todos os voluntários foram esclarecidos sobre os procedimentos de pesquisa, com assinatura de Termo de Consentimento Livre e Informado segundo as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos constantes da Resolução do Conselho Nacional de Saúde de nº. 196/1996.

Todos os voluntários foram recrutados da equipe profissional de futebol do Centro Esportivo Nova Esperança (CENE-MS) de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Utilizamos como critérios de inclusão: sexo masculino e jogador de futebol profissional; ter praticado futebol por pelo menos quatro anos e realizado treinamentos por pelo menos cinco dias na semana e idade entre 15 e 30 anos. Como critérios de exclusão: qualquer lesão musculoesquelética prévia para as regiões de joelho, quadril ou tornozelo; participação inferior a 80% dos treinamentos físicos regulares do time de futebol; utilização de qualquer tipo de suplemento nutricional ou farmacológico e que apresente contra-indicação à utilização do laser de baixa potência.

A coleta de dados foi realizada no Centro Especializado em Fisioterapia Esportiva (CEFE) situado na Clínica Orthos (Rua Oceano Atlântico, 294, Chácara Cachoeira), em Campo Grande, MS, no mês de fevereiro de 2013.

4.2 Procedimento de randomização

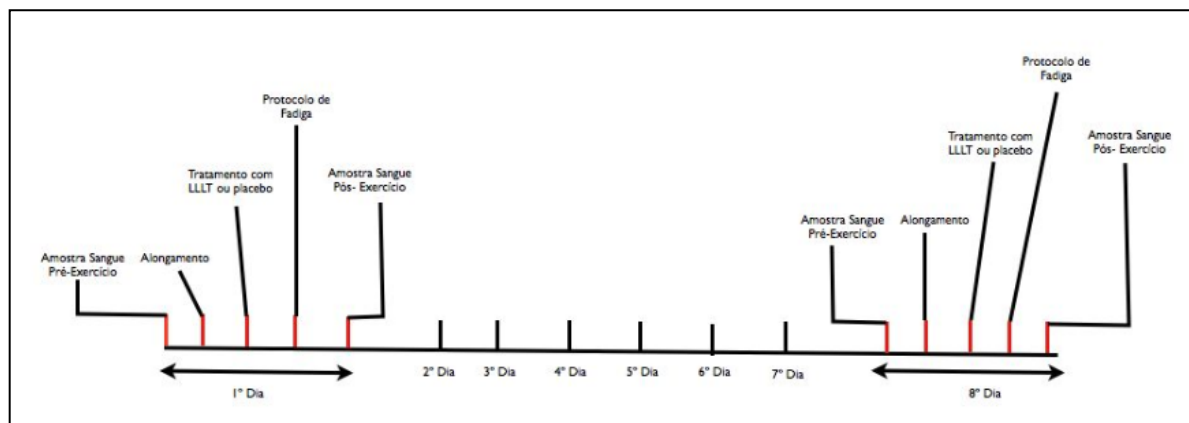
A randomização foi realizada por um desenho simples de lotes (A ou B), que determinou se os participantes deveriam receber a LBI ativa ou na forma placebo na primeira sessão. O procedimento de randomização foi realizado por um assistente não envolvido com o experimento. Um código de alocação foi entregue a um técnico que definiu a unidade de controle do laser para o modo ativo ou placebo.

Após essa etapa, o técnico entregou o laser pré-definido ao terapeuta. O técnico foi instruído a não comunicar o tipo de tratamento dado a ambos os voluntários ou terapeutas. Desta forma, a alocação dos tratamentos foi oculta dos voluntários, terapeutas e observadores.

4.3 Grupos experimentais

Os 27 voluntários foram aleatoriamente alocados em três grupos (n=9) da seguinte forma:

- a) grupo A (Placebo) - composto de nove voluntários submetidos ao exame de coleta de sangue (pré-exercício), protocolo de fadiga, aplicação da LBI placebo e coleta de sangue (pós-exercício);
- b) grupo B (Laser Pré-Fadiga) - composto de nove voluntários submetidos ao exame de coleta de sangue (pré-exercício), aplicação da LBI, protocolo de fadiga (imediatamente após o LBI) e coleta de sangue (cinco minutos após exercício) (Figura 3);
- c) grupo C (Laser Pós-Fadiga) - composto de nove voluntários submetidos ao exame de coleta de sangue (pré-exercício), protocolo de fadiga, aplicação da LBI (imediatamente após a fadiga) e coleta de sangue (cinco minutos



após exercício) (Figura 4).

Figura 3 - Linha de tempo referente ao período de avaliação dos grupos A e B.

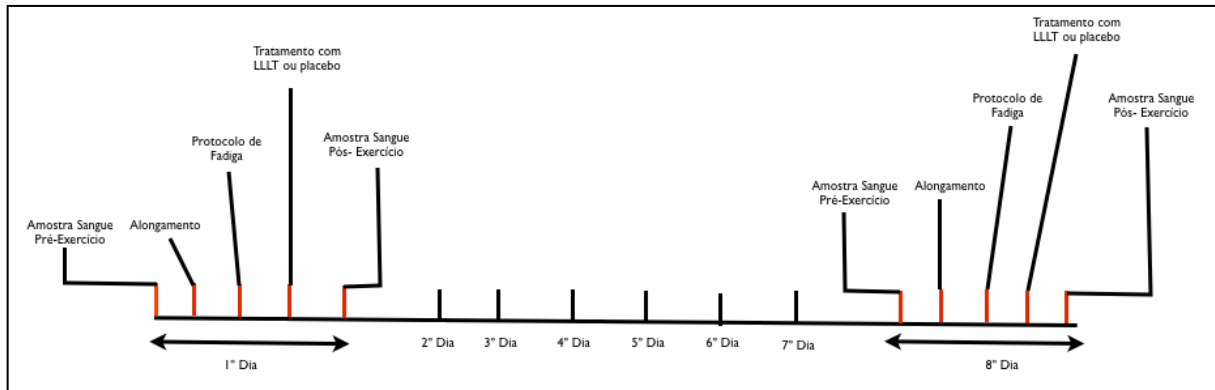


Figura 4 - Linha do tempo referente ao período de avaliação do grupo C.

4.4 Instrumentação

Em ambas as sessões (dias 1º e 8), os voluntários receberam o tratamento com laser de baixa intensidade. Foi utilizado o laser arsenieto de gálio e alumínio (GaAlAs) DMC® modelo (Protótipo) Photon Laser III (Figura 5), com seis diodos (830 nm) dispostos obliquamente com 60 mW cada, operando em modo contínuo com os seguintes parâmetros: área do feixe de $0,0028 \text{ cm}^2$; energia por ponto (diodo) 0,6 J; energia total por sessão em cada membro inferior de 25,2 J (total de 50,4 J); 42 pontos de aplicação (total de 84 pontos); densidade de energia (fluência) $214,28 \text{ J/cm}^2$; densidade de potência $21,42 \text{ W/cm}^2$ e tempo de aplicação em cada membro inferior de 70 segundos (total de 140 segundos para os dois membros inferiores).



Figura 5 - Laser arsenieto de gálio e alumínio (GaAlAs) (Protótipo) DMC® modelo Photon Laser III.

O ventre do músculo quadríceps femoral foi utilizado para a irradiação. Inicialmente, demarcamos uma área 10 cm abaixo da espinha ilíaca anterossuperior e as outras seis demarcações foram padronizadas 5 cm abaixo das marcas iniciais (Figura 6). A irradiação foi realizada em contato direto com a pele, e a caneta do laser foi mantida estacionária sob ligeira pressão a um ângulo de 90° com a superfície da pele.



Figura 6 - Pontos de aplicação do laser de baixa intensidade (LBI) no músculo quadríceps femoral.

4.5 Protocolo experimental

4.5.1 Período de avaliação

Os protocolos de exercícios foram executados de forma padronizada. Os voluntários realizaram os exercícios na posição sentada padrão e no mesmo horário do dia (para respeitar o ritmo circadiano). Os exercícios e as coletas foram realizados em duas sessões (dias 1º e 8), no mesmo dia da semana (segunda-feira) durante o mesmo período do dia (8h30-11h30). Qualquer atividade física extenuante não foi permitida durante o fim de semana antes do teste.

4.5.2 Protocolo de fadiga

Na primeira sessão (dia 1º) e segunda sessão (dia 8) do estudo, as mensurações de lactato e CK basal foram obtidas para cada voluntário. Imediatamente após isso, todos os 27 voluntários foram submetidos a uma série de exercícios de alongamento ativo do tipo elástico (apenas com finalidade de melhorar a vascularização do tecido muscular), envolvendo todos os principais músculos dos membros inferiores (duas séries de 60 segundos para cada grupo muscular).

Em seguida, cada voluntário foi posicionado na cadeira extensora com o joelho e o quadril flexionados a 90°. Usando a carga de peso livre da cadeira extensora, cada voluntário realizou um teste de carga máxima (1 RM) e, após a escolha dessa carga, os voluntários foram instruídos a realizar a extensão completa dos joelhos (90° a 0°) (= 75% da carga máxima) até não conseguirem completar a extensão completa do joelho (0°), indicando a fadiga muscular do quadríceps. Um goniômetro foi conectado à cadeira extensora para medir o ângulo de extensão. O número de repetições realizadas no teste de exercício fadiga foi contado por um observador, e o tempo total para completar o esforço foi medido por um segundo observador. Os dois observadores foram cegados para a alocação dos participantes dos grupos (A, B ou C). As repetições começaram na posição de flexão do joelho (90°) para a extensão máxima (0°).

4.5.3 Amostras de sangue e análise da creatina quinase (CK)

Para mensurar os níveis séricos de CK, foram coletadas amostras de sangue após limpeza asséptica do lado ventral do braço dominante. Todos os procedimentos de coleta de sangue foram realizados por enfermeiro qualificado (que desconhecia a qual grupo pertencia cada voluntário). As amostras foram coletadas antes e após (cinco minutos) o protocolo de fadiga. A análise de sangue foi realizada utilizando a espectrofotometria no infravermelho em laboratório.

4.5.4 Amostras de sangue e análise da concentração de lactato

As amostras de sangue para análise do lactato foram coletadas após limpeza asséptica do segundo dedo do braço dominante. As amostras foram coletadas antes do protocolo de fadiga e 5, 10 e 15 minutos após o término. Foram utilizadas lancetas Accu-Check macias (Clix[®]) para a coleta e as amostras foram analisadas imediatamente utilizando o analisador portátil de lactato (Accutrend[®] Plus) (Figura 7).



Figura 7 - Analisador portátil de lactato (Accutrend[®]).

4.6 Análise estatística

As medidas das variáveis foram expressas em média $\pm$ desvio-padrão. Os resultados foram tabulados de maneira a se observar a disposição dos valores quantificados das variáveis analisadas entre os diversos grupos estudados. As análises intergrupos foram feitas por meio de análise de variância (ANOVA) com post hoc test de Bonferroni nas distribuições normais e Kruskal-Wallis, com post hoc test de Dunn nas distribuições não normais. A verificação de normalidade foi feita pelo teste de Shapiro Wilk. Consideraram-se como estatisticamente significativas as comparações com $p \leq 0,05$. Para tabulação dos dados foi utilizado o software Microsoft Office Excel 2010 e a análise estatística foi realizada com o programa GraphPad Prism 5,0.

5. RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os dados (idade, altura e peso) da amostra estudada, com dados não significativos, demonstrando homogeneidade da amostra. Não houve diferença significativa na avaliação intergrupos para o número de repetições nos diferentes períodos de avaliação (dias 1º e 8). Pode-se observar aumento do número de repetições (dia 8) do grupo Laser Pós-Fadiga quando se compara com o grupo Placebo, porém sem diferença significativa.

Tabela 1 - Comparação (ANOVA) entre as médias ($\pm$ desvio-padrão) dos valores de idade, altura e peso dos voluntários estudados, Campo Grande - 2013 (n = 27)

	Placebo	Laser Pré-Fadiga	Laser Pós-Fadiga	p
Idade (anos)	26,7 $\pm$ 11	19,6 $\pm$ 1,4	21,7 $\pm$ 8	0,2259
Altura (m)	1,77 $\pm$ 0,09	1,75 $\pm$ 0,09	1,76 $\pm$ 0,05	0,9177
Peso (kg)	76,2 $\pm$ 9,9	67,0 $\pm$ 7,6	71,9 $\pm$ 8,4	0,0992

Em relação ao tempo de fadiga, não houve diferença significativa entre os grupos avaliados nos diferentes períodos (dias 1º e 8), observando-se valores muito próximos entre os grupos. Da mesma forma, não se nota diferença significativa na variável RM 75% entre os três grupos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores de média $\pm$ desvio-padrão dos valores de número de repetições, tempo e RM 75% para os grupos estudados nos diversos momentos avaliados, Campo Grande, 2013 (N = 27)

PRIMEIRA SEMANA				
	Placebo	Laser Pré-Fadiga	Laser Pós-Fadiga	p
Número de repetições	39,9 $\pm$ 17,1	31,0 $\pm$ 11,2	28,7 $\pm$ 8,9	0,1704*
Tempo (s)	41,1 $\pm$ 14,7	36,0 $\pm$ 9,2	34,2 $\pm$ 7,9	0,3996*
RM 75%	40,0 $\pm$ 10,3	40,6 $\pm$ 10,7	39,1 $\pm$ 11,3	0,9764*
SEGUNDA SEMANA				

	Placebo	Laser Pré-Fadiga	Laser Pós-Fadiga	p
Número de repetições	41,2±18,2	37,8±13,1	41,6±17,4	0,8965*
Tempo (s)	40,4±14,8	37,4±9,6	37,8±10,6	0,8424*
RM 75%	41,7±9,7	41,7±13,7	42,2±6,7	0,9915**

*ANOVA; ** Kruskal-Wallis

Pode-se observar redução significativa nos níveis séricos de lactato (Figura 8) na avaliação intergrupos em relação ao grupo Laser Pós-Fadiga com 10 e 15 minutos quando comparado com o grupo Placebo ($p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente) na primeira sessão (dia 1º).

Nota-se também redução do lactato aos 15 minutos entre o grupo Laser Pós-Fadiga quando comparado com o grupo Placebo (Figura 9). Existe uma tendência na redução do lactato para o grupo Laser Pré-Fadiga aos 10 e 15 minutos, porém sem diferença significativa.

Na avaliação intragrupos, observa-se (Figuras 10 e 11) aumento súbito da concentração de lactato no grupo Placebo com cinco minutos de pós-exercício, e essa concentração elevada de lactato perdurou por dez minutos ($p < 0,05$) e se manteve elevada com 15 minutos após o exercício na primeira (dia 1º) e segunda (dia 8) sessão.

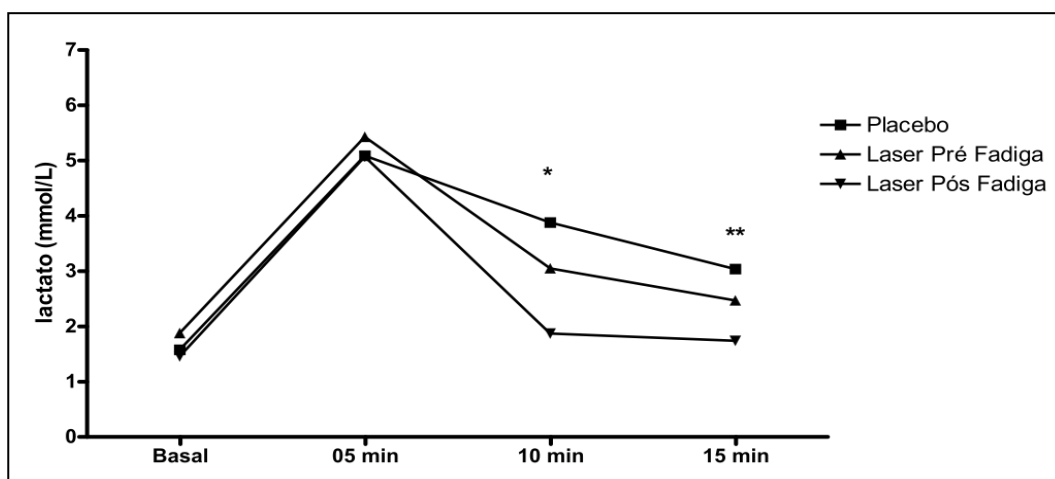


Figura 8 - Evolução dos valores de lactato para os Grupos na primeira avaliação conforme o tempo de análise ("□" Kruskal-Wallis, $p = 0,0111$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,01$; "□□" ANOVA, $p = 0,0150$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,05$).

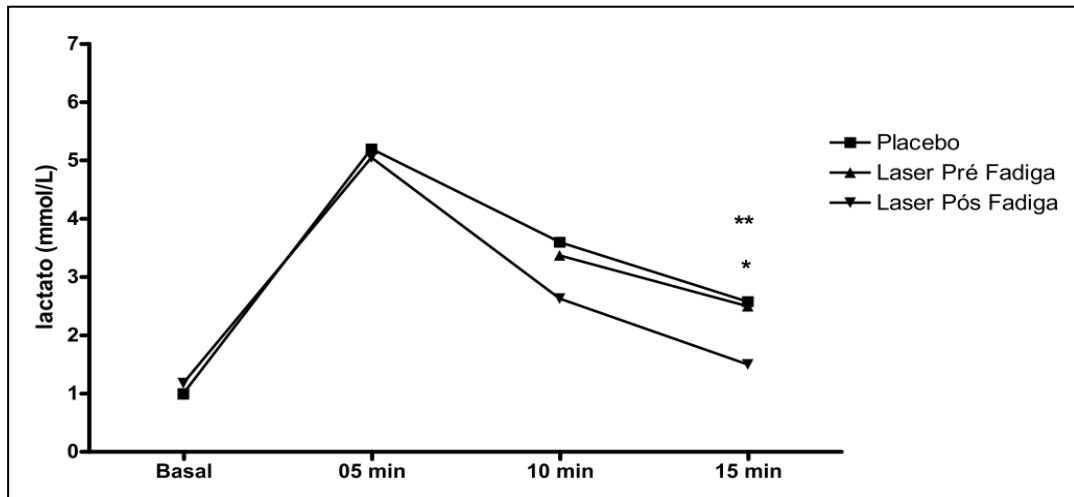


Figura 9 - Evolução dos valores de lactato para os Grupos na segunda avaliação conforme o tempo de análise ("□" ANOVA, $p = 0,0037$: Placebo versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,01$, "□□" Laser Pré Fadiga versus Laser Pós Fadiga: $p < 0,05$).

