

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFEITOS DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO, FADIGA E DANO MUSCULAR INDUZIDOS PELO EXERCÍCIO
FÍSICO**

THIAGO DE MARCHI

CAXIAS DO SUL, 2011

THIAGO DE MARCHI

**EFEITOS DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO,
FADIGA E DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia da Universidade
de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau
de Mestre em Biotecnologia
Orientadora: Profa. Dra. Mirian Salvador

CAXIAS DO SUL
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

M317e Marchi, Thiago de
Efeitos da laserterapia de baixa potência sobre o estresse oxidativo, fadiga e dano muscular induzidos pelo exercício físico / Thiago de Marchi. 2011.
73 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2011.
“Orientação: Profª. Drª. Mirian Salvador”

1. Raios laser - Terapia. 2. Dano muscular. 3. Fadiga muscular.
4. Exercícios físicos. I. Título.

CDU : 615.849.19

Índice para catálogo sistemático:

1. Raios laser - Terapia	615.849.19
2. Dano muscular	612.746
3. Fadiga muscular	613.73
4. Exercícios físicos	796

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Kátia Stefani – CRB 10/1683

THIAGO DE MARCHI

**EFEITOS DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO, FADIGA E DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO
FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia da Universidade de
Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de
Mestre em Biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Mirian Salvador

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 10 DE OUTUBRO DE 2011.



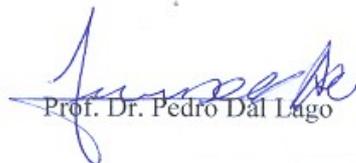
Profa. Dra. Mirian Salvador



Profa. Dra. Mariana Roesch Ely



Profa. Dra. Norma Anair Possa Marroni



Prof. Dr. Pedro Dal Lago

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
Biblioteca Central

AGRADECIMENTOS

Ao final deste trabalho, gostaria de agradecer:

Primeiramente a **Deus**.

À minha orientadora Profa. Dra. **Mirian Salvador**, pela confiança, estímulo e auxílio para a realização deste trabalho em todos os momentos.

Ao professor e grande amigo Dr. **Ernesto Cesar Pinto Leal Junior**, pela importante contribuição não só neste trabalho como também em muitos outros momentos. Se não fosse você, possivelmente eu não estaria escrevendo esses agradecimentos. Muito Obrigado.

A todos os colegas e amigos do **Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes**, que trabalharam como uma verdadeira equipe. Todos contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Agradeço especialmente à ex-bolsista de iniciação científica **Celiana Bortoli**, por ter me auxiliado em muitas etapas do trabalho, nunca hesitando em disponibilizar o seu tempo para ficar no laboratório.

À **Shaiane da Silva Tomazoni** por todas as contribuições e auxílio especialmente na realização das coletas.

A todos os colegas e amigos do **Instituto de Medicina do Esporte** da Universidade de Caxias do Sul, em especial a **Juliano Augusto Ziembowicz** e **Luciana Maria Machado**, por toda a colaboração.

Às bolsistas de iniciação científica **Bárbara Segalotto Costa**, **Thamiris Becker Scheffel**, **Gabriela Gambato**, **Joanna Carra Anghinoni**, **Caroline Calloni**, **Ivana Giasson**, pela dedicação e auxílio.

Agradeço aos colegas **Gustavo Scola**, **Adriana Dalpicolli Rodrigues**, **Giovana Bortolini**, **Fabiane Michelin**, **Cátia dos Santos Branco** e **Patrícia Spada** pelo incentivo e apoio em todos os momentos da realização deste estudo.

À comissão de acompanhamento, Dra. **Mariana Roesch Ely** e Dr. **Maurício Moura da Silveira**, pelas indispensáveis sugestões e críticas.

Aos professores Dra. **Norma Anair Possa Marroni** e Dr. **Pedro Dal Lago** pelas contribuições e avaliação final do trabalho.

A **todos os voluntários** que aceitaram participar da pesquisa, tornando possível a realização deste estudo.

Aos meus irmãos **Felipe Luis De Marchi** e **Carolina De Marchi** pelo apoio constante e por toda a torcida em meu favor.

Aos meus Pais, **Nilton De Marchi** e **Marta Regina De Marchi** por todo o seu tempo, amor e apoio incondicional.

À minha família, **Fernanda de Lemos Ramos**, **Arthur Ramos De Marchi** e a pequena **Sophia Ramos De Marchi**, por todo o incentivo, paciência, amor e apoio, indispensáveis ao sucesso deste trabalho.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE ABREVIATURAS	8
RESUMO	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Laserterapia.....	14
2.2 Estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	18
2.2.1 Espécies reativas no exercício.....	22
2.3 Exercício físico e dano muscular	24
3. OBJETIVOS.....	28
3.1. Objetivo geral.....	28
3.2. Objetivos específicos	28
4. RESULTADOS	29
Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status and oxidative stress.....	30
5. DISCUSSÃO GERAL.....	36
6. CONCLUSÕES	40
7. PERSPECTIVAS.....	41
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
9. ANEXOS	58
ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	59
ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO DE SAÚDE OCUPACIONAL	62
ANEXO 3 - CURRICULUM LATTES DO CANDIDATO.....	64
ANEXO 4 - PUBLICAÇÕES DO CANDIDATO NO PERÍODO DO CURSO.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figure 1	a) Treatment points in knee extensor muscles b) Treatment points in knee flexor and ankle plantiflexor muscles.....	31
Figure 2	Pre and post-exercise activitiy of lactate dehydrogenase (a) in active LLLT (b) and in placebo group. * Statistical significance from pre to post-exercise levels using the software SPSS 18.0 for Windows.....	33
Figure 3	Pre and post-exercise activity of creatine kinase (a) in active LLLT (b) and in placebo group. * Statistical significance from pre to post-exercise levels using the software SPSS 18.0 for Windows.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Intervalo de referência da creatino quinase em homens e mulheres.....	27
Table 1	LLLT characteristics and application mode.....	32
Table 2	Performance in progressive-intensity running exercise.....	32
Table 3	Pre and post-exercise levels of oxidative damage markers.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

AsGaAl	arseneto de gálio e alumínio
AsGa	arseneto de gálio
ATP	adenosina trifosfato
Cat	catalase
CK	creatina quinase
CK-MM	isoforma da creatina quinase
CK-MB	isoforma da creatina quinase
CK-BB	isoforma da creatina quinase
COX2	ciclooxigenase 2
DNA	ácido desoxirribonucléico
ECSod	superóxido dismutase extracelular
ER	espécies reativas
ERA	área de irradiação efetiva
GPx	glutathione peroxidase
HeNe	hélio neônio
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
IL-1 β	interleucina-1 Beta
kDa	kilodaltons
LASER	<i>light amplification by stimulated emission radiation</i>
LBP	laserterapia de baixa potência
LDH	lactato desidrogenase
MDA	malondialdeído
mM	millimolar
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma reduzida)

NADP	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (forma reduzida)
nm	nanômetros
NO	óxido nítrico
PC	proteínas carboniladas
PGE ₂	prostaglandina E2
pH	potencial hidrogeniônico
RL	radical livre
Sod	superóxido dismutase
SodCuZn	superóxido dismutase cobre zinco
SodMn	superóxido dismutase manganês
TBARS	espécies reativas ao o ácido tiobarbitúrico
TNF α	fator de necrose tumoral alfa
U.L ⁻¹	unidade por litro
VO _{2 max}	consumo máximo de oxigênio
VO ₂	consumo de oxigênio
XDH	xantina desidrogenase
XO	xantina oxidase
μ M	micromolar

RESUMO

A busca pela melhora na performance e diminuição dos danos causados pelos exercícios de alta intensidade está em evidência na literatura mundial. Nesse contexto, recursos terapêuticos como a Laserterapia de Baixa Potência (LBP) vêm sendo estudado com o objetivo de minimizar a fadiga e possíveis danos musculares. Em vista disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da LBP sobre o estresse oxidativo, a fadiga muscular, o desempenho físico em corrida de intensidade progressiva e marcadores bioquímicos de dano muscular em humanos. Para isso, foi realizado um ensaio clínico randomizado, cruzado, duplo-cego e placebo-controlado, com 22 voluntários do sexo masculino, não treinados. A aplicação do laser (810nm, 200 mW, 30 J e 30 segundos de irradiação em cada ponto de aplicação) foi realizada 5 minutos antes da execução do protocolo de exercício de intensidade progressiva, utilizando-se de um conjunto multi-diodo (cluster que possui cinco diodos de emissão de energia – 6 J de cada ponto) em 12 locais de cada membro inferior (6 no quadríceps, 4 em isquiotibiais e 2 no gastrocnêmio). Os indivíduos seguiram um protocolo progressivo padronizado, correndo em esteira ergométrica até a exaustão. Anteriormente e posteriormente à realização do exercício, foram coletadas amostras sanguíneas destinadas à mensuração de danos oxidativos (peroxidação lipídica e proteínas carboniladas), atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (Sod) e catalase (Cat) e avaliação indireta de dano muscular pela creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Além disso, avaliou-se, ainda, o desempenho no protocolo de exercício (VO_2 max, tempo de exaustão). Os resultados obtidos mostram que a aplicação de LBP diminuiu significativamente os danos oxidativos (peroxidação lipídica (TBARS) – $p= 0,0001$, proteínas carboniladas – $p= 0,02$), a atividade da Sod ($p=0,003$), da CK – $p= 0,0004$ e da LDH – $p= 0,0002$, além do aumentar o desempenho do exercício (VO_2 max – $p= 0,01$ e o tempo total de exaustão – $p= 0,04$). No entanto, a atividade da Cat não mostrou alterações com a aplicação efetiva de laserterapia ($p= 0,17$). Assim, a aplicação de LBP antes da execução de exercícios de intensidade progressiva diminuiu o estresse oxidativo e a lesão muscular induzidos pelo exercício e aumentou o desempenho físico dos indivíduos, sugerindo que a diminuição do estresse oxidativo, pode contribuir, ao menos em parte, para a redução da fadiga muscular induzida por exercícios de intensidade progressiva.