Na avaliação intragrupos para o grupo Laser Pré-Fadiga, pode-se observar que na primeira sessão (dia 1º), houve redução significativa na concentração de lactato com 15 minutos.

Na segunda sessão (dia 8), houve redução significativa na concentração de lactato após 10 e 15 minutos quando comparado com os valores de lactato aos cinco minutos depois da fadiga muscular (Figuras 12 e 13).

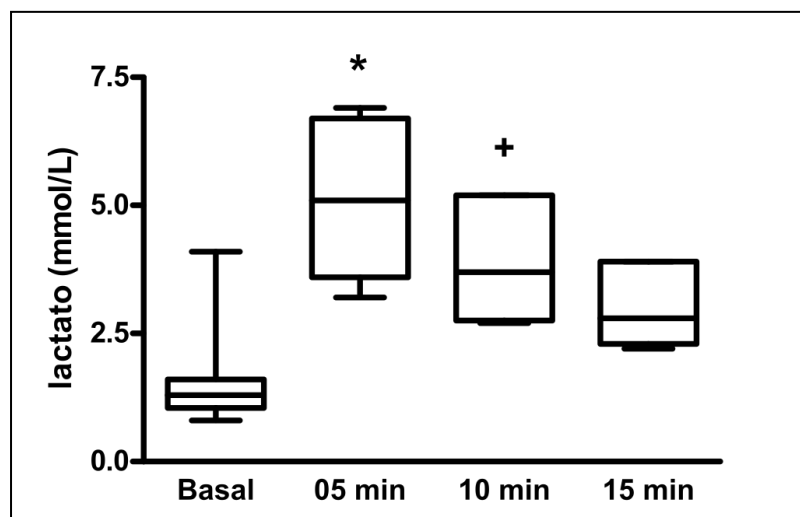


Figura 10 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Placebo entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (Kruskal-Wallis; $p = 0.0009$; "□" Basal versus 5 minutos: $p < 0,001$, "+" Basal versus 10 minutos: $p < 0,05$)

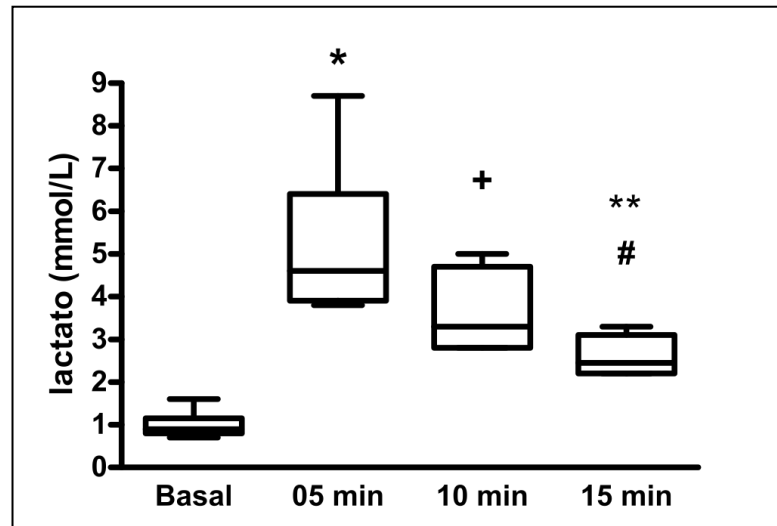


Figura 11 -Comparação dos valores de lactato para o grupo Placebo entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p<0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p<0,001$, “+” Basal versus 10 minutos: $p<0,001$, “#” Basal versus 15 minutos: $p<0,05$, “□□” 5 minutos versus 15 minutos: $p<0,001$).

Já as concentrações de lactato, na avaliação intragrupos, para o grupo Laser Pós-Fadiga demonstraram redução significativa aos 10 ($p<0,01$) e 15 ($p<0,001$) minutos para a primeira sessão (dia 1º) (Figura 14) e aos 10 ($p<0,01$) e 15 ($p<0,001$) minutos para a segunda sessão (dia 8) (Figura 15).

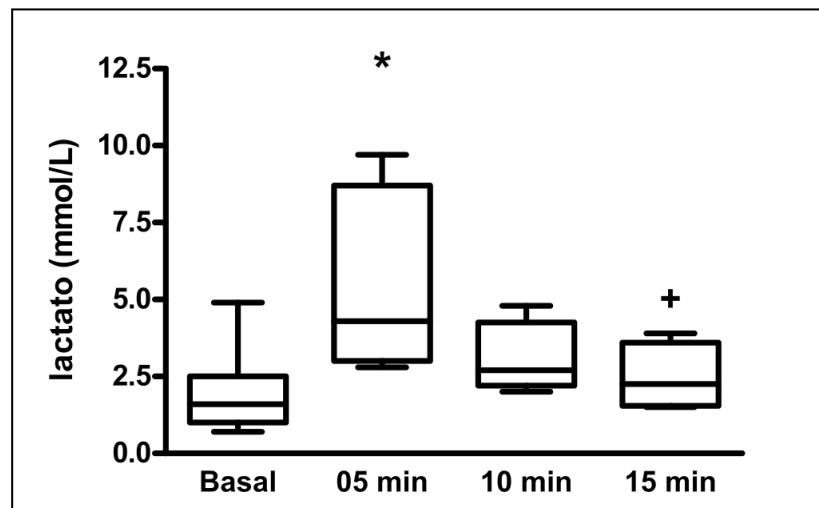


Figura 12 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pré Fadiga entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (ANOVA; $p = 0.0041$; “□” Basal versus 5 minutos: $p<0,01$, “+” 5 minutos versus 15 minutos: $p<0,05$).

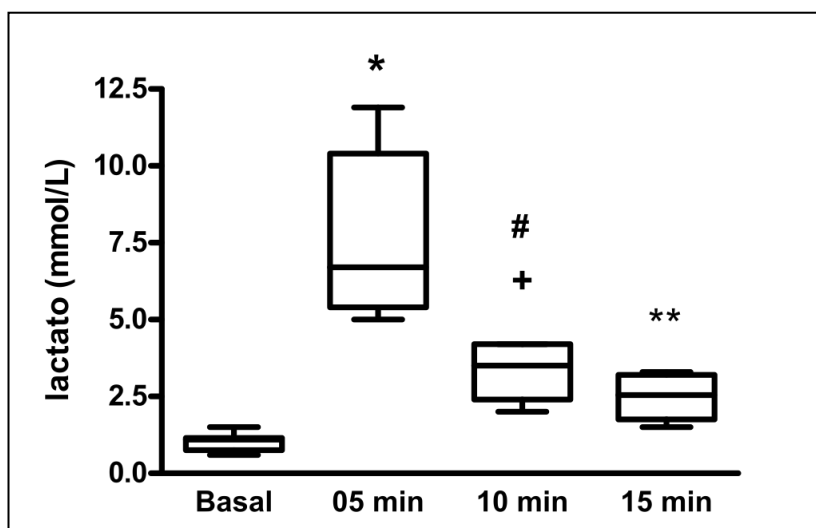


Figura 13 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pré Fadiga entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p < 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0.001$, “+” Basal versus 10 minutos: $p < 0.05$, “#” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0.001$, “□□” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0.001$).

Em relação aos níveis séricos de CK, todos os valores estão dispostos na Tabela 3.

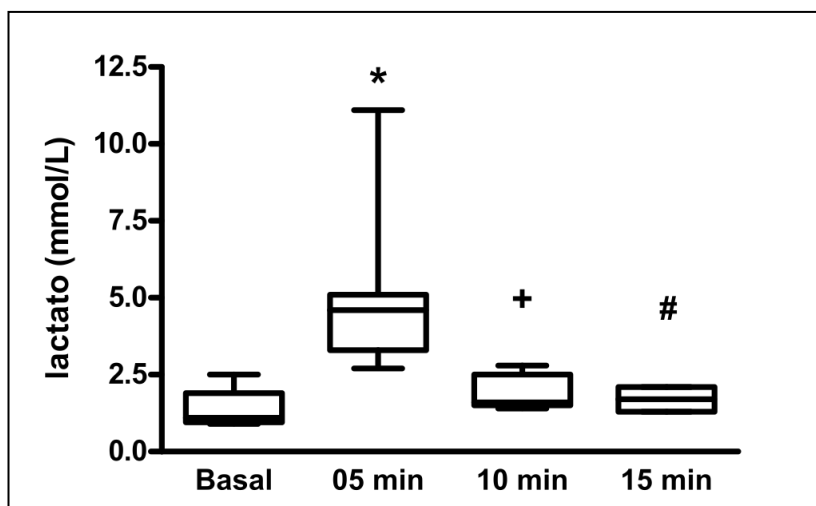


Figura 14 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pós Fadiga entre os diversos momentos avaliados na primeira semana (ANOVA; $p = 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0.001$, “+” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0.01$, “#” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0.001$).

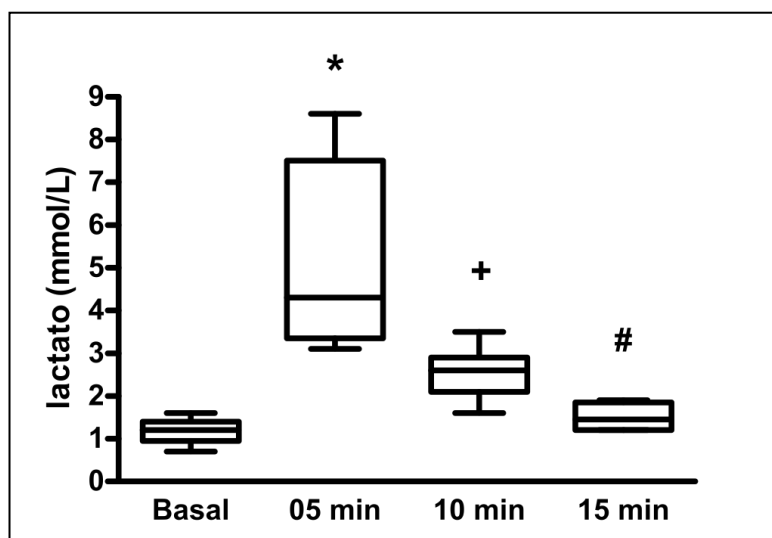


Figura 15 - Comparação dos valores de lactato para o grupo Laser Pós Fadiga entre os diversos momentos avaliados na segunda semana (ANOVA; $p < 0.0001$; “□” Basal versus 5 minutos: $p < 0.001$, “+” 5 minutos versus 10 minutos: $p < 0.01$, “#” 5 minutos versus 15 minutos: $p < 0.001$).

Considerando os níveis séricos de CK, a análise intergrupo evidenciou redução significativa de sua concentração nos voluntários do grupo Laser Pós-Fadiga na segunda sessão (Dia 8) (Figura 16) quando comparado com o grupo Placebo ($p < 0.01$) e grupo Laser Pré-Fadiga ($p < 0.05$).

Tabela 3. Valores de média $\pm$ desvio padrão dos valores de creatina quinase para os grupos estudados nos diversos momentos avaliados, Campo Grande, 2013 (N = 27)

	Primeira semana		Segunda semana	
	Basal	Pós Exercício	Basal	Pós Exercício
Placebo	297,0 $\pm$ 182,4	314,0 $\pm$ 195,7	420,4 $\pm$ 333,4	414,2 $\pm$ 320,4
Laser Pré Fadiga	239,4 $\pm$ 53,3	248,2 $\pm$ 52,9	205,9 $\pm$ 95,6	217,3 $\pm$ 94,6
Laser Pós Fadiga	234,6 $\pm$ 141,3	238,8 $\pm$ 142,8	289,0 $\pm$ 228,8	106,5 $\pm$ 65,2

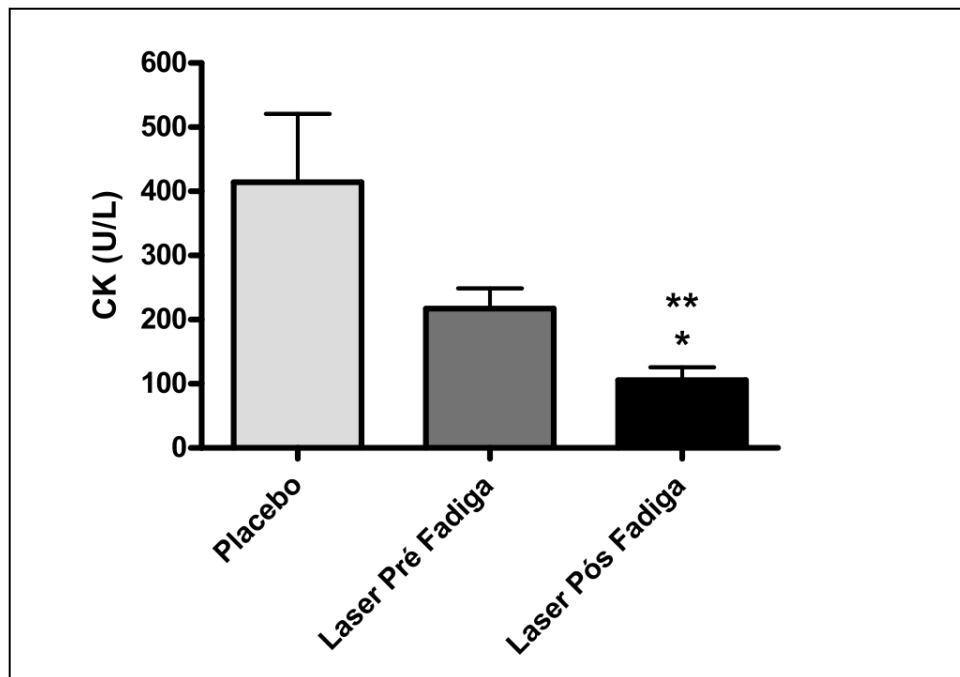


Figura 16. Comparação dos valores de creatina quinase pós-exercício entre os diversos grupos na segunda semana (Kruskal-Wallis; $p = 0.004$)

* Laser Pré-Fadiga versus Laser Pós-Fadiga $p < 0,05$

** Placebo versus Laser Pós-Fadiga $p < 0,01$

6. DISCUSSÃO

O LBI é atualmente uma das modalidades bioestimulantes mais utilizadas na reabilitação. Porém, ainda são escassas as evidências científicas e clínicas e na maioria das vezes contraditórias (BORSA; LARKIN; TRUE, 2013), justificando a necessidade e importância da realização de pesquisas envolvendo esse recurso fisioterapêutico (VIEIRA et al. 2006).

Na literatura são encontradas diversas pesquisas em animais (LOPES-MARTINS et al. 2006; SUSSAI et al. 2010) e humanos (LEAL JUNIOR et al. 2010; FERRARESI et al. 2011), demonstrando efeitos positivos da LBI sobre doenças inflamatórias na fase aguda e na fase crônica (HUANG et al. 2009). No entanto, a fadiga muscular e a recuperação pós-exercício são novas áreas de pesquisa em estudos de LBI e poucos têm sido realizados sobre esse assunto. Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a comparar os efeitos do LBI aplicado antes e após o exercício.

Essa problemática já foi investigada em animais de experimentação (LOPES-MARTINS et al. 2006; SUSSAI et al. 2010), cujos resultados sugerem aumento da capacidade aeróbia por meio da análise de lactacidemia e atividade enzimática quando submetidos à aplicação do LBI.

Lopes-Martins et al. (2006) investigaram os efeitos da estimulação com LBI previamente e a fadiga muscular induzida por eletroestimulação e contração tetânica em 32 ratos Wistar. Esses animais foram distribuídos em quatro grupos e receberam diferentes doses (0,5, 1,0 e 2,5 J/cm²) e controle (sem tratamento). Pode-se observar, por meio de avaliação dos níveis séricos de CK, que as doses de 0,5 e 1 J/cm² foram efetivas para a prevenção da fadiga muscular, reduzindo os níveis de CK.

Já Sussai et al. (2010) avaliaram 20 ratos Wistar alocados em dois grupos (controle e laser), submetidos a programa de fadiga na água. Observaram-se melhores resultados na redução dos níveis de CK em 24 horas e 48 horas no grupo que sofreu aplicação do laser após a fadiga. Para tanto, foi utilizado o laser índio gálio, alumínio e fósforo (InGaAlP) com 660 nm, 133,3 J/cm² e 100 mW de potência.

O laser é um recurso com capacidade de interação com tecidos biológicos, podendo desencadear efeitos bioenergéticos e proliferativos celulares e moleculares, cujos fotorreceptores primários estão localizados na cadeia respiratória

mitocondrial (KARU, 1989). Dessa forma, tem sido descrito que essa modalidade terapêutica pode proporcionar aumentos na taxa respiratória mitocondrial e na síntese de ATP (BAKEEVA et al. 1993; MANTEIFEL; BAKEEVA; KARU, 1997; KARU, 1987). Porém, notam-se divergências na literatura a respeito de quando aplicar o LBI, antes ou após a fadiga muscular. Existe relatos (FERRARESI et al. 2011) de que os efeitos sobre a bioenergética são mais pronunciados quando o tecido é submetido a um estresse oxidativo, uma vez que os receptores se tornam mais responsivos. Por outro lado, estudos feitos com animais (AVNI et al. 2005; RIZZI et al. 2006) indicaram que, por mecanismos locais, o LBI pode prevenir lesões musculares isquêmicas ao reduzir a atividade da CK e a liberação de ROS, enquanto aumenta os níveis de antioxidantes e proteínas de choque térmico.