Palavras-Chave: laserterapia de baixa potência, dano muscular, estresse oxidativo, exercício de intensidade progressiva.

ABSTRACT

The search for improved performance and damage decrease caused by high-intensity exercise is in evidence in the literature. In this context, therapeutic resources such as low-level laser therapy (LLLT), has been studied in order to minimize fatigue and possible muscle damage. The objective of this work was to evaluate the effects of LLLT in oxidative stress, skeletal muscle fatigue and exercise performance in progressive-intensity running exercise in treadmill, and in biochemical markers of muscle damage in humans. A randomized double-blind placebo-controlled crossover trial was performed with 22 untrained male volunteers. LLLT was performed 10 minutes before progressive-intensity running protocol (810 nm, 200 mW, 30 J in each site, 30 seconds of irradiation in each site), employing a multi-diode cluster (with 5 diode spots - 6 J from each spot) in 12 sites of each lower limb (6 in quadriceps, 4 in hamstrings, and 2 in gastrocnemius). Subjects performed a standardized progressive running protocol in a motor-drive treadmill until exhaustion. Pre-exercise and post-exercise measurements were taken to evaluate oxidative stress (Lipidic Peroxidation and Carbonylated Proteins), antioxidants enzymes (Sod and Cat) and muscle damage (CK and LDH). Exercise performance ($VO_{2\text{ max}}$, time to exhaustion) was also analysed. Compared to placebo LLLT, active LLLT significantly decreased change in biochemical markers of oxidative stress (Lipidic Peroxidation (TBARS) - $p= 0.0001$, Carbonylated Proteins - $p= 0.02$), antioxidant enzyme Sod ($p=0.003$) and muscle damage (CK - $p= 0.0004$, LDH - $p= 0.0002$), increased exercise performance ($VO_{2\text{ max}}$ - $p= 0.01$, time to exhaustion - $p= 0.04$). However no changes were observed for antioxidant enzyme Cat with active LLLT ($p= 0.17$). We conclude that LLLT before progressive-intensity running exercise decreased oxidative stress and muscle damage induced by exercise and increased physical performance of individuals, suggesting that the decrease in oxidative stress may contribute, at least in part, to the reduction of muscle fatigue induced by exercise of progressive intensity.

Keywords: low-level laser therapy, muscle damage, oxidative stress, progressive-intensity exercise.

1. INTRODUÇÃO

Radicais livres (RL) são espécies químicas (átomos ou moléculas) que possuem um elétron desemparelhado na sua camada de valência. Essa situação lhes confere alta reatividade química, especialmente como agente oxidante, com o intuito de adquirir o segundo elétron para estabilizar o seu orbital. Os RL estão envolvidos na fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto, quando em excesso, podem causar estresse oxidativo, o que está relacionado a várias doenças como, por exemplo, aterosclerose, câncer e doenças neurodegenerativas (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Embora as atividades físicas de baixa e moderada intensidade tragam vários benefícios à saúde, sabe-se que o exercício, quando praticado em alta intensidade (até a exaustão), pode causar danos e diminuir o rendimento do indivíduo (Gomez-Cabrera *et al.*, 2008). Isso ocorre, em parte, pelo aumento do fluxo de oxigênio muscular em até 100%, gerando um aumento da produção de RL (Almar & Villa, 2002). Esse fenômeno leva ao aumento dos níveis de peroxidação lipídica e de danos a proteínas, além da diminuição da função contrátil dos grupamentos musculares e a produção da fadiga (Urso *et al.*, 2003).

A fadiga é definida como a impossibilidade de gerar uma força requisitada ou esperada, produzida ou não por um exercício precedente (Terrados & Fernández, 1997). Muitas ferramentas têm sido utilizadas para evitar a fadiga muscular, tanto em indivíduos saudáveis, como em situações patológicas como, por exemplo, a administração de suplementos nutricionais como a vitamina C (Thompson *et al.*, 2001), creatina (Mujika & Padilla, 1997) e arginina (Meneguello *et al.*, 2003), bem como a reposição de fluidos (Coyle, 2004).

A laserterapia de baixa potência (LBP) consiste na aplicação de luz utilizando-se um equipamento de laser ou diodo emissor de luz e vem sendo utilizada para reabilitação de lesões, promoção da regeneração tecidual, redução da inflamação e o alívio da dor em geral (Huang *et al.*, 2009). O estudo dos efeitos da LBP sobre a fadiga muscular é uma nova área de pesquisa e atualmente, têm se observado efeitos da LBP em diversas patologias, como a osteoartrite (Ozdemir

et al., 2001), tendinopatias (Stergioulas *et al.*, 2008), cicatrização de feridas (Caetano *et al.*, 2009), dores nas costas (Basford *et al.*, 1999) e no pescoço (Chow *et al.*, 2006), lesões nervosas periféricas (Rochkind *et al.*, 2007) e acidente vascular cerebral (Zivin *et al.*, 2009).