No presente estudo, realizou-se a comparação intergrupos (Placebo, Laser Pré-Fadiga e Laser Pós-Fadiga) com o intuito de elucidar quando seria melhor aplicar essa terapia, antes ou após a fadiga. Pode-se observar que houve redução nos níveis séricos de CK e lactato em ambos os grupos, porém com maior significância no grupo Laser Pós-Fadiga quando comparados com o grupo Placebo.

Em relação aos parâmetros ideais de aplicação (tais como potência, tempo de irradiação, doses e outros) observa-se mais discordância. Os estudos avaliados (LEAL-JUNIOR et al. 2008; LEAL-JUNIOR et al. 2009a; FERRARESI et al. 2011) não permitem uma conclusão sobre os parâmetros ideais de aplicação para reduzir ou retardar a fadiga muscular, deixando uma lacuna de qual seria a melhor “janela terapêutica” para evitar a fadiga muscular.

A respeito do comprimento de onda, o primeiro ponto importante é que a irradiação com infravermelho (904 nm) exibiu respostas similares às doses com vermelho (655 nm). Esse achado correlaciona-se bem com os resultados anteriores de estudos *in vivo* (ALBERTINI et al. 2007) e humanos (BJORDAL; LOPES-MARTINS; IVERSEN, 2006), sugerindo que os efeitos anti-inflamatórios do laser não são comprimentos de onda dependentes. Existe uma sugestão para utilizar comprimentos de onda maiores (808, 830, 904 nm) em virtude da maior profundidade de penetração e absorção dos fótons emitidos pelo laser (LEAL JUNIOR et al. 2010). No presente estudo, optamos por utilizar o comprimento de onda de 830 nm por se tratar de estimulação de musculatura do quadríceps (profunda), pois comprimentos de onda maiores poderiam ser mais bem-absorvidos.

Houve um cuidado em se padronizar a avaliação e execução do protocolo de fadiga. Os exercícios foram executados em condições padronizadas e no mesmo horário do dia para respeitar o ritmo circadiano. O desempenho e avaliação dos exercícios de fadiga também foram realizados em duas sessões (dia 1º e dia 8) e no mesmo dia da semana, para evitar o efeito cumulativo e sistêmico do laser e evitar também que os voluntários adaptassem com os exercícios e desta forma influenciar na execução deles.

Alguns autores que investigaram o desempenho muscular de homens submetidos a exercícios físicos associados com LBI não encontraram melhoras significativas (LEAL JUNIOR et al. 2009a; GORGEY; WADEE; SOBHI, 2008). Contudo, outras pesquisas com metodologias similares encontraram resultados altamente relevantes para a redução da fadiga e melhora do desempenho muscular (LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2008). Uma vez que a fluência, o número de pontos de aplicação e da energia total fornecida ao músculo em estudos anteriores (LEAL JUNIOR et al., 2009a; LEAL JUNIOR et al., 2009b; GORGEY; WADEE; SOHBI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2008) têm diferido, decidimos utilizar uma energia total semelhante ao utilizado no estudo de Leal-Junior et al. (2009a), que foi de 40J, pois evidenciou melhora efetiva do desempenho muscular. De modo que a fluência utilizada foi menor ($214,28 \text{ J/cm}^2$ vs $1428,57 \text{ J/cm}^2$) e o número total de pontos de aplicação foi maior (84 pontos vs 10 pontos) para obter a melhor distribuição de energia no músculo quadríceps da coxa (Figura 1).

Uma das formas de se avaliar a melhora do desempenho muscular dos voluntários no presente estudo foi a contagem do número de contrações, o tempo de fadiga e a carga máxima (75%) tolerada. Porém, nenhuma dessas variáveis apresentou diferenças significativas entre os grupos avaliados, mas houve uma tendência de melhores respostas nas três variáveis supracitadas nos grupos submetidos à irradiação com laser (antes e após protocolo de fadiga).

Outros métodos de avaliação utilizados no presente estudo analisaram a cinética de marcadores biomecânicos da fadiga (lactato) e lesão muscular (CK). O estudo randomizado, duplo-cego e placebo-controlado, apresentou níveis significativamente mais baixos desses marcadores, indicando uma redução da fadiga induzida por exercício. Sugere-se que a melhora do desempenho físico fornecido pela ação do LBI foi resultado da menor atividade da CK, com aumento dos níveis de antioxidantes e melhora da microcirculação e remoção de lactato.

Na avaliação intergrupo do marcador lactato, nota-se aumento (esperado) com cinco minutos pós-exercício para todos os grupos e redução significativa para o grupo Laser Pós-Fadiga com 10 e 15 minutos. Analisando o grupo Laser Pré-Fadiga, observa-se uma queda na concentração de lactato sérico com 10 e 15 minutos, porém sem valores significativos na primeira e segunda sessão (dias 1º e 8), demonstrando que a aplicação do laser após a fadiga é mais eficaz na remoção do lactato sanguíneo.

Se avaliarmos o lactato intragrupo, observamos valores no grupo Placebo extremamente elevados com 10 e 15 minutos após a execução dos exercícios. Nota-se também redução do lactato com 10 e 15 minutos para o grupo Laser Pré-Fadiga na segunda sessão (dia 8) e Laser Pós-Fadiga em ambas as sessões (dia 1º e 8).

Os níveis de lactato no sangue mostraram reduções consistentes e significativas para todos os grupos irradiados. O lactato sérico não foi mensurado em estudos anteriores com animais, tal como o estudo de Lopes-Martins et al.⁴⁹ que utilizaram um laser de 655 nm. No entanto, foram observados pequenos efeitos na redução do lactato nos estudos de Leal Junior et al. (2009c) e Leal Junior et al. (2009d) ao utilizarem dois LEDs de 810 e 660 nm, justificando uma leve inibição no aumento dos níveis de lactato sanguíneo após exercícios exaustivos.

O papel das mensurações de lactato no desenvolvimento da fadiga do músculo esquelético é controverso. No entanto, uma acidez na ligação excitação-contração pode causar prejuízo na transmissão neuromuscular e, conseqüentemente, na capacidade de os músculos se contraírem. Alguns estudos (CHIN; ALLEN, 1998) têm indicado que o aumento na concentração de H^+ inibe a ligação de Ca^{+2} à troponina e pode afetar a interação entre as proteínas contráteis.

A inibição do aumento esperado dos níveis de lactato no sangue após contrações em todos os grupos irradiados pode ser causada por vários fatores. Tendo a melhora na microcirculação um possível efeito da irradiação com laser (TULLBERG; ALSTERGREN; ERNBERG, 2003). Outro mecanismo possível para os efeitos de redução do lactato pela irradiação com laser pode estar relacionado com a prevenção da isquemia do músculo de âmbito celular.

Aumentos na atividade de CK em concentração sérica após exercícios são considerados um marcador precoce de lesões musculares e têm sido utilizados para evitar o overtraining (HOUMARD et al. 1990).

Em nosso estudo, pode-se observar redução nos níveis de CK para os grupos Laser Pré-Fadiga e Laser Pós-Fadiga, porém com redução significativa apenas para o grupo Laser Pós-Fadiga na segunda sessão (dia 8). A diminuição da atividade de CK após LBI ativo pode estar relacionada com um efeito de laser-protector no desenvolvimento de isquemia muscular. Também, reduzindo a liberação de ROS e atividade creatino-fosfoquinase, enquanto os níveis de antioxidantes e de proteínas de choque térmico aumentam (AVNI et al. 2005; RIZZI et al. 2006). Esses resultados são interessantes, uma vez que, conforme descrito por Ortenbland; Stephenson (2003), um músculo exercitado intensamente sob as condições anaeróbias iria gerar grandes quantidades de ROS, levando a sua despolarização e reduzindo sua força.

Estudos anteriores (KARU, 2008; SILVEIRA et al. 2009) também demonstraram que o LBI pode estimular a cadeia respiratória mitocondrial e síntese de ATP. Tais efeitos podem, por sua vez, contribuir para a diminuição da atividade de CK, bem como o atraso no desenvolvimento de fadiga visto no presente estudo.

Somando-se as hipóteses anteriores, o presente estudo investigou mais três possíveis mecanismos fisiológicos para a melhora no desempenho físico em seres humanos quando o exercício está associado com LBI, estando tudo baseado na importância da mitocôndria celular na produção de energia.

Há forte evidência na literatura científica (BAKEEVA et al. 1993; MANTEIFEL; KARU, 2005) de que LBI tem uma relação estreita com a mitocôndria, promovendo o seu crescimento e/ou fusão de mitocôndrias menores para formar as mitocôndrias gigantes, consequentemente aumentando a densidade mitocondrial nos tecidos. Mitocôndrias maiores têm sido associadas a altas maquinarias para a produção de ATP aeróbico (BAKEEVA et al. 1993; MANTEIFEL; KARU, 2005). Embora essas organelas desempenhem papel fundamental na produção de energia necessária em treinamentos de resistência e exercícios de baixa intensidade (TONKONOGI et al. 2000; TONKONOGI ; SAHLIN, 2002; SAHLIN et al. 2007), podem também contribuir para maior disponibilidade de energia em exercícios de alta intensidade, tal como o investigado neste estudo. Isto está baseado na curva de recrutamento hierárquico das fibras musculares. Verificou-se que com o aumento na intensidade do exercício, o recrutamento das fibras musculares resulta necessariamente na seguinte ordem: tipo I (oxidativa), tipo II (glicolítica e oxidativa) e, finalmente, tipo IIx (glicolítica) (HODSON-TOLE; WAKELING, 2009). Portanto, a produção de energia aeróbica

(oxidativo) é complementada pela produção de energia anaeróbia (glicolítica) quando o exercício se torna mais intenso (GOREHAN et al. 1999).

A segunda hipótese para a melhora do desempenho muscular nos voluntários que foram submetidos ao laser ativo é a integração entre a produção de ATP aeróbio e anaeróbio descrito por Tonkonogi; Sahlin (2002). Esse mecanismo envolve a ressíntese de fosfocreatina, dependente da creatina mitocondrial presente em grandes quantidades nas fibras musculares com características oxidativas. O sistema de transporte da creatina captura ADP e fósforo inorgânico que resultaram da utilização de ATP na contração muscular, e os transporta para a matriz mitocondrial por meio da membrana interior e da organela translocase nucleótido de adenina. O ATP produzido pela fosforilação oxidativa faz o mesmo percurso, porém no sentido contrário, o fornecimento de energia para a reação de ressíntese de fosfocreatina no músculo ativo. Essa reação é catalisada pela CK muscular. Ao mesmo tempo, a utilização de fosfocreatina gera creatina muscular, ADP e fósforo inorgânico. Enquanto o fósforo inorgânico e ADP seguem o caminho acima referido, a creatina é transportada para os espaços intermembranas mitocondriais do músculo e, em seguida, CK mitocondrial catalisa a reação de ressíntese de fosfocreatina, também usando ATP produzido por meio de fosforilação oxidativa. Em última análise, a fosfocreatina é transportada para o local de contração muscular, fornece a energia necessária para continuar a atividade contrátil e aumenta a relação ATP/ADP (TONKONOIGI; SAHLIN; 2002).

Ao considerar os efeitos do LBI sobre as mitocôndrias, e quanto maior for a densidade mitocondrial e/ou a maquinaria enzimática para a produção de ATP (BAKEEVA et al. 1993; MANTEIFEL; KARU, 2005), uma maior ressíntese de fosfocreatina possivelmente deve ocorrer. A ressíntese de fosfocreatina, que ocorre principalmente em intervalos de descanso durante os exercícios de alta intensidade, seria capaz de fornecer uma parte da energia necessária para a próxima série de contrações musculares, fornecendo a ressíntese do ATP utilizado durante a sessão de treino de fadiga em cadeia cinética aberta ou fechada.

A terceira hipótese para a melhora do desempenho muscular em indivíduos submetidos ao laser ativo é a remoção e a oxidação do ácido láctico produzido anaerobicamente durante o exercício, porque a acidose metabólica pode provocar fadiga muscular (BROOKS et al. 1999; HASHIMOTO; HUSSEIN; BROOKS, 2006). A formação de ácido láctico no citosol das fibras musculares é por causa da redução

do piruvato em lactato, sendo catalisada pela lactato desidrogenase citosólica (LDH), e ocorre principalmente em exercícios anaeróbios e de força. Em seguida, o lactato é transportado para a matriz mitocondrial por transportadores de ácidos monocarboxílicos e, por meio do NAD^+ e lactato desidrogenase mitocondrial, é oxidada a piruvato. A NAD reduzida (NADH) é oxidada na cadeia de transporte de elétrons e fornece os elétrons e os prótons necessários para a produção aeróbica de ATP. O piruvato, por sua vez, é oxidado em acetilcolinesterase (acetil-CoA) e, no ciclo de Krebs, que continua a ser oxidado para produzir o ATP aerobicamente por meio da cadeia de transporte de elétrons (BROOKS et al. 1999; HASHIMOTO; HUSSEIN; BROOKS, 2006).

O presente estudo apresentou algumas limitações, tais como: a parte química do sangue não foi avaliada (respostas imunológicas e inflamatórias), bem como as enzimas metabólicas (LDH). Outra limitação é que possíveis aumentos na temperatura do corpo, principalmente do quadríceps femoral e todo o membro inferior, após a terapia a laser não foram avaliados, embora os voluntários tratados com laser não tenham relatado qualquer sensação de aquecimento.

Portanto, por se tratar de uma nova área de pesquisa, são necessários mais estudos para elucidar os efeitos da LBI no retardo da fadiga muscular e melhorar o desempenho de atletas, bem como para definir uma “janela terapêutica” para a aplicação em diferentes condições clínicas (fadiga, lesões musculares, fibromialgia).

7. CONCLUSÃO

-Observou-se melhora do desempenho do músculo quadríceps dos atletas de futebol submetidos à aplicação do laser de baixa intensidade antes e após protocolo de fadiga, com melhora mais evidenciada nos atletas submetidos a aplicação do laser pós-fadiga.

-O protocolo implementado de indução da fadiga do músculo quadríceps em atletas de futebol permitiu a avaliação do índice de fadiga periférica, sendo de fácil aplicabilidade e baixo custo.

-Não se observaram diferenças significativas nas variáveis do protocolo de fadiga implementado no presente estudo, tais como: tempo de fadiga, número de contrações e carga máxima.

-Evidenciou-se redução significativa nos níveis séricos de lactato com 10 e 15 minutos tanto para o grupo Laser Pré-Fadiga quanto para o grupo Laser Pós-Fadiga.

-Pode-se verificar que o laser foi efetivo na remoção da alta concentração de CK no grupo submetido à aplicação do laser pós-fadiga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ad N, Oron U. Impact of low level laser irradiation on infarct size in the rat following myocardial infarction. *Int J Cardiol.* (2001); 80(2–3):109–16.

Ahmaidi S, Granier P, Taoutaou Z et al. Effects of active recovery on plasma lactate and anaerobic power following repeated intensive exercise. *Med Sci Sports Exerc.* (1996); 28:450–6.

Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, et al. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* (2006); 24(1):33–7.

Albertini F, Villaverde AB, Aimbire F, et al. Antiinflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B* (2007); 89:50-5.

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Biologia molecular da célula*. 3 ed. Porto Alegre: Artes Médica; 1997.

Allen D, Lännergren J, Westerblad H. Muscle cell function during prolonged activity: cellular mechanisms of fatigue. *Exper Physiol.* (1995); 80:497-527.

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

Allen DG. Fatigue in working muscles. *J Appl Physiol.* (2009); 106(2): 358–9.

Almeida P, Lopes-Martins RAB, Marchi T, Tomazoni SS, Albertini R, Corrêa JCF, et al. Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? *Lasers Med Sci.* (2011); 27(2):453-58.

Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MMM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts

proliferation using different irradiance and same fluence. *Laser Surg Med.* (2001); 29:179-84.

Amaral AC, Parizotto NA, Salvini TF. Dose-dependency of low- energy He-Ne laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. *Lasers Med Sci.* 2001; 16(1):44–51.

Angelini C. Limb-girdle muscular dystrophies: heterogeneity of clinical phenotypes and pathogenetic mechanisms. *Acta Myol.* (2004); 23:130–6.

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):273–7.

Bakeeva LE, Manteifel VM, Rodichen EB, Karu TI. Formation of giant mitochondria in human blood lymphocytes after He-Ne laser irradiation. *Mol Biol* (1993); 27(3):608-17.

Baldari C. Lactate removal during active recovery related to the individual anaerobic and ventilatory thresholds in soccer players. *Eur J Appl Physiol.* (2004); 93:224–30.

Baldwin LA. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs following exercise-induced muscle injury. *Sports Med.* (2003); 33:177–85.

Balog E, Fitts R. Effects of depolarization and low intracellular pH on movement currents of frog skeletal muscle fibers. *J Appl Physiol.* (2001); 90:228-34.

Balog E, Fruen B, Kane P, Louis C. Mechanisms of Pi regulation of the skeletal muscle SR Ca²⁺ release channel. *Am J Physiol Cell Physiol.* (2000); 278:C601-C11.

Bangsbo J, Madsen K, Kiens B, Richter E. Effect of muscle acidity on muscle metabolism and fatigue during intense exercise in man. *J Physiol.* (1996); 495(2):587-96.

Bangsbo J. Physiology of muscle fatigue during intense exercise. In: Reilly T, Orme M. *The clinical pharmacology of sport and exercise*, Elsevier Science BV; 1997.

Barnet A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med.* (2006); 36:781-96.

Baroni BM, Leal Junior EC, De Marchi T, Lopes AL, Salvador M, Vaz MA. Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *Eur J Appl Physiol.* (2010b); 110(4):789–96.

Baroni BM, Leal Junior EC, Geremia JM, Diefenthaler F, Vaz MA. Effect of light-emitting diodes therapy (LEDT) on knee extensor muscle fatigue. *Photomed Laser Surg.* (2010a); 28(5):653–8.

Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Laser Surg Med.* (1995); 16:331-42.

Baxter D. Laserterapia de Baixa Intensidade. In: Kitchen, S.; Bazin, S. *Eletroterapia de Clayton*. 10 ed. São Paulo: Manole; 1998.

Beckerman H, de Bie RA, Bouter LM, De Cuyper HJ, Oostendorp RA. The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: a criteria-based meta-analysis of randomized clinical trials. *Phys Ther.* (1992); 72(7):483–91.

Bentley D, Smith P, Davie A, Zhou S. Muscle activation of knee extensors following high intensity endurance exercise in cyclists. *Eur J Appl Physiol.* (2000); 81:297-302.

Billaut F, Basset FA, Giacomoni M, Lemaitre F, Tricot V, Falgairette G. Effect of high-intensity intermittent cycling sprints on neuromuscular activity. *Inter J Sports Med.* (2006); 27:25–30.

Binder-Macleod SA, Russ D. Effects of activation frequency and force on low-frequency fatigue in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* (1999); 86(4):1337-46.

Bjordan JM, Baxter GD. Ineffective dose and lack of laser output testing in laser shoulder and neck studies. *Photomed Laser Surg.* (2006); 24(4):533–4.

Bjordan JM, Lopes-Martins RA, Iversen VV. A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *Br J Sports Med* (2006); 40:76-80.

Blazev R, Lamb G. Adenosine inhibits depolarization-induced Ca^{2+} release in mammalian skeletal muscle. *Muscle Nerve.* (1999a); 22:1674-83.

- Blazev R, Lamb G. Low [ATP] and elevated [Mg²⁺] reduce depolarisation induced Ca²⁺ release in rat skinned skeletal muscle fibers. *J Physiol.* (1999); 520(1):203-15.
- Blomstrand E. Amino acids and central fatigue. *Amino Acids.* (2001); 20:25-34.
- Bonen A, Homonko D. Effects of exercise and glycogen depletion on glyconeogenesis in muscle. *J Appl Physiol.* (1994); 76:1753-8.
- Boros-Hatfaludy S, Felete G, Apor P. Metabolic enzyme activity patterns in muscle biopsy samples in different athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* (1986); 55:334–8.
- Borsa PA, Larkin KA, True JM. Does phototherapy enhance skeletal muscle contractile function and postexercise recovery? *J Athle Train.* (2013); 48(1):57-67.
- Bourdin M, Messonnier L, Lacour JR. Laboratory blood lactate profile is suited to on water training monitoring in highly trained rowers. *J Sports Med and Phys Fit.* (2004); 44: 337–41.
- Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* (2007); 81–82:209–30.
- Brooks GA, Dubouchaud H, Brown M, Sicurello JP, Butz CE. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1999); 96(3):1129–34.
- Brooks GA. Intra and extra cellular lactate shuttles. *Med Sci Sport Exer.* (1998); 32(4):790-9.
- Castro M, Apple D, Melton-Rogers S, Dudley G. Muscle fiber type-specific myofibrillar Ca²⁺ ATPase activity after spinal cord injury. *Muscle and Nerve.* (2000); 23:119-21.
- Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* (2003); 33:145–64.
- Chin E, Allen D. The contribution of pH-dependent mechanisms to fatigue at different intensities in mammalian single muscle fibers. *J Physiol.* (1998); 512(3):831-40.

Chin E, Allen D. The role of elevations in intracellular Ca^{2+} in the development of low frequency fatigue in mouse single muscle fibers. *J Physiol.* (1996); 491(3):813-24.

Chin E, Balnave C, Allen D (1997). Role of intracellular calcium and metabolites in low-frequency fatigue of mouse skeletal muscle. *Am J Physiol.* (1997); 272(41): C550-C9.

Chow RT, Heller GZ, Barnsley L. The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain.* (2006); 124:201–10.

Coffey V, Leveritt M, Gill N. Effect of recovery modality on 4-hour repeated treadmill running performance and changes in physiological variables. *J Sci Med Sport.* (2004); 7:1–10.

Conley EK, Kemper WF, Crowther GJ. Limits to sustainable muscle performance: interaction between glycolysis and oxidative phosphorylation. *J Exp Biol.* (2001); 204:3189-94.

Cooke R, Pate E. The inhibition of muscle contraction by the products of ATP hydrolysis. In A Taylor, P Gollnick, H Green, C Ianuzzo, E Noble, G Métivier, J Sutton, *Biochemistry of Exercise VII*, Champaign, IL: Human Kinetics, 1990.

Cotton AM. A review of the principles and use of lasers in lower limb problems. *Lower Extremity Wounds.* (2004); 3(3):133-42.

Crane JD, Ogborn DI, CupidoC, Melov S, Hubbard A, Bourgeois, et al. Massage therapy attenuates inflammatory signaling after exercise-induced muscle damage. *Sci Trans Med.* (2012); 4(119):1-9.

Davis M, Bailey S. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc.* (1997); 29(1):45-57.

manual - guidelines for exercise testing and prescription, Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.

Davis M. Central and peripheral factors in fatigue. *J Sports Sciences*. (1995); 13:S49-S53.

De Marchi T, Leal Junior ECP, Bortoli C, Tomazoni SS, Lopes-Martins RA, Salvador M. Low-level laser therapy (LLLT) human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers Med Sci*. (2012); 27(1):231-6.

De Moraes NC, Barbosa AM, Vale ML, et al. Anti-inflammatory effect of low-level laser and light-emitting diode in zymosan-induced arthritis. *Photomed Laser Surg*. (2010); 28(2):227–32.

Degroot M, Massie M, Boska M, Gober J, Miller R, Weiner M. Dissociation of $[H^+]$ from fatigue in human muscle detected by high time resolution ^{31}P -NMR. *Muscle Nerve*. (1991); 16:91-8.

Devlin TM. Manual de bioquímica com correlações clínicas. São Paulo: Ed. Edgard Blucher; 1998.

Dohm GL, Kasperek GJ, Bakarat HA. Time course of changes in gluconeogenic enzyme activities during exercise and recovery. *Am J Physiol*. (1985); 249:E6-E11.

Monedero J, Donne B. Effect of Recovery Interventions on Lactate Removal and Subsequent Performance. *Int J Sports Med*. (2000); 21:593-7.

Dotan R, Falk B, Raz A. Intensity effect of active recovery from glycolytic exercise on decreasing blood lactate concentration in prepubertal children. *Med Sci Sport Exerc*. (2000); 32:564-70.

Dowzer CN, Reilly T, Cable NT. Effects of deep and shallow water running on spinal shrinkage. *Bri J Sports Med*. (1998); 32:44–8.

Drost G, Blok J, Stegman D, van Dick J, van Egelen B, Zwarts M. Propagation disturbance of motor unit action potentials during transient paresis in generalized myotonia - A high-density surface EMG study. *Brain*. (2001); 124:352-60.

Dutka T, Lamb G. Effect of lactate on depolarization-induced Ca^{2+} release in mechanically skinned muscle fibers. *Am J Physiol*. (2000); 278:C517-C25.

Dutta C, Hadley EC, Lexell J. Sarcopenia and physical performance in old age: overview. *Muscle Nerve Suppl.* 1997; 5:S5–S9.

Enoka R, Stuart D. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol.* (1992); 72(5):1631-48.

Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg.* (2004); 22(4):323–9.

Enwemeka CS. Attenuation and penetration of visible 632.8nm and invisible infra-red 904nm light in soft tissues. *Laser Ther.* (2001); 13:95–101.

Enwemeka CS. Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. *Photomed Laser Surg.* (2009); 27(3):387–93.

Enwemeka CS. The place of coherence in light induced tissue repair and pain modulation. *Photomed Laser Surg.* (2006); 24(4):457.

Esnouf A, Wright PA, Moore JC, Ahmed S. Depth of penetration of an 850nm wavelength low level laser in human skin. *Acupunct Electrother Res.* (2007); 32(1–2):81–6.

Essing D, Nosek T. Muscle fatigue and induction of stress protein genes: A dual function of reactive oxygen species? *Can J Appl Physiol.* (1997); 22(5):409-28.

Farris J, Hinchliff K, McKeever K, Lamb D, Thompson D. Effect of tryptophan and glucose on exercise capacity of horses. *J Appl Physiol.* (1998); 85(3):807-16.

Favero T, Zable A, Colter D, Abramson J. Lactate inhibits Ca^{2+} -activated Ca^{2+} - channel activity from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Appl Physiol.* (1997); 82(2):447-52.

Favero T. Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release and muscle fatigue. *J Appl Physiol.* (1999); 87(2):471-83.

Febbraio M, Dancy J. Skeletal muscle energy metabolism during prolonged, fatiguing exercise. *J Appl Physiol.* (1999); 87(6):2341-7.

- Ferraresi C, de Brito Oliveira T, de Oliveira Zafalon L, et al. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers Med Sci.* (2011); 26(3):349–58.
- Fitts R, Balog E. Effect of intracellular and extracellular ion changes on E-C coupling and skeletal muscle fatigue. *Acta Scand Physiol.* (1995); 156:168-81.
- Fitts R, Metzger J. Mechanisms of muscular fatigue. In J Poortmans, *Principals of Exercise Biochemistry*, Basel: Krager, 1988.
- Fonseca ST, Silva PLP, Bricio RSB, Costa CA, Wanner LL. Caracterização da performance muscular em atletas profissionais de futebol. *Rev Bras Med Esp.* (2007); 13(3):143-7.
- Foss ML, Keteyian SJ. *Bases fisiológicas da educação física e dos desportos*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- Friedmann B, Frese F, Menold E, Bartsch P. Effects of acute moderate hypoxia on anaerobic capacity in endurance-trained runners. *Eur J Appl Physiol.* (2007); 101:67–73.
- Gandevia S. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev.* (2001); 81(4):1725-89.
- Gill ND, Beaven CM, Cook C. Effectiveness of post-match recovery strategies in rugby players. *Br J Sports Med.* (2006); 40:260–3.
- Gladden LB. Muscle as a consumer of lactate. *Med Sci Sport Exer.* (2000); 32(4):764-71.
- Goreham C, Green HJ, Ball-Burnett M, Ranney D. High-resistance training and muscle metabolism during prolonged exercise. *Am J Physiol* (1999); 276(3 Pt 1):E489-E96.
- 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):501-6.

Green H. Mechanisms of muscle fatigue in intense exercise. *J Sport Sci.* (1997); 15:247-56.

Green H. Metabolic determinants of activity induced muscular fatigue. In M Hargreaves. *Exercise Metabolism* Champaign, IL: Human Kinetics; 1995.

Green S, Langberg H, Skovgaard D, Bulow J, Kjaer M. Interstitial and arterial-venous [K+] in human calf muscle during dynamic exercise: effect of ischaemia and relation to muscle pain. *J Physiol.* (2000); 529:849-61.

Guével A, Hogrel J, Marini J. Fatigue of elbow flexors during repeated flexion-extension cycles: effect of movement strategy. *Int J Sports Med.* (2000); 21:492-8.

Gundersen B. Clinical trial on laser therapy as a pain control modality. *Med Wellness Arch.* (2005); 2(2):1–3.

Gür A, Karakoc M, Nas K, Cevik R, Sarac J, Demir E. Efficacy of low power laser therapy in fibromyalgia: a single-blind, placebo-controlled trial. *Lasers Med Sci.* (2002); 17:57–61.

Gurney B, Milani J, Pedersen M. Role of fatigue on proprioception of the ankle. *J Exerc Physiol.* (2000); 3(1):8-13.

Halsen SL, Quod MJ, Martin DT, Gardner AS, Ebert TR, Laursen PB. Physiological responses to cold water immersion following cycling in the heat. *Int J Sports Physiol Perform* (2008); 3:331-46.

Hargreaves M, McKenna M, Jenkins D, Warmington S, Li J, Snow R, et al. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. *J Appl Physiol.* (1998); 84(5):1687-91.

Hashimoto T, Hussein R, Brooks GA. Colocalization of MCT1, CD147, and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2006); 290(6):E1237-E44.

Hashmi JT, Huang YY, Sharma SK, et al. Effect of pulsing in low- level light therapy. *Lasers Surg Med.* (2010); 42(6):450–66.

Hatta H. Oxidative Removal of Lactate after Strenuous Exercise. *Ann Physiol Anthropol.* (1990); 9(2):213-8.

Hautala AJ, Kiviniemi AM, Makikallio TH, Kinnunen H, Nissilä S, Huikuri HV, et al. Individual differences in the responses to endurance and resistance training. *Eur J Appl Physiol.* (2006); 96:535-42.

Hawke T, Allen D, Lindinger M. Paraxanthine, a caffeine metabolite, dose dependently increases $[Ca^{2+}]_i$ in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* (2000); 89:2312-7.

Hawke T, Willmets R, Lindinger M. K^+ transport in resting rat hind-limb skeletal muscle in response to paraxanthine, a caffeine metabolite. *Can J Physiol Pharmacol.* (1999); 77:835-43.

Hodson-Tole EF, Wakeling JM. Motor unit recruitment for dynamic tasks: current understanding and future directions. *J Comp Physiol B* (2009); 179(1):57-66.

Houmard JA, Costill DL, Mirchell JB, Park SH, Fink WJ Burns JM. Testosterone, cortisol, and creatine kinase levels in male distance runners during reduced training. *Int J Sports Med* (1990); 11:41-5.

Howatson G, Gaze D, Van Someren KA. The efficacy of ice massage in the treatment of exercise-induced muscle damage. *Scan J Med Sci Sports.* (2005); 15:416–22.

Howlett RA, Parolin ML, Dyck DJ, Hultman E, Jones NL, Heingenhauser GJ, et al. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and pyruvate dehydrogenase at varying exercise power outputs. *Am J Physiol.* (1998); 275:R418-R25.

Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response.* (2009); 7(4):358–83.

Hurley BF. Age, gender, and muscular strength. *J Gerontol.* (1995); 50:41-4.

Ide M, Tajima F, Furusawa K et al. Wheelchair marathon racing causes striated muscle distress in individuals with spinal cord injury. *Arch Phys Med and Rehabil.* (1999); 80:324–27.

- Ingalls C, Warren G, Williams J, Ward C, Armstrong R. E-C coupling failure in mouse EDL muscle after in vivo eccentric contractions. *J Appl Physiol.* (1998); 85(1):58-67.
- Johnston III R, Howard M, Cawley G, Losse G. Effect of lower extremity muscular fatigue on motor control performance. *Med Sci Sports Exerc.* (1998); 30(12):1703-7.
- Jones D (1996). High- and low-frequency fatigue revisited. *Acta Physiol Scand.* (1996); 156:265-70.
- Juel C, Bangsbo J, Graham T, Saltin B. Lactate and potassium fluxes from human skeletal muscle during and after intense, dynamic, knee extensor exercise. *Acta Physiol Scand.* (1990); 140(2):147-59.
- Juel C, Pilegaard H, Nielsen J, Bangsbo J. Interstitial K^+ in human skeletal muscle during and after dynamic graded exercise determined by microdialysis. *Am J Physiol.* (2000); 278:R400-R6.
- Juel C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiological Reviews.* (1997); 77(2):321-58.
- Kannus P, Parkari J, Järvinen TL, Järvinen TA, Järvinen M. Basic science and clinical studies coincide: active treatment approach is needed after a sports injury. *Scand J Med Sci Sports.* (2003); 13:150-4.
- Karu TI. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* (1999); 49(1):1–17.
- Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. *Laser Surg Med.* (2005); 36:307-14.
- Karu TI, Pyatibrat LV, Kolyakov SF, Afanasyeva NI. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiol B: Biol.* (2005); 81:98-106.
- Karu TI. Laser biostimulation: a photobiological phenomenon. *J Photochem Photobiol* (1989); 3:638-9.

Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol* (2008); 84:1091-9.

Karu TI. Photobiological fundamentals of low power laser therapy. *IEEE J Quantum Electr.* (1987); 10:1703-19.

Katz A, Sahlin K. Regulation of latic acid production during exercise. *J Appl Physiol.* (1988); 65:509-18.

Kelencz CA, Munoz IS, Amorim CF, Nicolau RA. Effect of low- power gallium-aluminum-arsenium noncoherent light (640 nm) on muscle activity: a clinical study. *Photomed Laser Surg.* (2010); 28(5):647–52.

Kirkendall D. Mechanisms of peripheral fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* (1990); 22(4):444-9.

Klapcinska B, Iskra J, Poprezeck S et al. The effects of sprint (300 m) running on plasma lactate, uric acid, creatine kinase and lactate dehydrogenase in competitive hurdlers and untrained men. *J Sports Med Phys Fitness.* (2001); 41:306–11.

Klebanov GI, Kreinina MV, Poltanov EA, Khristoforova TV, Vladimirov YA. Mechanism of therapeutics effect of low-intensity infrared laser irradiation. *Bull Exp Biol Med.* (2001); 131(3): 286-9.

Knapik JJ, Bauman CL, Jones BH, et al. Preseason strenght and flexibility imbalanceswith athletic injuries in female collegiate athletes. *Am J Sports Med.* (1991); 19:76-81.

Kolari PJ, Airaksinen O. Poor penetration of infra-red and helium neon low power laser light into the dermal tissue. *Acupunct Electrother Res.* (1993); 18(1):17–21.

Kreider R, Miriel V, Bertun E. Amino acid supplementation and exercise performance - Analysis of proposed ergogenic value. *Sports Med.* (1993); 16 (3):190-209.

Lafortuna CL, Proietti M, Agosti F, Sartorio A. The energy cost of cycling in young obese women. *Eur J Appl Physiol.* (2006); 97:16-25.

Lamb GD, Cellini MA. High intracellular $[Ca^{2+}]$ alters sarcoplasmic reticulum function in skinned skeletal muscle fibres of the rat. *J Physiol.* (1999); 519 Pt 3:815-27.

Langfort J, Zarzeczny R, Pilis W, Kaciuba-Uscieko H, Nazar K, et al. Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats. *Comp Biochem Physiol.* (1996); 114a(1):51-5.