A LBP mostrou, também, ser capaz de minimizar o estresse oxidativo após lesão muscular induzida por trauma mecânico em ratos (Rizzi *et al.*, 2006). Além disso, observou-se que a aplicação de LBP diminui a fadiga e o dano muscular em ratos submetidos a um protocolo de contrações musculares geradas através de estimulação elétrica (Lopes-Martins *et al.*, 2006; Leal Junior *et al.* , 2010a). No homem, verificou-se que a LBP pode atrasar o início da fadiga muscular e a exaustão (Leal Junior *et al.* ,2008, 2009a), em um modelo envolvendo apenas um músculo (bíceps braquial) com exercícios de curta duração e alta intensidade. Considerando-se que a prática de atividades desportivas envolve vários grupos musculares, os efeitos da LBP em exercícios complexos e com maior duração, como por exemplo, corrida, natação, atividades desportivas em geral, entre outros, ainda permanecem desconhecidos.

Em vista disso, o objetivo desse trabalho foi testar os efeitos da LBP aplicada anteriormente ao exercício de intensidade progressiva em indivíduos saudáveis do sexo masculino.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Laserterapia

O termo *LASER* é um acrônimo para *light amplification by stimulated emission radiation*, ou “amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”, sendo esse o princípio que baseou sua criação (Schawlow, 1995).

A luz LASER difere da luz comum devido à suas características específicas, como a monocromaticidade, coerência e colimação (Schawlow, 1995). As ondas emitidas são sincronizadas em relação ao tempo e ao espaço, viajam ordenadamente e em amplitudes iguais (Low & Reed, 2001). A colimação é obtida pela unidirecionalidade do laser, que possui um feixe de fótons paralelo ao eixo do tubo que o produz, possuindo uma divergência angular muito pequena e concentrando toda a energia emitida em um único ponto (Kitchen & Bazin, 1998). Devido a essas características, os equipamentos que emitem luz laser são capazes de transferir uma considerável quantidade de energia luminosa aos tecidos, com alta precisão e eficiência (Enwemeka, 2009).

Os lasers podem ser classificados em dois grupos: lasers de alta potência (superiores a 1 W), os quais são usados para finalidades cirúrgicas como cortes, carbonização ou desnaturação de proteínas através de efeito fototérmico (Chavantes & Jatene, 1990), e lasers de baixa potência (inferiores a 1 W), utilizados para reparação tecidual, alívio de dor e a obtenção de efeitos antiinflamatórios. Dentre os lasers de baixa potência existem diferentes configurações de comprimento de onda, variando do vermelho (visível) ao infravermelho (invisível). Esses raios são produzidos por misturas de gases ou compostos químicos sintéticos, incluindo hélio neônio (HeNe), arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl), e arseneto de gálio (AsGa) (Beckerman *et al.*, 1992). Apesar da onda vermelha ter sido a mais estudada, a luz infravermelha tem maior poder de penetração nos tecidos (Enwemeka, 2001; Enwemeka, 2009).

A fim de obter-se bons resultados, o tratamento com a LBP deve considerar a potência, a energia, a área de irradiação, a densidade de potência e de energia e o comprimento de onda utilizados (Enwemeka, 2009). A potência (Equação 1) é uma medida que indica a quantidade de

energia aportada por unidade de tempo. Atualmente, esse parâmetro é fixo e invariável nos aparelhos terapêuticos de LBP (Enwemeka, 2009, Huang *et al.*, 2009).

$$(1) \text{ Potência (W) = energia (J) / tempo (s)}$$

A energia da LBP (Equação 2) corresponde à quantidade de energia empregada durante a aplicação da terapia (dose) (Enwemeka, 2009).

$$(2) \text{ Energia (J) = potência x tempo (s)}$$

A área de irradiação corresponde à área de secção transversa do aplicador da fibra óptica, também conhecido como área de irradiação efetiva (ERA), desde que a técnica utilizada para a aplicação garanta o contato com a pele (Enwemeka, 2009). A densidade de potência (Equação 3) é definida como a potência de saída do equipamento pela ERA do mesmo (Enwemeka 2009, Huang *et al.*, 2009).

$$(3) \text{ Densidade de potência (W/cm}^2\text{) = potência (W) / ERA (cm}^2\text{)}$$

A densidade de energia (Equação 4) é a quantidade total de energia entregue ao tecido (fluência) pela ERA do equipamento (Enwemeka, 2009, Huang *et al.*, 2009).

$$(4) \text{ Densidade de Energia (J/cm}^2\text{) = } \frac{\text{potência (W) x tempo (s)}}{\text{ERA (cm}^2\text{)}}$$

Sabe-se que o comprimento de onda (nm) da LBP equivale à distância entre dois sucessivos picos do feixe luminoso. Esta variável é um fator determinante para os efeitos fisiológicos produzidos pela LBP, pois a especificidade de absorção para um dado comprimento de onda determina quais os tipos de tecidos que irão absorver preferencialmente a radiação incidente, assim como a profundidade de penetração da mesma. Dessa forma, a avaliação correta de cada situação na qual a laserterapia será empregada é de extrema importância. Devem ser consideradas, cuidadosamente, a dose a ser utilizada por sessão de tratamento, a dose cumulativa total e a frequência do tratamento (Enwemeka, 2009).