Lattier G, Millet GY, Martin A, et al. Fatigue and recovery after high-intensity exercise. Part II: Recovery interventions. *Inter J Sports Med.* (2004); 25:509–15.

Leadbetter WB. Soft tissue athletic injury. In: Fu FH, Stone DA, eds. *Sports Injuries: Mechanisms, Prevention, Treatment*. 2nd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; (2001):839–888.

Leal Junior EC, de Godoi V, Mancalossi JL, et al. Comparison between cold water immersion therapy (CWIT) and light emitting diode therapy (LEDT) in short-term skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes: preliminary results. *Lasers Med Sci.* (2011); 26(4):493–501.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, et al. Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg.* (2008); 26(5):419–24.

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, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to postexercise recovery. *J Orthop Sports Phys Ther.* (2010b); 40(8):524–32.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Rossi RP, et al. 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):572–7.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, et al. Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multidiode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. *Photomed Laser Surg.* (2009c);27(4):617–623.

Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Vanin AA, Baroni BM, Grosselli D, Marchi T, et al. Effect of 830 nm low-level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci.* (2009a); 24:425-31.

Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Baroni BM, Marchi T, Taufer D, Manfro DS, et al. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci.* (2009d); 24:857-63.

Leek BT, Mudaliar SRD, Henry R, Mathieu-Costello O, Richardson RS. Effect of acute exercise on citrate synthase activity in untrained and trained human skeletal muscle. *Am J Physiol Reg Int Comp Physiol.* (2001); 280:441-7.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Princípios de bioquímica*. 2 ed. São Paulo: Sarvier; 1995.

Lieber RL. *Skeletal muscle structure and function. Implications for rehabilitation and sports medicine*. Williams &Wilkins: Maryland, USA; 1992.

Lindeman E, Spaans F, Reulen J, Leffers P, Drukker J. Progressive resistance training in neuromuscular patients. Effects on force and surface EMG. *J Electromyogr Kinesiol.* (1999); 9(6):379-84.

Lindinger M, McKelvie R, Heigenhauser G. K^+ and Lac⁻ distribution during and after high-intensity exercise: role in muscle fatigue attenuation? *J Appl Physiol.* (1995); 78(3):765-77.

Lopes-Martins RA, Marcos RL, Leonardo PS, et al. Effect of low-level laser (GaAlAs 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J Appl Physiol.* (2006); 101(1):283–88.

MacDougall JD, Hicks AL, MacDonald JR et al. Muscle performance and enzymatic adaptations to sprint interval training. *J Appl Physiol.* (1998); 84:2138–42.

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

Manteifel VM, Karu TI. Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in successive generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light. *Biol Bull.* (2005); 32(6): 556-66.

Martin NA, Zoeller RF, Robertson RJ, Lephart SM. The comparative effects of sports massage, active recovery, and rest in promoting blood lactate clearance after spramaximal leg exercise. *J Athl Train.* (1998); 33:30-5.

Masuda K, Masuda T, Sadoyama T, Inaki M, Katsuta S. Changes in surface EMG parameteres during static and dynamic fatiguing contractions. *J Electromyogr Kinesiol.* (1999); 9:39-46.

McDermott JC, Bonen A. Endurance training increases skeletal muscle lactate transport. *Acta Physiol Scand.* (1993); 147:323-7.

McKenna M. The roles of ionic processs in muscular fatigue during intense exercise. *Sports Med.* (1992); 13(2):134-45.

McLester Jr J. Muscle contraction and fatigue - the role of adenosine 5'diphosphate and inorganic phosphate. *Sport Med.* (1997); 23(5):287-305.

Mekjavic IB, Exner JA, Tesch PA, et al. Hyperbaric oxygen therapy does not affect recovery from delayed onset muscle soreness. *Med Sci Sports Exer.* (2000); 32:558–63.

Merrick MA. Secondary injury after musculoskeletal trauma: a review and update. *J Athl Train.* (2002); 37(2):209–17.

Mizrahi J, Verbitsky O, Isakov E. Fatigue-induced changes in decline running. *Clinical Biomechanics.* (2001); 16:207-12.

Mizrahi J, Verbitsky O, Isakov E. Fatigue-related loading imbalance on the shunk in running: A possible factor in stress fractures. *Annals Biomed Engine.* (2000); 28:463-9.

Moussavi R, Lehman S, Miller R. Dantrolene sodium and fatigue of long duration. *Muscle Nerve*. (1992); 15:384-9.

Nethery D, Callahan LA, Stofan D, Mattera R, Dimarco A, Supinski G. PLA_2 dependence of diaphragm mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Appl Physiol*. (2000); 89:72–80.

Newsholme E, Blomstrand E, Ekblom B. Physical and mental fatigue: Metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. *Sports Med*. (1992); 48(3):477-95.

Nicol C, Komi P, Marconnet P. Fatigue effects of marathon running on neuromuscular performance, II - Changes in force, integrated electromyographic activity and endurance capacity. *Scand J Med Sci Sports*. (1991); 1:18-24.

Noaks TD. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand J Med Sci Sports*. (2000); 10(3):123-45.

Oron U, Yaakobi T, Oron A, et al. Low-energy laser irradiation reduces formation of scar tissue after myocardial infarction in rats and dogs. *Circulation*. (2001); 103(2):296–301.

Ortenblad N, Stephenson DG. A novel signaling pathway originating in mitochondria modulates rat skeletal muscle membrane excitability. *J Physiol* (2003); 548(Pt 1):139-45.

Pagala M, Ravindran K, Namba T, Grob D. Skeletal muscle fatigue and physical endurance of young and old mice. *Muscle Nerve*. (1998); 21:1729-39.

Pilis W, Zarzeczny R, Langfort J, Kaciuba-Uscieko H, Nazar K, et al. Anaerobic threshold in rats. *Comp Biochem Physiol*. (1993); 106a(2):285-9.

Pincivero DM, Gandaio CB, Ito Y. Gender-specific knee extensor torque, flexor torque, and muscle fatigue responses during maximal effort contractions. *Eur J Appl Physiol*. (2003); 89:134-41.

Posterino G, Fryer M. Effects of high myoplasmatic L-lactate concentration on E-C coupling in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol.* (2000); 89:517-28.

Powers SK, Howley ET. Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 3 ed. São Paulo: Manole; 2000.

Pyne DB, Lee H, Swanwick KM. Monitoring the lactate threshold in world-ranked swimmers. *Med Sci Sport Exerc.* (2001); 33:291-7.

Reddy GK. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. *J Clin Laser Med Surg.* (2004); 22(2):141–50.

Reid M. Muscle fatigue: mechanisms and regulation. In CKSLPeO Hänninen, *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*, Amsterdam: Elsevier Science B.V; 2000.

Reis, FAR. Análise da influência da irradiação do laser de baixa potência Arsenieto de Gálio e Alumínio (660 nm) sobre a recuperação funcional e morfológica do nervo ciático de ratos após lesão por neurotmeze seguida de anastomose epineural. 94 f. Tese (Mestrado em Engenharia Biomédica) Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2006.

Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Correa DS, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med.* (2006); 38(7):704–13.

Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Intergr Comp Physiol.* (2004); 287:502-16.

Roberts D, Smith D. Biochemical aspects of peripheral muscle fatigue - a review. *Sports Med.* (1989); 7:125-38.

Rochkind S, Quaknine GE. New trend in neuroscience: low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). *Neurologic Res.* (1992); 14:2-11.

- Rowell GJ, Coutts AJ, Reaburn P, Hill-Haas S. Effects of cold-water immersion on physical performance between successive matches in high-performance junior male soccer players. *J Sports Sci* (2009); 27:565-73.
- Sahlin K, Mogense M, Bagger M, Fernstrom M, Pedersen PK. The potential for mitochondrial fat oxidation in human skeletal muscle influences whole body fat oxidation during low-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2007); 292(1):E223-E30.
- Sahlin K, Tonkonogi M, Söderlund K. Energy supply and muscle fatigue in humans. *Acta Scand Physiol.* (1998); 162:261-6.
- Sahlin K. Energy metabolism and muscle fatigue during exercise. In Steinacker, Ward, *The physiology and pathophysiology of exercise tolerance*, New York: Plenum Press, 1996.
- Sahlin K. Metabolic aspects of fatigue in human skeletal muscle. In P Marconnet, P Komi, B Saltin, O Sejested, *Muscle Fatigue in Exercise and Training*, Basel: Karger; 1992a.
- Sahlin K. Metabolic factors in fatigue. *Sports Med.* (1992); 13(2):99-107.
- Santos EL, Neto GA. Comparison of computerized methods for detecting the ventilatory thresholds. *Eur J Appl Physiol.* (2004); 93:315-24.
- Sejersted O, Sjøgaard G. Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise. *Physiol Rev.* (2000); 80(4):1411-81.
- Sellwood KL, Brukner P, Williams D et al. Ice-water immersion and delayed-onset muscle soreness: a randomised controlled trial. *Br J Sports Med.* (2007); 41:392–7.
- Semmler J, Kutzscher D, Enoka R. Gender differences in the fatigability of human skeletal muscle. *J Neurophysiol.* (1999); 82:3590-3.
- 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.

Siu PM, Donley DA, Bryner RW, Alway SE. Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *J Appl Physiol.* (2003); 94:555-60.

Slumilak D, Sulowicz W, Walatek B. Rhabdomyolysis: clinical features, causes, complications and treatment. *Przegl Lek.* (1998); 55:274–9.

Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanches A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and Neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser. *Laser Surg Med.* (2002); 31:216-22.

Spector S, Jackman M, Sabounjian L, Sakkas C, Landers D, Willis W. Effect of choline supplementation on fatigue in trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc.* (1995); 27(5):668-73.

Spieler DK, Goldsmith R, Baran DA, Hryniewicz K, Katz SD. Effects of active vs. passive recovery on work performed during serial supramaximal exercise tests. *Int J Sports Med.* (2004); 25:109-14.

Spriet LL, Howlett RA, Heigenhauser GJF. An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise. *Med Sci Sport Exer.* (2000); 32:756-63.

Stackhouse S, Dean J, Lee S, Binder-Macload S. Measurement of central activation failure of the quadriceps femoris in healthy adults. *Muscle Nerve.* (2000); 23:1706-12.

Starkey C. *Therapeutic Modalities*. 3rd ed. Philadelphia, PA: FA Davis Co; 2004:379.

Stienen G, Papp Z, Zaremba R. Influence of inorganic phosphate and pH on sarcoplasmic reticular ATPase in skinned muscle fibers of *Xenopus laevis*. *J Physiol.* (1999); 518(3):735-44.

Struder H, Davis J, Meeusen R, Hand G. Serotonin: implications during exercise and training. *Med Sci Sports Exerc.* (2001); 33(5): S273-S89.

Sunnerhagen K, Carlsson U, Sandberg A, Stålberg E, Hedberg M, Grimby G. Electrophysiologic evaluation of muscle fatigue development and recovery in late polio. *Arch Phys Med Rehabil.* (2000); 81:770-6.

Supinsky G, Nethery D, DiMarco A (1999). Extracellular calcium modulates generation of reactive oxygen species by contracting diaphragm. *J Appl Physiol.* (1999); 87(6):2177-85.

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.

Svantesson U, Sunnerhagen K, Carlsson U, Grimby G. Development of fatigue during repeated eccentric-concentric muscle contractions of plantar flexors in patients with stroke. *Arch Phys Med Rehabil.* (1999); 80:1247-52.

Szabo A, Romvári R, Bogner P et al. Metabolic changes induced by regular submaximal aerobic exercise in meat-type rabbits. *Acta Vet Hung.* (2003); 51:503–12.

Szubski C, Burtscher M, Loscher WN. Neuromuscular fatigue during sustained contractions performed in short-term hypoxia. *Med Sci Sports Exerc.* (2007); 39:948–54.

Szumilak D, Sulowicz W, Walatek B. Rhabdomyolysis: clinical features, causes, complications and treatment. *Przegl Lek.* (1998); 55:274-9.

Taylor J, Allen G, Butler J, Gandevia S. Supraespal fatigue during intermittent maximal voluntary contractions of human elbow flexors. *J Appl Physiol.* (2000); 89:305-13.

Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans, *J Appl Physiol.* (2005); 98:804-9.

Thompson D, Williams C, Kingsley M, Nicholas CW, Lakomy HK, McArdle F, et al. Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int J Sports Med.* (2001); 22:68-75.

Thompson L, Fitts R. Muscle fatigue in the frog semitendinosus: role of the high-energy phosphates and Pi. *Am J Physiol.* (1992); 263(Cell Physiol 32):C803-C9.

Tonkonogi M, Sahlin K. Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev.* (2002); 30(3):129–37.

Tonkonogi M, Walsh B, Svensson M, Shalin K. Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. *J Physiol* (2000); 528(Pt2):379-88.

Tullberg M, Alstergren PJ, Ernberg MM. Effects of low-power laser exposure on masseter muscle pain and microcirculation. *Pain* (2003); 105:89-96.

, Hode L. *Laser Therapy: Clinical Practice and Scientific Background.* Stockholm, Sweden: Prima Books; 2002.

Varnier M, Sarto P, Martines D, Lora L, Carmignoto F, Leese G, Naccarato R. Effect of infusing branched- chain amino acid during incremental exercise with reduced muscle glycogen content. *Eur J Appl Physiol.* (1994); 69:26-31.

Vieira WHB, Ferraresi C, Perez SEA, Baldissera V, Parizotto NA. Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* (2011); 27(2):497-504.

Vieira WHB, Goes R, Costa FC, Parizotto NA, Perez SEA, Baldissera V, et al. Adaptação enzimática da LDH em ratos submetidos a treinamento aeróbio em esteira e laser de baixa intensidade. *Rev Bras Fisio.* (2006); 9(3):377-83.

Vieira WHB, Parizotto NA, Perez SEZ, Baldissera V, Schwantes ML, Costa FC. Effect of Low-Power Laser (LLLT) on lactate dehydrogenase (glycolytic) and citrate synthase (oxidative) activity in rats submitted to aerobic treadmill training. *J Photomed Laser Surg.* (2005a); 23(1):124.

Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Bioche.* (2004); 69(1): 89-90.

Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Bras J Med Biol.* (2002); 35:1389-94.

Wasserman K. The anaerobic threshold measurement to evaluate exercise performance. *Am Rev Respir Dis.* (1984); 129 (suppl):S35-S40.

Weerapong P, Hume PA, Kolt GS. The mechanisms of massage and effects on performance, muscle recovery and injury prevention. *Sports Med.* (2005); 35:235–56.

Weir J, Keefe D, Eaton J, Augustine R, Tobin D. Effect of fatigue on hamstring coactivation during isokinetic knee extensions. *Eur J Appl Physiol.* (1998); 78:555-9.

Weir J, Mahoney K, Hann K, Davis A. Influence of electrode orientation on electromyographic fatigue indices of the vastus lateralis. *J Exerc Physiol.* (1999); 2(3):15-20.

Weir, JP, Beck TW, Cramer JT, Housh TJ. Is fatigue all in your head? A critical review of the central governor model. *British J Sports Med.* (2006); 40:573-86.

Westerblad H. The role of pH and inorganic phosphate ions in skeletal muscle fatigue. In M Hargreaves, M Thompson, *Biochemistry of exercise*, Champaign, IL: Human Kinetics; 1999.

Westerblad H, Allen DG, Lannergren J. Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause? *News Physiol Sci.* (2002); 17:17–21.

Wilden L, Karthein R. Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. *J Clin Laser Med Surg.* 1998; 16(3):159-65.

Williams J, Klug G. Calcium exchange hypothesis of skeletal muscle fatigue: a brief review. *Muscle Nerve.* (1995); 18:421-34.

Williams J, Ward C, Spangenburg E, Nelson R. Functional aspects of skeletal muscle contractile apparatus and sarcoplasmic reticulum after fatigue. *J Appl Physiol.* (1998); 85(2):619-26.

Williams J. Contractile apparatus and sarcoplasmic reticulum function: effects of fatigue, recovery, and elevated Ca^{2+} . *J Appl Physiol.* (1997); 83(2):444-50.

Wilmore JH, Costill DL. Fisiologia do esporte e do exercício. 2 ed. São Paulo: Manole; 2001.

Wolf PL, Lott JA, Nitti GJ et al. Changes in serum enzymes, lactate, and haptoglobin following acute physical stress in international-class athletes. *Clinic Biochem.* (1987); 20:73–7.

Zonderland ML, Bar PR, Beijneveld JC, Spruijt BM, Keizer HA, Glatz JFC. Different metabolic adaptation of heart and skeletal muscles to moderate-intensity treadmill training in the rat. *Eur J Appl Physiol.* (1999); 79:391-5.

ANEXOS

ANEXO A

UFMS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EFEITOS DA TERAPIA COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA FADIGA MUSCULAR ESQUELÉTICA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO EM HUMANOS

Pesquisador: Filipe Abdalla dos Reis

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12006812.2.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 180.271

Data da Relatoria: 20/12/2012

Apresentação do Projeto:

A fadiga muscular esquelética (FME) é um fenômeno inevitável na rotina de treinos e competições para muitos atletas e pode prejudicar o desempenho e predispor o atleta a uma variedade de distúrbios musculoesqueléticos. Nas primeiras horas o desempenho físico é prejudicado por distúrbios metabólicos que ocorrem após exercícios de alta intensidade (Westerblad; Allen; Lannergren, 2002). Quando o desempenho físico é prejudicado por dias, pode estar relacionado às lesões teciduais decorrentes do exercício e do fenômeno conhecido como dor muscular de início tardio (DMT). Um grande número de modalidades terapêuticas são utilizadas na reabilitação esportiva para acelerar a recuperação muscular após os exercícios, tais como: recuperação ativa (Ahmadi et al., 1996; Martin et al., 1998; Baldari, 2004), crioterapia (Cheung; Hume; Maxwell, 2003; Howatson; Gaze; Someren, 2005; Sellwood et al., 2007), massagem (Martin et al., 1998; Weerapong; Hume; Kolt., 2005; Crane et al., 2012), terapia por banho de contraste (imersão em água quente e fria) (Coffey; Leveritt; Gill, 2004; Gill; Beaven; Cook, 2006), hidroterapia (Dowzer; Reilly; Cable, 1998), alongamentos (Barnet 2006), oxigenioterapia hiperbárica (Mekjavic et al., 2000), anti-inflamatórios não esteróides (AINE) (Baldwin, 2003) e eletroestimulação (Lattier et al., 2004). A FME é uma nova área de pesquisa da laserterapia de

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110

UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE

Telefone: ((67) 33)45-7-187 **Fax:** ((67) 33)45-7-187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br

UFMS



baixa intensidade (LLLT) e os parâmetros ideais de aplicação ainda não são totalmente compreendidos (Leal Junior et al., 2009). Em contextos clínicos, a LLLT tem sido utilizada no tratamento de dores musculares e alguns resultados positivos foram encontrados para dores musculares no pescoço (Chow; Heller; Barnsley, 2006), em condições de fibromialgia (Gür et al., 2002) condições que podem estar relacionadas com a FME. Portanto, este estudo justifica-se na tentativa de buscar uma nova modalidade terapêutica, tentando elucidar quais os parâmetros ideais e principalmente quando se deve aplicar o LLLT, como forma preventiva ou como forma de tratamento da fadiga muscular já instalada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a ação do LLLT na performance muscular do quadríceps femoral antes e após o protocolo de fadiga induzida.

Objetivo Secundário:

Implementar um protocolo de indução de fadiga muscular de membros inferiores (MMII) em humanos. Verificar a diferença entre a aplicação do laser prévia e posteriormente à fadiga muscular. Avaliar os níveis séricos de lactato e CK antes e após a aplicação do LLLT.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não haverá riscos

Benefícios:

Buscar novas modalidades terapêuticas e de baixo custo para a melhora do desempenho dos atletas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância social.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado.

Recomendações:

Adequado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Adequado.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110

UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE

Telefone: ((67) 33)45-7-187 **Fax:** ((67) 33)45-7-187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br

UFMS

**Situação do Parecer:**

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPO GRANDE, 21 de Dezembro de 2012

Assinador por:**Ernesto Antonio Figueiró Filho
(Coordenador)****Endereço:** Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFMS**Bairro:** Caixa Postal 549**CEP:** 79.070-110**UF:** MS**Município:** CAMPO GRANDE**Telefone:** ((67) 33)45-7-187**Fax:** ((67) 33)45-7-187**E-mail:** bioetica@propp.ufms.br

ANEXO B

Journal of Athletic Training



[Manuscript Home](#) [Author Instructions](#) [Reviewer Instructions](#) [Help](#) [Tips](#) [Logout](#) [Journal Home](#)

Detailed Status Information

Manuscript #	JAT0073-13
Current Revision #	0
Submission Date	2013-03-08 15:30:31
Current Stage	Under Review
Title	EFFECTS OF LOW-LEVEL LASER THERAPY (830 nm) ON EXERCISE-INDUCED SKELETAL MUSCLE FATIGUE IN HUMANS
Manuscript Type	Original Research
Special Section	N/A
Corresponding Author	Prof. Filipe Reis (Uniderp)
Contributing Authors	Prof. Baldomero da Silva , Erica Laraia , Rhaiza Melo , Patrícia Silva , Prof. Ernesto Cesar Leal-Junior , Paulo de Tarso Carvalho

EFFECTS OF LOW-LEVEL LASER THERAPY (830 nm) ON EXERCISE-INDUCED SKELETAL MUSCLE FATIGUE IN HUMANS

Filipe Abdalla dos Reis^{1,2}; Balamero Antonio Kato da Silva³; Erica Martinho Salvador
Laraia¹; Rhaiza Marques de Melo⁴; Patrícia Henrique Silva⁴; Ernesto Cesar Pinto
Leal- Junior⁵; Paulo de Tarso Camillo de Carvalho⁵

¹ Professor of Physiotherapy at the University Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, MS, Brazil (filipeabdalla@icloud.com)

² Doctoral Program of Health and Development Midwest Region—UFMS, Campo Grande, MS, Brazil

³ Professor of Physical Therapy, Federal University of Piauí, Parnaíba, PI, Brazil (ftbaldock@uol.com.br)

⁴ Academic Course in Physical Therapy, University Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, MS, Brazil (rhaiza_melo@yahoo.com.br/pattihenrique@gmail.com)

⁵ Professor in the Graduate Program in Rehabilitation Sciences—University Nove de Julho -Uninove, São Paulo, SP, Brazil (paulo.tarso@uninove.br/ernesto.leal.junior@gmail.com)

Address for correspondence:

Filipe Abdalla dos Reis
Rua Goiás, 1709, Vila Céla - Campo Grande - MS - Brazil
79022-355
Phone: 55 (67) 9207-6011
Email: filipeabdalla@icloud.com
ABSTRACT

Context: Recent studies have investigated whether low-intensity laser (LLLT) can optimize

muscle performance during exercise.

Objective: To investigate the effect of LLLT before and after exercise on quadriceps muscle performance and evaluate the changes in serum lactate and creatine kinase (CK) levels.

Design: Randomized, double-blind, placebo-controlled.

Patients: A sample of 27 healthy volunteers (male soccer players) divided into 3 groups: placebo, pre-fatigue laser, and post-fatigue laser.

Intervention(s): Subjects performed 2 sessions of stretching followed by blood collection (for measurement of lactate and CK) at baseline and after fatigue of the quadriceps by leg extension. We measured the time to fatigue and the number and maximum load (RM) of repetitions tolerated.

Main outcome measure(s): Serum lactate levels were measured before and 5, 10, and 15 minutes after exercise and CK levels before and 5 minutes after exercise.

Results: The number of repetitions ($p = 0.8965$), RM ($p = 0.9915$), and duration of fatigue ($p = 0.8424$) were similar among the groups. Post-fatigue laser treatment significantly decreased the serum lactate concentration relative to placebo treatment ($p < 0.01$) and also within the group over time (after 5 min vs. after 10 and 15 minutes, $p < 0.05$ both). The CK level was lower in the post-fatigue laser group ($p < 0.01$).

Conclusions: Laser application either before or after fatigue reduced the post-fatigue concentrations of serum lactate and CK. The results were more pronounced in the post-fatigue laser group.

Key Words: Low-level laser therapy (LLLT), high-intensity exercise, muscle fatigue, blood lactate

INTRODUCTION

Skeletal muscle fatigue (SMF) is an inevitable phenomenon in routine athletic training and competitions that can degrade performance and predispose the athlete to a variety of musculoskeletal disorders¹. Although SMF is also very common in

activities of daily life, the underlying mechanisms of its action and development and the best preventive measures remain unclear.² This type of damage may be transient, lasting only minutes or hours after exercise, but can also persist for several days. Some common features of SMF are decreases in muscle strength and motor control as well as muscle pain.³

Acute impairment of physical performance is attributable to metabolic disturbances that occur after high-intensity exercise.⁴ However, impairment of physical performance for several days may be related to tissue damage resulting from the exercise and the phenomenon known as delayed-onset muscle soreness (DOMS).⁵

SMF has central and peripheral components, the roles of which have recently been studied.⁶ The peripheral components that affect the production of muscle strength during physical activity are the type and intensity of exercise, the muscle groups involved, and the biochemical environment and physical location. Therefore, fatigue is a complex and multifaceted phenomenon involving physiological, biomechanical, and psychological elements.⁷

Age and gender are also important determinants of the ability to contract skeletal muscle and the tendency to develop fatigue.⁸ There is evidence that in males, the force of contraction decreases rapidly during the development of SMF.⁹

There are several types of muscle fatigue, and the contribution of each type to the decrease in muscle performance depends on the type of muscle fiber and the intensity and duration of the physical activity.¹⁰ One type of fatigue is caused by the accumulation of potassium ions (K^+) in the transverse tubular system in muscle fibers. The other major type is metabolic fatigue due to direct or indirect effects of the accumulation of metabolites (such as inorganic phosphate (P_i), adenosine

diphosphate (ADP), magnesium ions (Mg^{2+}), and reactive oxygen species (ROS) and the depletion of substrates (adenosine triphosphate [ATP], creatine phosphate, and glycogen).¹¹

Several variables have been used over the years to analyze performance, including maximal oxygen uptake ($VO_2\max$),^{12,13} the blood lactate concentration,^{14,15} and enzymatic activities¹⁶⁻¹⁸ as well as the rate of skeletal muscle fatigue.^{19,20}

Power generation decreases under the anaerobic conditions that inevitably occur during extensive exercise. Such conditions produce large amounts of ROS, which are known to cause mitochondrial depolarization and affect mitochondrial function and also to reduce strength.²¹ The accumulation of lactic acid in the muscle fiber cannot be solely responsible for the reduction in muscle performance, and its physiological role in fatigue remains controversial.²² Despite this, high-level monitoring of the concentration of lactic acid in the blood is still the main tool used to plan training programs in most sports.²³

Serum levels of muscle enzymes are markers of the functional state of muscle tissue and vary greatly under both physiological and pathological conditions. The initial increases in the levels of these enzymes are associated with cell necrosis and tissue damage after acute and chronic muscle injury.²⁴

Changes in serum levels of muscle enzymes and isoenzymes are also observed in healthy subjects and in athletes after strenuous exercise,^{25,26} and the levels of muscle tissue enzymes in the blood may be influenced by exercise.²⁷ The activity of creatine kinase (CK) measured in muscle biopsy samples changes during and after training sessions,²⁸ and serum CK changes according to the types and intensity of the training protocol.^{29,30}

CK levels are important in sports medicine because they provide information

about the current state of muscle integrity.³¹ For example, a high level of serum CK after exercise is normal in apparently healthy individuals. However, a persistently high level at rest may be a sign of subclinical muscle disease that could trigger the onset of symptoms of profound fatigue during or after physical activity.³²

A large number of therapeutic modalities are used in sports rehabilitation to accelerate muscle recovery after exercise; these include active recovery,³³⁻³⁵ cryotherapy,^{5,36,37} massage therapy,^{34,38,39} contrast baths (immersion in hot and cold water),^{40,41} hydrotherapy,⁴² stretching,³ hyperbaric oxygen therapy,⁴³ anti-inflammatory drugs (NSAIDs),⁴⁴ and electrostimulation.⁴⁵

Treatment of SMF is a new area of research for low-level laser therapy (LLLT), and the ideal parameters for the application are not yet fully understood.⁴⁶ LLLT has been used for the treatment of muscle pain in clinical settings, and some positive results were found for treatment of neck muscle pain⁴⁷ associated with conditions such as fibromyalgia⁴⁸ that may be related to SMF.

Lopes-Martins et al⁴⁹ observed that LLLT can slow the inevitable decline in maximal muscle contraction during electrically induced tetanic contraction. They used an InGaAlP laser diode with a wavelength of 655 nm (visible red) at doses ranging from 0.08 to 0.4 Joules (J); however, not all parameters of the application were described, and the choice of a relatively short wavelength might impede its application in humans.

One of the most important parameters of LLLT is the wavelength (λ), as this determines the depth of penetration and absorption of the laser energy and thus its effects. Longer wavelengths are absorbed in deeper layers of biological tissue, such as muscle tissue, while shorter wavelengths are absorbed more superficially. To date, primarily longer wavelengths (i.e., in the infrared range) have been used to

accelerate the recovery of fatigued muscles in both animals⁵⁰ and humans.⁴⁶

Studies in humans show a trend towards improvement in muscle performance in response to laser therapy; however, some researchers^{51,52} have reported that applying the laser before the fatigue-inducing exercise provides more satisfactory reduction of fatigue, while others^{53,54} have obtained meaningful improvements in performance with laser application after the induction of fatigue.

Decreasing muscle fatigue is now known to be an important way for high-performance and even amateur/recreational athletes to increase their performance levels naturally and is also valuable for persons with pathological conditions that increase fatigue.

Therefore, this study was performed to confirm that LLLT is a useful new treatment modality, elucidate the ideal conditions, and, especially, determine whether LLLT is best applied as a preventive measure or as a treatment for existing muscle fatigue. The effects of LLLT performed before and after fatigue on quadriceps muscle performance were examined by implementing a fatigue protocol to induce muscle fatigue of the lower limbs (LL) in human subjects, and the serum levels of CK and lactate were evaluated before and after the application of LLLT.

METHODS

Participants

The study was randomized, double-blind, and placebo-controlled and was approved by the Ethics Committee of UFMS. Before the start of the experiment, all volunteers were informed about the research procedures and signed the Declaration of Informed Consent in accordance with the Guidelines and Standards for Research Involving Human Subjects in the Resolution of the National Board of Health no.

196/96.

All volunteers were recruited from the professional soccer team Centro Esportivo Nova Esperança (CENE-MS) of Campo Grande, MS, Brazil. We used the following inclusion criteria: male sex, age from 15 to 25 years, playing football at the professional level, at least 4 years' experience practicing football, and training at least 5 days per week. The exclusion criteria were any prior musculoskeletal injury prior to the knee, hip, or ankle, participation in less than 80% of the football team's regular physical training, the use of any nutritional supplement or pharmacological agent, and the presence of any contraindication to the use of LLLT.

The data were collected at the Center Specializing in Sports Physiotherapy (CEFE) located in Clinica Orthos in February 2013.

Randomization procedure

Randomization was performed by a simple drawing of lots (A or B), which determined whether participants should receive the active LLLT or placebo treatment in the first session. The randomization was performed by an assistant who was not involved with the experiment. The code allocation key was given to a coach, who set the control unit of the laser to the active or placebo setting.

After this step, the technician handed the pre-set laser to the therapist. The technician was instructed not to communicate the type of treatment assigned to either the subject or the therapist. Therefore, the treatment allocation was hidden from the subjects, therapists, and observers.

Experimental groups

The 27 volunteers (Table 1) were randomly allocated into 3 groups ($n = 9$) as

follows:

Group A (placebo): 9 volunteers who underwent pre-exercise blood collection, the fatigue protocol, application of placebo LLLT, and post-exercise blood collection.

Group B (pre-fatigue laser): 9 volunteers who underwent pre-exercise blood collection, application of LLLT, the fatigue protocol (immediately after LLLT), and post-exercise blood collection (5 minutes after exercise).

Group C (post-fatigue laser): 9 volunteers who underwent pre-exercise blood collection, the fatigue protocol, application of LLLT (immediately after fatigue), and post-exercise blood collection (5 minutes after exercise).

Instrumentation

The volunteers received 2 sessions of low-intensity laser treatment (performed on days 1 and 8). We used a Gallium-Aluminum Arsenide (GaAlAs) Photon Laser Model DMC® III laser with 6 60-mW diodes arranged obliquely and operated in continuous mode under the following conditions: beam area of 0.0028 cm² power per point 0.6-J (diode), total energy per leg per session of 25.2 J (total of 50.4 J), 42 application points per leg (total 84 points), an energy density (fluence) of 214.28 J/cm², a power density of 21.42 W/cm², and an application time per leg of 70 seconds (total of 140 seconds for the 2 legs). The belly of the quadriceps muscle was irradiated. We initially defined an area 10 cm below the anterior superior iliac spine as the location of the first set of application points, and the other 6 locations were set to standardized points 5 cm below the initial marks (Figure 1). The irradiation was performed with the laser in direct contact with the skin, and the laser pen was kept stationary under slight pressure at an angle of 90° to the surface of the skin.

Experimental protocol

Evaluation period

The exercise protocol was performed in a standardized manner. The volunteers performed the exercises in a seated position and in the same pattern at the same time of day (to control for effects of the circadian rhythm). The exercise and samples collection were repeated during 2 separate sessions (days 1 and 8), which were held on the same day of the week (Monday) and at the same time of day (8:30 to 11:30 AM). No strenuous physical activity was permitted during the weekend before the test.

Fatigue protocol

In each session (days 1 and 8) of the study, the baseline lactate and CK concentrations were measured first in each volunteer. Immediately afterward, all 27 volunteers were subjected to a series of stretching exercises involving all major muscles of the lower limbs (2 sets of 60 seconds for each muscle group).

Then, each volunteer was positioned in knee extension with the knee and hip flexed at 90°. Using the weight load free of knee extension, each subject was tested to determine the maximum load (1 RM). Then, the subject was instructed to perform a full extension of the knee (90° to 0°) at 75% of the maximum load. Failure to extend the knee fully (to 0°) was recorded as quadriceps muscle fatigue. A goniometer was connected during leg extension to measure the angle of extension. The number of repetitions of the exercise fatigue test performed was counted by an observer, and the total time to complete the effort was measured by a second observer. The 2 observers were blinded to the participants' group allocations (A, B, or C). Repetitions began in the position of knee flexion (90°) and ended in maximum extension (0°).

Blood samples and analysis of the creatine kinase (CK) level

To measure the serum CK levels, the ventral side of the dominant arm was cleaned and blood samples were collected aseptically. All blood collection procedures were performed by a qualified nurse (who was blinded to the group allocation). The samples were collected before and 5 minutes after the fatigue protocol. The blood was analyzed in the laboratory using infrared spectrophotometry.

Blood samples and analysis of the lactate concentration

Blood samples for analysis of lactate were collected aseptically from the cleaned second finger of the dominant arm. The samples were collected before and 5, 10, and 15 minutes after the fatigue protocol. The samples were collected using the soft Accu-Check (Clix®) apparatus and analyzed immediately using a portable lactate analyzer (Accutrend®).

Statistical analysis

The measured variables were expressed as the mean $\pm$ standard deviation. The results were tabulated in order to examine the distribution of the values of the variables among the various groups. Between-group comparisons were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with the Tukey post hoc test for the parameters with normally distributed values and the Kruskal-Wallis test with Dunn's post hoc test for the parameters with non-normally distributed values. The normality was tested using the Shapiro-Wilk test. A p value of ≤ 0.05 was considered to indicate statistical significance. The data were organized using Microsoft Office Excel 2010, and statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5.0.