A LBP pode ser utilizada isoladamente ou como coadjuvante no tratamento, podendo ser aplicada uma vez e/ou várias vezes durante uma ou mais semanas. Ela não possui efeitos térmicos e

sim fotoquímicos, sendo que, esse fenômeno foi pioneiramente publicado por Ender Mester, em 1967, que conduziu um experimento para testar se a radiação de laser poderia causar câncer em camundongos. Ele dividiu os camundongos em dois grupos e um dos grupos recebeu a aplicação de LBP (694nm) nas costas. Esse grupo não desenvolveu o câncer, entretanto os pelos (que foram raspados para a aplicação de LBP) cresceram mais rapidamente do que os do grupo não tratado. Mester chamou isso de “Bioestimulação Laser” (Huang *et al.*, 2009). Porém, devido ao efeito dose-dependente da LBP, tanto a estimulação quanto a inibição do metabolismo celular são possíveis de acontecer. Assim, atualmente, assume-se a existência de uma “janela terapêutica” de ação estimulatória da LBP, em que a dose a ser aplicada é definida dependendo da patologia e dos objetivos a serem alcançados (Bjordal *et al.*, 2006).

Além disso, inúmeros trabalhos têm relatado o efeito cicatrizante da LBP em feridas (Al-Watban *et al.*, 2007), tecidos tendinosos (Reddy *et al.*, 1998) e musculares (Bibikova & Oron, 1994; Amaral *et al.*, 2001), além do seu efeito analgésico (Ferreira *et al.*, 2005; Basford, 1993) e anti-inflamatório (Pessoa *et al.*, 2004; Basford, 1995). Relatos apontam que, a LBP é capaz de estimular a atividade celular e levar a liberação de fatores de crescimento através dos macrófagos (Woodruff *et al.*, 2004), induzindo a proliferação de queratinócitos, angiogênese, ativação dos mastócitos e degranulação (Chagas-Junior, 2004), as quais podem acelerar a cicatrização (Sato *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2004; Al-Watban *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2004).

Bjordal *et al.* (2006) constataram que a LBP é capaz de modular a dor inflamatória, reduzindo marcadores de inflamação (PGE₂, COX2, IL-1 β , TNF α), o fluxo de células neutrófilas ao local da inflamação, o estresse oxidativo, a formação de edema e a hemorragia. Algumas pesquisas em laboratório realizadas em ratos sugerem que a LBP pode tornar-se uma alternativa à terapia antiinflamatória com uso de fármacos (Campaña *et al.*, 1999; Albertini *et al.*, 2004). Emanet *et al.* (2009), em estudo que avaliou os efeitos da LBP no tratamento (cinco vezes por semana durante três meses) da epicondilite lateral crônica em humanos, verificaram que, além da diminuição dos sintomas da patologia no tratamento a longo prazo, a LBP não apresentou nenhum efeito adverso.

Estudos pioneiros avaliaram a LBP de 655nm e 904nm, aplicada anteriormente a realização de protocolo de contrações musculares induzidas por estimulação elétrica, mostrando a eficácia desta terapia em atenuar a fadiga em ratos e diminuir a concentração de creatino quinase (CK) no músculo (Lopes-Martins *et al.*, 2006; Leal Junior *et al.*, 2010a).

Sabe-se que uma demonstração de fadiga pode decorrer da diminuição da força muscular máxima, bem como de uma redução na resposta muscular, acarretando perda de rendimento durante o exercício (Sesboüé & Guincestre, 2006). Terrados & Fernández (1997) relatam que a fadiga pode ocorrer tanto de maneira local, afetando um músculo ou um grupo muscular, como de maneira global, afetando todo o organismo do indivíduo.

Estudos realizados com atletas de voleibol, tendo como objetivo averiguar os efeitos da aplicação prévia de LBP ao exercício de curta duração e alta intensidade (protocolo de exercícios de contrações voluntárias máximas), verificaram que quando os atletas receberam a aplicação da LBP, o número de contrações realizadas aumentou, bem como o tempo total de duração do exercício, não havendo alterações das concentrações de lactato sanguíneo (Leal Junior *et al.*, 2008, 2010b), um marcador de fadiga muscular (Sahlin, 1992).

Leal Junior *et al.* (2009b, 2009d) observaram que a aplicação de LBP em humanos, antes da realização do teste de Wingate (protocolo de exercício de alta intensidade), inibiu o aumento dos níveis de CK pós-exercício, bem como acelerou a remoção de lactato sanguíneo. Esses resultados indicam que a LBP aplicada antes do exercício pode proteger os músculos contra danos e acelerar o processo de recuperação muscular após exercício de alta intensidade.

Já em exercícios excêntricos, Baroni *et al.*, (2010) observaram os efeitos do tratamento prévio com LBP, em humanos, com exercício de extensores de joelho, sobre o dano muscular e a capacidade funcional do músculo exercitado até 48 horas após o exercício. Verificou-se que a LBP foi capaz de diminuir os efeitos deletérios do dano muscular, além de reduzir o incremento dos níveis séricos de CK e lactato desidrogenase (LDH), enzima marcadora de dano muscular (el-Mallakh *et al.*, 1992).

Até o momento existem apenas estudos acerca dos efeitos da LBP sobre o exercício, quando aplicada a um único grupo muscular, como por exemplo, o bíceps ou o quadríceps e em exercícios de curta duração. Considerando-se que a prática de atividades desportivas envolve vários grupos musculares (quadríceps, isquiotibiais, panturrilha, entre outros), não existem estudos que reportem os efeitos da LBP, aplicada anteriormente a exercícios complexos de maior duração e envolvendo vários grupos musculares.

2.2 Estresse oxidativo, enzimas antioxidantes e efeitos da LBP em danos oxidativos

RL são espécies químicas (átomos ou moléculas) que possuem um elétron desemparelhado na sua camada mais externa. Essa situação lhe confere alta reatividade química, especialmente como agente oxidante, com o intuito de adquirir o segundo elétron para estabilizar o seu orbital de valência (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Em nosso organismo são produzidos RL de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio, mas o que ganha mais destaque devido à reatividade e aos danos que podem causar são os radicais derivados do oxigênio. Além dos RL, existem espécies reativas (ER), um termo coletivo frequentemente usado para incluir não apenas RL, mas também alguns não radicais capazes de gerá-los, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio, o ácido hipocloroso, entre outros. Quando há um aumento das ER e/ou uma diminuição da capacidade antioxidante celular, pode ocorrer uma situação denominada de estresse oxidativo, o qual está associada à vários processos fisiológicos e patológicos, como mutagênese, *diabetes mellitus*, catarata, câncer, aterosclerose, doenças degenerativas e envelhecimento, entre outras (Halliwell & Gutteridge, 2007).

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados pelo sistema de defesa antioxidante não enzimático e/ou enzimático. Entre os antioxidantes não enzimáticos, podem-se citar vitaminas e os compostos polifenólicos, entre outros. A principal linha de defesa enzimática é constituída pelas enzimas superóxido dismutase (Sod) e catalase (Cat) (Bonney et al., 2002).

A Sod dismuta o radical superóxido a peróxido de hidrogênio (Reação 1), que é menos

reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a Cat ou glutationala peroxidase (GPx). Em células eucariotas, há várias isoformas do tipo Sod, geralmente responsáveis por compartimentos celulares distintos (Fridovich, 1998). A Sod1 ou SodCuZn encontra-se quase que exclusivamente no espaço citoplasmático intracelular (Zelko *et al.*, 2002). A Sod2 ou SodMn, pode ser encontrada na mitocôndria da maioria dos animais (Fridovich, 1998). A Sod3 ou ECSod é a mais recente Sod caracterizada e possui um peptídeo sinalizador que a direciona exclusivamente para o espaço extracelular. Essa enzima existe como um tetrâmero de 135kDa de massa molecular e já foi detectada no plasma, linfa e fluido cerebrospinal (Zelko *et al.*, 2002).

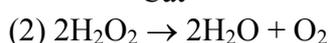
Sod



A atividade da Sod pode ser medida por método espectrofotométrico indireto negativo, isto é, através de uma reação onde a presença da enzima inibe a formação do produto colorido resultante da interação entre o indicador (adrenalina, por exemplo) e o radical superóxido (Bannister & Calabrese, 1987).

A enzima Cat é uma ferrilhemoenzima cuja função principal é dismutar o peróxido de hidrogênio formando água e oxigênio molecular, conforme a reação 2 (Halliwell & Gutteridge, 2007). A Cat é um tetrâmero formado por unidades idênticas, sendo que cada monômero contém um grupo prostético heme no centro catalítico (Ursini *et al.*, 1997). Em animais, a catalase está presente em todos os órgãos essenciais do corpo, principalmente no fígado. Porém, alguns órgãos por não possuírem peroxissomos, estão mais expostos a danos provocados pela produção de ER, como coração, pulmões e cérebro. Nesses órgãos, como mecanismo de defesa, pode ocorrer a difusão de peróxido de hidrogênio para o sangue, onde reage com a Cat eritrocitária (Inoue, 1994). A atividade da Cat pode ser avaliada, espectrofotometricamente, através do consumo de peróxido de hidrogênio adicionado a reação (Aebi, 1984).

Cat



Quando o sistema de defesa é insuficiente, o estresse oxidativo pode gerar um aumento dos níveis de peroxidação lipídica e de carbonilação de proteínas (Halliwell & Gutteridge, 2007). Entre os produtos finais da peroxidação lipídica estão compostos de baixo peso molecular, como hidrocarbonetos (etano e pentano) e aldeídos, como o malondialdeído (MDA). O MDA pode lesar proteínas e também reage com o DNA, sendo a guanina a base mais danificada (Esterbauer & Cheeseman, 1990; Halliwell & Gutteridge, 2007).

A determinação dos produtos de reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um importante indicativo dos níveis de dano oxidativo lipídico. Esse método detecta não somente o MDA, mas também outros aldeídos produzidos na lipoperoxidação (Halliwell & Gutteridge, 2007). A determinação de proteínas oxidadas pode ser considerada um importante e sensível marcador de oxidação protéica (Levine *et al.*, 1990; Chakravarti & Chakravarti, 2007). O processo de carbonilação protéica pode ocorrer pela oxidação direta das cadeias laterais dos aminoácidos; pela interação das proteínas com produtos finais da peroxidação lipídica como 4-hidroxinonenal e o MDA e também através de reações de glicação (Chakravarti & Chakravarti, 2007). A reação dos grupos carbonílicos com 2,4-dinitrofenilhidrazina formando 2,4-dinitrofenilhidrazona tem sido bastante utilizada como método de avaliação do conteúdo de proteínas carboniladas (Levine *et al.*, 1990).