RESULTS

The study included 27 volunteers, all of whom were healthy young male football players who met the inclusion criteria. No volunteer was excluded. Table 1 shows the clinical data (age, height, and weight) of the subjects; the lack of significant differences in these parameters among the groups demonstrates the homogeneity of the sample.

The number of repetitions performed in each session (days 1 and 8) did not differ significantly among the groups. While the number of repetitions increased between days 1 and 8 in the post-fatigue laser group but not in the placebo group, this difference was not significant. The time to fatigue did not differ significantly among the groups during either session (days 1 and 8), and in fact the values were very similar among the groups. Likewise, the variable RM 75% did not differ significantly among the 3 groups (Table 2).

The lactate levels are compiled in Table 3 and shown in Figure 2. Inter-group analysis showed significant reductions in the lactate levels 10 and 15 minutes after fatigue in the post-fatigue laser group versus the placebo group ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively) during the first session (day 1). Note also the reduction in the lactate level 15 minutes after fatigue in the post-fatigue laser group relative to the placebo group (Figure 3). Pre-fatigue laser treatment tended to reduce the lactate levels 10 and 15 minutes after fatigue, but these differences were not significant.

Intra-group analysis (Figures 4 and 5) showed a sudden increase in the lactate concentration in the placebo group between the pre-exercise and 5 minutes post-exercise measurements, and the high lactate concentration persisted for 10 minutes ($p < 0.05$) and remained high 15 minutes after exercise during the first (day 1) and second (day 8) sessions.

Intra-group assessment of the pre-fatigue laser group showed noticeable but

not significant reductions between the lactate concentration measured 5 minutes after exercise and those measured 10 and 15 minutes after exercise during the first (day 1) session. During the second session (day 8), the lactate concentration decreased significantly between the 5-minute and 10 and 15-minute post-exercise measurements (Figures 6 and 7).

Intra-group assessment of the lactate concentrations in the post-fatigue laser group showed significant reductions between the 5-minute and 10- ($p < 0.01$) and 15-minute ($p < 0.001$) post-exercise measurements during the first session (day 1) (Figure 8) and also between the 5-minute and 10- ($p < 0.01$) and 15-minute ($p < 0.001$) post-exercise measurements during the second session (day 8) (Figure 9). The serum levels of CK are shown in Table 4. Inter-group analysis showed significant reductions in the CK concentration in the post-fatigue laser group relative to the placebo ($p < 0.01$) and pre-fatigue laser ($p < 0.05$) groups during the second session (day 8) (Figure 10).

DISCUSSION

LLLT is currently one of the most-used biostimulatory techniques in rehabilitation practice. However, there is insufficient and largely contradictory scientific and clinical evidence for its use, justifying the performance of research concerning physical therapy.¹⁸

Therefore, the present study aimed to investigate the effect of LLLT performed before and after fatigue on quadriceps muscle performance by assessing serum levels of lactate and CK.

The literature includes several studies in animals^{49,55} and humans^{50,54} that demonstrate positive effects of LLLT during the acute and chronic phases of

inflammatory diseases.⁵⁶ However, muscle fatigue and post-exercise recovery are new areas of LBI research, and few studies have been conducted on this subject. To our knowledge, this is the first study to compare the effects of LLLT applied before and after exercise.

This issue has been explored in experimental animals^{49,55} with results suggesting that LLLT increases aerobic capacity according to analysis of lactate and enzyme activity levels.

Lopes-Martins et al⁴⁹ investigated the effects of prior stimulation with LBI on muscle fatigue induced by electrical stimulation and tetanic contraction in 32 Wistar rats. The animals were divided into 4 groups that received different doses (0.5, 1.0, or 2.5 J/cm² or no treatment). The 0.5 and 1.0-J/cm² doses reduced CK levels and were therefore presumed effective for the prevention of muscle fatigue.

Previously, Sussai et al⁵⁵ evaluated the effect of laser treatment on 20 male Wistar rats divided into 2 groups (control and laser) that were subjected to a water exercise-based fatigue program. We observed better results in terms of the reduction of CK levels after 24 hours and 48 hours in the group that underwent laser application after fatigue; a 660-nm InGaAlP laser with a fluence of 133.3 J/cm² and a potency of 100 mW was used.

The interaction of laser energy with biological tissues can trigger bioenergetic and proliferative effects on cellular and molecular levels. The cellular photoreceptors are located primarily in the mitochondrial respiratory chain,^{57,58} and laser treatment has accordingly been reported to increase the respiratory rate and mitochondrial ATP synthesis.⁵⁹⁻⁶¹ However, there is disagreement in the literature as to whether the laser is most effective when applied before or after muscle fatigue. There are reports that the bioenergetic effects are most pronounced after the tissue has been subjected to

oxidative stress, as this increases the responsiveness of the receptors. Furthermore, animal studies^{62,63} indicate that LLLT can act locally to prevent ischemic muscle damage by decreasing the activity of CK and the re-release of ROS while increasing the levels of antioxidants and heat-shock proteins.

The present study was performed to compare the effects of laser treatment among groups (placebo, pre-fatigue laser, and post-fatigue laser) in order to elucidate whether laser therapy is more effective when applied before or after fatigue. We found that laser treatment decreased the serum CK and lactate levels versus placebo treatment in both groups, but the effect was more significant in the post-fatigue laser group.

The optimal parameters for laser treatment (such as power, irradiation time, dose, etc.) are another topic of disagreement. The studies performed thus far do not support any conclusion as to the ideal conditions for reducing or delaying muscle fatigue, leaving a gap in our knowledge regarding the best “therapeutic window” for avoiding muscle fatigue.

With respect to the wavelength, the first important point is that irradiation with infrared laser (904 nm) produced a dose response similar to that for red laser (655 nm). This finding agrees well with the results of previous *in vivo*⁶⁴ and human⁶⁵ studies and suggests that the anti-inflammatory effects of laser irradiation are not wavelength-dependent. The use of longer wavelengths (808, 830, or 904 nm) has been suggested because of the greater depth of penetration and absorption of the photons emitted by long-wavelength lasers.⁵⁰ In the present study, we used a wavelength of 808 nm to stimulate the quadriceps muscles, as longer wavelengths should be better absorbed by this deep muscle group.

Care was taken in standardizing the evaluation and implementing the fatigue

protocol. The exercises were performed under standard conditions and at the same time of day to control for the effects of the circadian rhythm. The performance and evaluation of exercise and fatigue were also repeated in 2 sessions (day 1 and day 8) held on the same day of the week in order to avoid the systemic and cumulative effects of laser irradiation and also to avoid the volunteers' getting used to the exercises, which could influence their implementation.

Some studies that investigated the effect of LBI on the performance of muscular men undergoing physical exercise found no significant improvements.^{1,51} However, other studies with similar methodologies found highly relevant reductions in fatigue and improvements in muscle performance.^{46,52} After perusing the fluence and number of points of application and the total energy supplied to the muscle in previous studies,^{1,46,51,52} we decided to use a total energy similar to that used in the study by Leal-Junior et al,¹ which was 40 J. We used a lower fluence (214.28 J/cm² vs. 1428.57 J/cm²) and a higher total number of application points (84 points vs. 10 points) in order to optimize the distribution of power throughout the quadriceps muscle (Figure 1).

One way to evaluate the improvement in voluntary muscle performance in the present study was to record the number of contractions and maximum load (75%) tolerated and the time to fatigue. However, none of these variables differed significantly among the groups, although there was a trend toward improvement in the 3 above-mentioned variables in the groups subjected to laser irradiation.

Other methods of assessment used in this study were analysis of the kinetics of fatigue according to the levels of markers of biomechanics (lactate) and muscle damage (CK). This randomized, double-blind, placebo-controlled study showed significantly lower levels of these markers, indicating reduction in exercise-induced

fatigue. We suggest that the improvements in performance provided by the physical action of LLLT resulted from the lower activity of CK, increased levels of antioxidants, and improved microcirculation and lactate removal.

Inter-group assessment of the marker lactate showed the expected increase 5 minutes post-exercise in all groups and significant reductions in the post-fatigue laser group after 10 and 15 minutes. Analysis of the pre-fatigue laser group showed a trend toward reductions in the lactate level after 10 and 15 minutes, but these changes were not significant for the first or second session (days 1 and 8). These results demonstrate that laser application after fatigue is more effective for removing blood lactate.

The lactate values observed in the placebo group were extremely high 10 and 15 minutes after the execution of the exercises. Note also the reduced lactate levels after 10 and 15 minutes in the pre-fatigue laser group during the second session (day 8) and the post-fatigue laser group during both sessions (days 1 and 8).

The blood lactate levels showed consistent and significant reductions in all irradiated groups. Serum lactate was not measured in previous studies in animals, such as the study by Lopes-Martins et al⁴⁹ using a 655-nm laser. However, small reductions in lactate levels were observed in the studies by Leal-Junior et al⁶⁶ and Leal-Junior et al⁶⁷ using 2 light-emitting diodes (LEDs) with wavelengths of 810 and 660 nm, indicating a slight inhibition of the increase in the level of blood lactate after exhaustive exercise.

The role of the lactate level in the development of skeletal muscle fatigue is controversial. However, acidity during excitation-contraction coupling can impair neuromuscular transmission and hence the ability of muscle to contract. Some studies⁶⁸ have shown that increasing the concentration of H⁺ inhibits the binding of

Ca²⁺ to troponin and can thus affect the interaction between the contractile proteins.

Several factors could be responsible for the inhibition of the expected post-contraction increase in blood lactate levels in all irradiated groups. As laser irradiation can improve microcirculation,⁶⁹ another possible mechanism of the reduction in the lactate concentration by laser irradiation may be related to the prevention of muscle ischemia at the cellular level.

An increase in serum CK activity after exercise is considered an early marker of muscle injury and has been used to avoid overtraining.⁷⁰

In our study, we observed reductions in the levels of CK in the pre-fatigue and post-fatigue laser groups, but the reduction was significant for the pre-fatigue laser group only during the second session (day 8). The decrease in CK activity after active LLLT may be related to the protective effect of laser irradiation against the development of muscle ischemia. Laser treatment also reduces the release of ROS and creatine phosphokinase activity but augments the levels of antioxidants and heat-shock proteins.^{62,63} These results are interesting in light of the report by Stephenson and Ortenbland⁷¹ that intense muscle exercise under anaerobic conditions generates large amounts of ROS, leading to depolarization and reduction in strength.

Previous studies^{72,73} have also demonstrated that LLLT can stimulate the mitochondrial respiratory chain and ATP synthesis. These effects may in turn contribute to the decreased activity of CK and delayed development of fatigue observed in the present study. Some evidence suggests that other therapies, such as massage and contrast baths (hot and cold), can prevent muscle damage after exercise. However, cryotherapy (cold water immersion) did not decrease the levels of biochemical markers of muscle damage and inflammation after exercise in previous

studies.^{74,75}

In addition to the previous hypotheses, the present study explored 3 other possible physiological mechanisms of the improvement of human exercise performance by LBI. All are based on the importance of mitochondria in cellular energy production.

There is strong evidence in the scientific literature that the effect of LBI is closely associated with the mitochondria. LIB promotes mitochondrial growth and/or the fusion of smaller mitochondria to form giant mitochondria and thereby increases the tissue density of mitochondria.^{59,76} Mitochondria contain the major machinery for the aerobic production of ATP.^{59,76} Although these organelles play a key role in the energy production necessary for resistance training and low-intensity exercise,⁷⁷⁻⁷⁹ they may also increase the availability of energy during high-intensity exercise, such as that investigated in this study. This phenomenon is based on the hierarchical recruitment of muscle fibers. As the intensity of exercise increases, muscle fibers are invariably recruited in the following order: Type I (oxidative), type II (glycolytic and oxidative), and, finally, type IIx (glycolytic).⁸⁰ Therefore, aerobic energy production (oxidative) is supplemented by anaerobic energy production (glycolysis) as exercise becomes more intense.⁸¹

The second hypothesis for the improvement in muscle performance in healthy volunteers who underwent laser treatment is the integration between the production of ATP by aerobic and anaerobic respiration, as described by Tonkonogi and Shalin.⁷⁸ This mechanism involves the regeneration of phosphocreatine by mitochondrial creatine-dependent phosphate shuttling, which is highly active in muscle fibers with oxidative characteristics.⁷⁸ This transport system captures the creatine, ADP and inorganic phosphate produced by the use of ATP in muscle contraction and

transports them through the inner membrane of the organelle to the mitochondrial matrix via the adenine nucleotide translocase. The ATP produced by oxidative phosphorylation travels the same path but in reverse, supplying power for the regeneration of phosphocreatine in the active muscle. This regeneration is catalyzed by muscle CK. At the same time, the use of phosphocreatine generates muscle creatine, ADP, and inorganic phosphorus. While the ADP and inorganic phosphorus follow the path indicated above, creatine is transported into the inter-membrane spaces of the muscle mitochondria, where mitochondrial CK catalyzes the regeneration of phosphocreatine using ATP produced by oxidative phosphorylation. Ultimately, phosphocreatine is transported to the site of muscle contraction, providing the energy needed to continue the contractile activity and increasing the ATP/ADP ratio.⁷⁸

The increases in mitochondrial density and/or enzymatic machinery for the production of ATP by LBI^{59,76} likely increase the regeneration of phosphocreatine. The regeneration of phosphocreatine, which in the context of high-intensity exercise occurs mainly during rest breaks, could provide some of the energy required for the next series of muscle contractions by regenerating the ATP used during the training session as part of an open or closed kinetic chain.

A third hypothesis to explain the improvement in muscle performance in subjects undergoing laser therapy is the active removal and oxidation of the lactic acid produced during anaerobic exercise, as metabolic acidosis can cause muscle fatigue.^{82,83} The formation of lactic acid in the cytosol of muscle fibers is due to the reduction of pyruvate to lactate catalyzed by cytosolic lactate dehydrogenase (LDH) and occurs mainly during anaerobic exercise and strength training. The lactate is then transported to the mitochondrial matrix by conveyors of monocarboxylic acids

and is oxidized by means of NAD^+ , mitochondrial lactate dehydrogenase, and pyruvate. The reduced NAD (NADH) is oxidized in the electron transport chain and provides the electrons and protons required for the aerobic production of ATP. Pyruvate in turn is oxidized as part of the Krebs cycle to acetyl coenzyme A (acetyl-CoA), which continues to be oxidized to produce ATP aerobically through the electron transport chain.^{82,83}

The present study has certain limitations, including the lack of evaluation of the blood for immune and inflammatory responses or metabolic enzymes such as LDH. Another limitation is that the temperature of the body, especially in the quadriceps area and the lower body in general, was not assessed for possible changes after laser therapy; however, the laser-treated volunteers did not report any sensation of warming.

Because this is a new area of research, more studies are needed to elucidate the ability of LLLT to delay muscle fatigue as well as to define the “therapeutic windows” for the application of LLLT for treatment of different clinical conditions (e.g., fatigue, muscle damage, and fibromyalgia).

CONCLUSION

Laser treatment significantly reduced the serum lactate levels (in the pre-fatigue and post-fatigue laser groups) measured 10 and 15 minutes after exercise and also reduced the level of CK in the post-fatigue laser group only, indicating that LLLT can be effective for improving muscle performance.

REFERENCES

1. Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Baroni BM, Marchi T, Taufer D, Manfro DS, Rech M, Danna V, Grosselli D, Generosi RA, Marcos RL, Rsmos L, Bjordal JM. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci.* (2009); 24:857-63.
2. Green S, Langberg H, Skovgaard D, Bulow J, Kjaer M. Interstitial and arterial-venous [K⁺] in human calf muscle during dynamic exercise: effect of ischaemia and relation to muscle pain. *J Physiol.* (2000); 529:849-61.
3. Barnet A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med.* (2006); 36:781-96.
4. Westerblad H, Allen DG, Lannergren J. Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause? *News Physiol Sci.* (2002); 17:17-21.
5. Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med.* (2003); 33:145-64.
6. Almeida P, Lopes-Martins RAB, Marchi T, Tomazoni SS, Albertini R, Corrêa JCF, Rossi RP, Machado GP, Silva DP, Bjordal JM, Leal Junior ECP. Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? *Lasers Med Sci* (2011); 27(2):453-58.
7. Weir JP, Beck TW, Cramer JT, Housh TJ. Is fatigue all in your head? A critical review of the central governor model. *British J Sports Med.* (2006); 40:573-86.
8. Hurley BF. Age, gender, and muscular strength. *J Gerontol.* (1995); 50:41-4.
9. Szubski C, Burtcher M, Loscher WN. Neuromuscular fatigue during sustained contractions performed in short-term hypoxia. *Med Sci Sports Exerc.* (2007); 39:948-54.
10. Billaut F, Basset FA, Giacomoni M, Lemaitre F, Tricot V, Falgairette G. Effect of high-intensity intermittent cycling sprints on neuromuscular activity. *Inter J Sports Med.* (2006); 27:25-30.
11. Allen DG, Lamb GD, Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev.* (2008); 88:287-332.
12. Hautala AJ, Kiviniemi AM, Makikallio TH, Kinnunen H, Nissilä S, Huikuri HV, Tulppo MP. Individual differences in the responses to endurance and resistance training. *Eur J Appl Physiol.* (2006); 96:535-42.
13. Lafortuna CL, Proietti M, Agosti F, Sartorio A. The energy cost of cycling in young obese women. *Eur J Appl Physiol.* (2006); 97:16-25.
14. Santos EL, Neto GA. Comparison of computerized methods for detecting the ventilatory thresholds. *Eur J Appl Physiol.* (2004); 93:315-24.
15. Vieira WHB, Parizotto NA, Perez SEZ, Baldissera V, Schwantes ML, Costa FC. Effect of Low-Power Laser (LLL) on lactate dehydrogenase (glycolytic) and citrate

synthase (oxidative) activity in rats submitted to aerobic treadmill training. *J Photomed Laser Surg.* (2005a); 23(1):124.