Até o momento, existem poucos relatos acerca dos efeitos da LBP sobre os danos oxidativos. Estudos apontam efeitos da LBP principalmente como recurso de reabilitação, observando seus efeitos após lesões induzidas em ratos. Silveira *et al.* (2011) verificaram os efeitos da LBP aplicada em lesões de pele induzidas experimentalmente. Para isso a LBP foi aplicada sete vezes (2, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas) após a formação da lesão, utilizando-se de equipamentos distintos (AsGa, 904nm, pulsado, 70 mW, 60 segundos de aplicação/sessão e He-Ne, 660nm, contínuo, 30 mW, 60 segundos de aplicação/sessão) e doses distintas. Observou-se que a aplicação da LBP foi capaz de diminuir a peroxidação lipídica, os danos às proteínas e a atividade de Sod e Cat, potencializando a cicatrização da ferida, principalmente nas doses de 1 e 3 J/cm² do laser de

He-Ne e na dose de 3 J/cm² do laser de AsGa.

Avni *et al.* (2005) avaliaram os efeitos da aplicação de LBP em lesões induzidas, em ratos, por 3 horas de isquemia seguida de reperfusão. A aplicação de LBP (AsGa, 810nm) ocorreu imediatamente e após 1 hora de oclusão do suprimento sanguíneo. Observou-se que a aplicação de LBP protegeu o músculo contra os efeitos deletérios gerados pela lesão isquêmica, proporcionando um aumento na atividade da creatinafosfoquinase na capacidade antioxidante total sérica e em proteínas de choque térmico. Os autores relataram também um aumento na capacidade antioxidante total sérica quando a LBP foi aplicada em ratos sem a indução de lesão por isquemia/reperfusão.

Fillipin *et al.* (2005) e Rizzi *et al.* (2006), investigaram os efeitos da LBP (AsGa 904nm, contínuo, 45 mW e 5 J/cm², 35 segundos de aplicação) sobre o estresse oxidativo em modelo experimental de trauma no tendão de *Aquiles* e músculos de ratos, respectivamente. Verificou-se que a LBP reduziu a perda da arquitetura normal (histologia) e a resposta inflamatória, bem como os níveis de TBARS, quando comparado ao grupo que não recebeu laser. Além disso, observou-se um aumento na atividade enzimática da Sod, sugerindo que um dos mecanismos de redução da resposta inflamatória pela LBP possa estar relacionada à modulação da atividade da Sod.

Em um estudo que objetivou investigar o efeito fotobiomodulador da LBP aplicada por dois lasers distintos (He-Ne, 632,8nm, contínuo, 5mW, 1min de aplicação/sessão e AsGa, 904nm, pulsado, 12mW, 47 segundos de aplicação/sessão) em um modelo experimental de miopatia, que foi induzida através da infiltração de adrenalina (0,05 mg/rato/dia) no músculo durante 5 dias. Observou-se que no grupo, em que a lesão foi desenvolvida, houve um aumento significativo de L-citrulina e Sod e uma diminuição de óxido nítrico (NO). A aplicação de LBP diminuiu significativamente a L-citrulina e a atividade da sod e aumentou a concentração de NO (Servetto *et al.*, 2010).

Liu *et al.* (2009) induziram lesão muscular em ratos através de exercícios excêntricos em esteira (corrida em *dowhill*), em que os animais receberam aplicação de LBP em 3 momentos: imediatamente após, 18 horas após e 42 horas após o protocolo de exercícios. Observou-se que os

grupos que receberam a aplicação de LBP apresentaram uma melhora significativa na avaliação histológica (menor quantidade de infiltrados inflamatórios), diminuição nas concentrações de CK e da peroxidação lipídica e aumento na atividade de Sod.

Entretanto, até o momento, não há estudos em humanos acerca dos efeitos da LBP na modulação de danos oxidativos quando aplicada anteriormente à realização de atividade física de intensidade progressiva.

2.2.1 Espécies Reativas no Exercício Físico

O músculo esquelético é desenhado para suportar sobrecargas mecânicas e metabólicas até um determinado limite. Quando estimulado, atinge rapidamente sua carga máxima de contração e aumenta o fluxo de oxigênio em até 100%, o que pode levar a um aumento de ER e estresse oxidativo (Alessio, 2000). Sabe-se que esse fenômeno acompanha a atividade contrátil esquelética (Elosua *et al.*, 2003) e pode provocar a diminuição da função contrátil dos grupamentos musculares envolvidos e produzir fadiga (Reid *et al.*, 1992).