16. Leek BT, Mudaliar SRD, Henry R, Mathieu-Costello O, Richardson RS. Effect of acute exercise on citrate synthase activity in untrained and trained human skeletal muscle. *Am J Physiol Reg Int Comp Physiol.* (2001); 280:441-47.

17. Siu PM, Donley DA, Bryner RW, Alway SE. Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *J Appl Physiol.* (2003); 94:555-60.

18. Vieira WHB, Goes R, Costa FC, Parizotto NA, Perez SEA, Baldissera V, Munin FS, Schwantes MLB. Adaptação enzimática da LDH em ratos submetidos a treinamento aeróbio em esteira e laser de baixa intensidade. *Rev Bras Fisio.* (2006); 9(3):377-83.

19. Pincivero DM, Gandaio CB, Ito Y. Gender-specific knee extensor torque, flexor torque, and muscle fatigue responses during maximal effort contractions. *Eur J Appl Physiol.* (2003); 89:134-41.

20. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *J Appl Physiol.* (2005); 98:804-9.

21. Nethery D, Callahan LA, Stofan D, Mattera R, Dimarco A, Supinski G. PLA₂ dependence of diaphragm mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Appl Physiol.* (2000); 89:72-80.

22. Friedmann B, Frese F, Menold E, Bartsch P. Effects of acute moderate hypoxia on anaerobic capacity in endurance-trained runners. *Eur J Appl Physiol.* (2007); 101:67-73.

23. Bourdin M, Messonnier L, Lacour JR. Laboratory blood lactate profile is suited to on water training monitoring in highly trained rowers. *J Sports Med and Phys Fit.* (2004); 44:337-41.

24. Slumilak D, Sulowicz W, Walatek B. Rhabdomyolysis: clinical features, causes, complications and treatment. *Przegl Lek.* (1998); 55:274-9.

25. Wolf PL, Lott JA, Nitti GJ, et al. Changes in serum enzymes, lactate, and haptoglobin following acute physical stress in international-class athletes. *Clinic Biochem.* (1987); 20:73-7.

26. Ide M, Tajima F, Furusawa K, et al. Wheelchair marathon racing causes striated muscle distress in individuals with spinal cord injury. *Arch Phys Med and Rehabil.* (1999); 80:324-7.

27. Boros-Hatfaludy S, Felete G, Apor P. Metabolic enzyme activity patterns in muscle biopsy samples in different athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* (1986); 55:334-8.

28. MacDougall JD, Hicks AL, MacDonald JR, et al. Muscle performance and

enzymatic adaptations to sprint interval training. *J Appl Physiol.* (1998); 84:2138-42.

29. Klapcinska B, Iskra J, Poprezeck S, et al. The effects of sprint (300 m) running on plasma lactate, uric acid, creatine kinase and lactate dehydrogenase in competitive hurdlers and untrained men. *J Sports Med Phys Fitness.* (2001); 41:306-11.

30. Szabo A, Romvári R, Bogner P, et al. Metabolic changes induced by regular submaximal aerobic exercise in meat-type rabbits. *Acta Vet Hung.* (2003); 51:503-12.

31. Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* (2007); 81-82:209-30.

32. Angelini C. Limb-girdle muscular dystrophies: heterogeneity of clinical phenotypes and pathogenetic mechanisms. *Acta Myol.* (2004); 23:130-6.

33. Ahmaidi S, Granier P, Taoutaou Z, et al. Effects of active recovery on plasma lactate and anaerobic power following repeated intensive exercise. *Med Sci Sports Exerc.* (1996); 28:450-6.

34. Martin NA, Zoeller RF, Robertson RJ, et al. The comparative effects of sports massage, active recovery, and rest in promoting blood lactate clearance after supramaximal leg exercise. *J Athl Train.* (1998); 33:30-5.

35. Baldari C. Lactate removal during active recovery related to the individual anaerobic and ventilatory thresholds in soccer players. *Eur J Appl Physiol.* (2004); 93:224-30.

36. Howatson G, Gaze D, Van Someren KA. The efficacy of ice massage in the treatment of exercise-induced muscle damage. *Scan J Med Sci Sports.* (2005); 15:416-22.

37. Sellwood KL, Brukner P, Williams D, et al. Ice-water immersion and delayed-onset muscle soreness: a randomised controlled trial. *Bri J Sports Med.* (2007); 41:392-7.

38. Weerapong P, Hume PA, Kolt GS. The mechanisms of massage and effects on performance, muscle recovery and injury prevention. *Sports Med.* (2005); 35:235-56.

39. Crane JD, Ogborn DI, Cupido C, et al. Massage therapy attenuates inflammatory signaling after exercise-induced muscle damage. *Sci Trans Med.* (2012); 4(119):1-9.

40. Coffey V, Leveritt M, Gill N. Effect of recovery modality on 4-hour repeated treadmill running performance and changes in physiological variables. *J Sci Med Sport.* (2004); 7:1-10.

41. Gill ND, Beaven CM, Cook C. Effectiveness of post-match recovery strategies in rugby players. *Bri J Sports Med.* (2006); 40:260-3.

42. Dowzer CN, Reilly T, Cable NT. Effects of deep and shallow water running on spinal shrinkage. *Bri J Sports Med.* (1998); 32:44-8.

43. Mekjavic IB, Exner JA, Tesch PA, et al. Hyperbaric oxygen therapy does not affect recovery from delayed onset muscle soreness. *Med Sci Sports Exer.* (2000);

32:558-63.

44. Baldwin LA. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs following exercise-induced muscle injury. *Sports Med.* (2003); 33:177-85.

45. Lattier G, Millet GY, Martin A, et al. Fatigue and recovery after high-intensity exercise. Part II: Recovery interventions. *Inter J Sports Med.* (2004); 25:509-15.

46. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Vanin AA, Baroni BM, Grosselli D, Marchi T, et al. Effect of 830 nm low-level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci.* (2009); 24:425-31.

47. Chow RT, Heller GZ, Barnsley L. The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain.* (2006); 124:201-10.

48. Gür A, Karakoc M, Nas K, Cevik R, Sarac J, Demir E. Efficacy of low power laser therapy in fibromyalgia: a single-blind, placebo-controlled trial. *Lasers Med Sci.* (2002); 17:57-61.

49. Lopes-Martins RA, Marcos RL, Leonardo PS, Prianti ACJ, Muscará MN, Aimire F, et al. Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J Appl Physiol.* (2006); 101:283-8.

50. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Frigo L, Marchi T, Rossi RP, Godoi V, et al. 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.* (2010); 40:524-32.

51. 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):501-6.

52. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, et al. Effect of 655-nm low level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg.* (2008a); 26(5):419-24.

53. Vieira WHB, et al. Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* (2011); 27(2):497-504.

54. Ferraresi C, et al. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers Med Sci.* (2011); 26:349-58.

55. 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); 25:115-20.

56. Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response* (2009); 7(4):358-83.

57. Karu TI. Laser biostimulation: a photobiological phenomenon. *J Photochem*

Photobiol. (1989); 3:638-9.

58. Karu TI, Manteifel UM. Increase in the number of contacts of endoplasmic reticulum with mitochondria and plasma membrane in yeast cells stimulated to division with He-Ne laser light. *J Photobiol Biol B.* (2004); 46:498-505.

59. Bakeeva LE, Manteifel VM, Rodichen EB, Karu TI. Formation of giant mitochondria in human blood lymphocytes after He-Ne laser irradiation. *Molr Biol.* (1993); 27(3):608-17.

60. Manteifel VM, Bakeeva LE, Karu TI. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. *J Photochem Photobiol B.* (1997); 38:25-30.

61. Karu TI. Photobiological fundaments of low-power laser therapy. *IEEE J Quantum Electronics QE.* (1987); 23(10):1703-17.

62. Avni D, Levkovitz S, Maltz L, et al. Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. *Photomed Laser Surg.* (2005); 23:273-7.

63. Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Corrêa DS, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med.* (2006); 38:704-13.

64. Albertini F, Villaverde AB, Aimbire F, et al. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B.* (2007); 89:50-5.

65. Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Iversen VV. A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *Br J Sports Med.* (2006); 40:76-80.

66. Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Baroni BM, Marchi T, Rossi RP, Grosselli D, Generosi RA, Godoi V, Basso M, Mancalossi JL, Bjordal JM. Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (Cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. *Photomed Laser Surg.* (2009); 27(4):617-23.

67. Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Rossi RP, 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 recovery in humans. *Laser Surg Med.* (2009); 41:572-7.

68. Chin ER, Allen DG. The contribution of pH-dependent mechanisms to fatigue at different intensities in mammalian single muscle fibres. *J Physiol.* (1998); 512:831-40.

69. Tullberg M, Alstergren PJ, Ernberg MM. Effects of low-power laser exposure on masseter muscle pain and microcirculation. *Pain.* (2003); 105:89-96.

70. Houmard JA, Costill DL, Mirchell JB, Park SH, Fink WJ, Burns JM. Testosterone, cortisol, and creatine kinase levels in male distance runners during reduced training. *Int J Sports Med.* (1990); 11:41-5.
71. Ortenblad N, Stephenson DG. A novel signaling pathway originating in mitochondria modulates rat skeletal muscle membrane excitability. *J Physiol.* (2003); 548(Pt 1):139-45.
72. Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol.* (2008); 84:1091-9.
73. Silveira PC, Silva LA, Fraga DB, Freitas TP, Streck EL, Pinho R. Evaluation mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B.* (2009); 95: 89-92.
74. Manteifel VM, Karu TI. Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in subsequent generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light. *Izv Akad Nauk Ser Biol.* (2005); 6:672-83.
77. Tonkonogi M, Walsh B, Svensson M, Shalin K. Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. *J Physiol.* (2000); 528(Pt2):379-88.
78. Tonkonogi M, Shalin K. Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev.* (2002); 30(3):129-37.
79. Shalin K, Mogense M, Bagger M, Fernstrom M, Pedersen PK. The potential for mitochondrial fat oxidation in human skeletal muscle influences whole body fat oxidation during low-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2007); 292(1):E223-E30.
80. Hodson-Tole EF, Wakeling JM. Motor unit recruitment for dynamic tasks: current understanding and future directions. *J Comp Physiol B.* (2009); 179(1):57-66.
81. Goreham C, Green HJ, Ball-Burnett M, Ranney D. High-resistance training and muscle metabolism during prolonged exercise. *Am J Physiol.* (1999); 276(3 Pt 1):E489-96.
82. Brooks GA, Dubouchaud H, Brow M, Sicurello JP, Butz CE. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1999); 96(3):1129-34.
83. Hashimoto T, Hussein R, Brooks GA. Colocalization of MCT1, CD147, and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2006); 290(6):E1237-44.

TABLES AND FIGURES

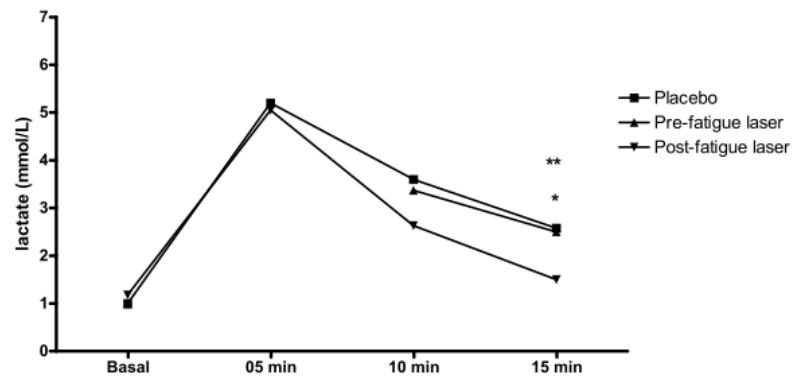


Figure 3. Evolution of lactate values for the groups in the second session (day 8) as the analysis time

* Placebo versus Post-fatigue laser: $p < 0.01$

** Pre-fatigue laser versus Post-fatigue laser: $p < 0.05$

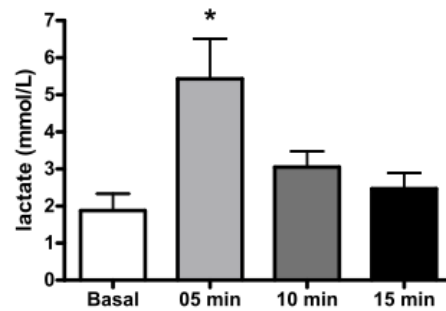


Figure 6. Comparison of lactate values for the group Pre-fatigue laser among various time points assessed during the first week (ANOVA, $p = 0.0041$)

* Basal versus 5 minutes: $p < 0.01$

+ Basal versus 10 minutes: $p < 0.001$

Basal versus 15 minutes: $p < 0.05$

** 5 minutes versus 10 minutes: $p < 0.05$

o 5 minutes versus 15 minutes: $p < 0.001$

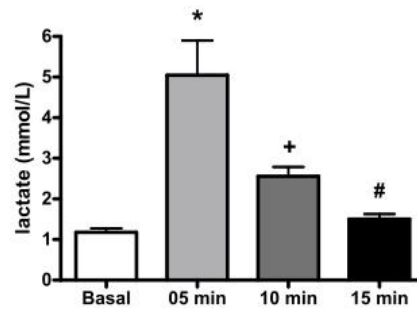


Figure 9. Comparison of lactate values for the group Post-fatigue laser among various time points assessed during the second week (ANOVA, $p < 0.0001$)

* Basal versus 5 minutes: $p < 0.001$
 + 5 minutes versus 10 minutes: $p < 0.01$
 # 5 minutes versus 15 minutes: $p < 0.001$

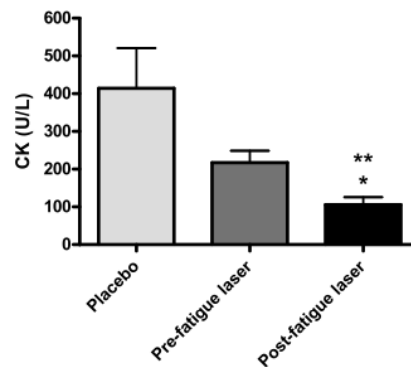


Figure 10. Comparison of creatine kinase after exercise between the various groups in the second week (Kruskal-Wallis test, $p = 0.004$)

* Pre-fatigue laser versus Post-fatigue laser $p < 0.05$
 ** Placebo versus Post-fatigue laser $p < 0.01$

Table 1. Comparison between mean ($\pm$ SD) values for age, height and weight of the subjects studied ($n = 27$).

	Placebo	Pre-fatigue laser	Post-fatigue laser	p
Age (years)	26.7 $\pm$ 11.0	19.6 $\pm$ 1.4	21.7 $\pm$ 8.0	0.2259
Height (cm)	1.77 $\pm$ 0.09	1.75 $\pm$ 0.09	1.76 $\pm$ 0.05	0.9177
Weight (Kg)	76.2 $\pm$ 9.9	67.0 $\pm$ 7.6	71.9 $\pm$ 8.4	0.0992

Table 2. Mean values $\pm$ standard deviation of the number of repetitions, time and RM 75% for the groups in different moments, Campo Grande, 2012 (N = 27)

FIRST SESSION				
	Placebo	Pre-fatigue laser	Post-fatigue laser	p
Number of repeats	39.9 $\pm$ 17.1	31.0 $\pm$ 11.2	28.7 $\pm$ 8.9	0.1704
Time	41.1 $\pm$ 14.7	36.0 $\pm$ 9.2	34.2 $\pm$ 7.9	0.3996
RM 75%	40.0 $\pm$ 10.3	40.6 $\pm$ 10.7	39.1 $\pm$ 11.3	0.9764
SECOND SESSION				
	Placebo	Pre-fatigue laser	Post-fatigue laser	p
Number of repeats	41.2 $\pm$ 18.2	37.8 $\pm$ 13.1	41.6 $\pm$ 17.4	0.8965
Time	40.4 $\pm$ 14.8	37.4 $\pm$ 9.6	37.8 $\pm$ 10.6	0.8424
RM 75%	41.7 $\pm$ 9.7	41.7 $\pm$ 13.7	42.2 $\pm$ 6.7	0.9915

Table 3. Mean values $\pm$ standard deviation of lactate levels for the groups in different periods evaluated (n = 27)

FIRST SESSION (DAY 1)				
	Basal	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Placebo	1.58 $\pm$ 0.99	5.09 $\pm$ 1.63	3.88 $\pm$ 1.24	3.04 $\pm$ 0.72
Pre-fatigue laser	1.88 $\pm$ 1.36	5.43 $\pm$ 2.87	3.05 $\pm$ 1.04	2.47 $\pm$ 1.04
Post-fatigue laser	1.46 $\pm$ 0.58	5.07 $\pm$ 2.79	1.87 $\pm$ 0.56	1.74 $\pm$ 0.36
SECOND SESSION (DAY 8)				
	Basal	5 minutes	10 minutes	15 minutes
Placebo	1.00 $\pm$ 0.27	5.20 $\pm$ 1.80	3.60 $\pm$ 0.90	2.58 $\pm$ 0.46
Pre-fatigue laser	0.99 $\pm$ 0.28	7.76 $\pm$ 2.69	3.37 $\pm$ 0.89	2.50 $\pm$ 0.69
Post-fatigue laser	1.18 $\pm$ 0.28	5.05 $\pm$ 2.07	2.63 $\pm$ 0.63	1.50 $\pm$ 0.31

Table 4. Mean values $\pm$ standard deviation values of creatine kinase (CK) for the groups evaluated at different moments. (n = 27)

	First Session (Day 1)		Second Session (Day 8)	
	Basal	After Exercise	Basal	After Exercise
Placebo	297.0±182.4	314.0±195.7	420.4±333.4	414.2±320.4
Pre-fatigue laser	239.4±53.3	248.2±52.9	205.9±95.6	217.3±94.6
Post-fatigue laser	234.6±141.3	238.8±142.8	289.0±228.8	106.5±65.2