O grau de produção de ER (oxigênio singlete, ânion superóxido, peróxido de hidrogênio radical hidroxila e NO), no exercício, costuma estar relacionada com o aumento do funcionamento da cadeia de transporte de elétrons (Chevion *et al.*, 2003), a ação do sistema xantina oxidase/desidrogenase (McAnulty & McAnulty, 2003), por aumento no número circulante de neutrófilos (Scharhag *et al.*, 2002) e pelo processo de isquemia-reperfusão (Seiguel *et al.*, 1999).

Em relação a xantina oxidase (XO) e a xantina desidrogenase (XDH), ambas são enzimas que catalisam a oxidação da hipoxantina e xantina à ácido úrico durante o catabolismo das purinas em mamíferos (Gomez-Cabrera *et al.*, 2008). Como a XDH preferencialmente transfere os elétrons liberados durante o processo de oxidação para o NAD^+ , a XO utiliza o oxigênio molecular, causando assim a geração de radical superóxido (Harris *et al.*, 1999).

A carga muscular imposta durante o exercício causa modificação na ultraestrutura do músculo, com infiltração de neutrófilos e liberação de mioglobina (Fielding *et al.*, 1993). A ação

dos neutrófilos inclui o processo microfagocítico, atributo que lhe é característico. Neutrófilos são ricos em NAD(P)H oxidase, a qual pode converter o oxigênio molecular em superóxido. Na presença de Sod e mieloperoxidase, forma-se o ácido hipocloroso. Sendo assim, o processo inflamatório é uma importante fonte de ER induzidas pelo exercício físico de alta intensidade (Viña *et al.*, 2000).

Um mecanismo alternativo, através do qual o músculo pode produzir ER, envolve o processo de isquemia-reperfusão. O ciclo de funcionamento dos esfíncteres pré-capilares, o mais importante regulador do fluxo tissular, envolve períodos de contração e relaxamento (Seiguel *et al.*, 1999). No exercício intenso, vários tecidos sofrem processo transitório de isquemia com o intuito de desvio seletivo do fluxo. Além disso, fibras submetidas a um esforço supramáximo podem desenvolver episódios de isquemia, pois a demanda de oxigênio torna-se momentaneamente insuficiente (Koyama *et al.*, 1999). Desse modo, a reoxigenação que se estabelece após o término da atividade física é capaz de gerar ER, principalmente superóxido (Powers & Jackson, 2008).

Embora as atividades físicas de moderada e alta intensidade sejam capazes de gerar estresse oxidativo em diferentes graus (Alessio *et al.*, 2000), os dados da literatura permanecem sem consenso. Em alguns casos têm sido demonstrado aumento de estresse oxidativo em exercícios aeróbios e anaeróbios (Palazzetti, 2003; Vincent *et al.*, 2004), enquanto outros estudos demonstram níveis de TBARS inalterados, tanto em exercícios aeróbios como em exercícios anaeróbios (Vollaard *et al.*, 2005) e estudo relacionando efeitos de exercícios resistidos submáximos (exercícios anaeróbios) sobre a peroxidação lipídica, não verificaram diferenças significativas entre o grupo que realizou os exercícios e o grupo que não realizou (Ramel *et al.*, 2004). Kretzschmar *et al.* (1991) averiguaram as consequências do exercício físico agudo (exercícios aeróbios) em cicloergômetro sobre a peroxidação lipídica, verificando uma diminuição significativa na peroxidação lipídica nos indivíduos que realizaram o exercício.

Dessa forma, torna-se importante esclarecer a relação entre o exercício físico e a modulação do estresse oxidativo em desportistas.

2.3 Exercício Físico e Dano Muscular

O desempenho físico durante o exercício e/ou a capacidade funcional de um indivíduo pode ser avaliada através do teste de ergoespirometria, um procedimento não invasivo, que concilia a análise de gases espirados, variáveis respiratórias e oximetria (Serra, 1997). A ergoespirometria caracteriza-se como um exercício de intensidade progressiva, tendo em vista que a velocidade de corrida é aumentada gradativamente durante a sua realização. O indivíduo que está executando a atividade é instruído a realizá-la até a exaustão, a fim de obter-se uma avaliação mais fidedigna da sua capacidade cardiopulmonar (Bearden & Moffatt, 2000). Esse método tem sido útil na determinação de fatores ligados a indicadores de performance, identificação de intolerância ao exercício, determinantes de transição metabólica, avaliação clínica e terapêutica de diversas patologias, prescrição de intensidade do exercício, índices de eficiência respiratória e cardiovascular e custo energético (Silva *et al.*, 1998, Denis *et al.*, 1984).

Diferentes parâmetros podem ser avaliados em um teste de ergoespirometria, dentre eles, o tempo total de execução do exercício, o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\ max}$), os limiares aeróbios e anaeróbios, tempo de teste em que o indivíduo atinge estes limiares, entre outros (Baroni & Leal Junior, 2010).

A diminuição da performance pode estar intimamente ligada a instalação do processo de fadiga muscular (Terrados & Fernandez, 1997), sendo assim, a mensuração do tempo total de execução do exercício durante o teste de ergoespirometria, torna-se um ótimo parâmetro para avaliação da fadiga, pois a execução do mesmo se dá até a exaustão (Serra, 1997).

Durante a realização do exercício físico, diversos sistemas fisiológicos interagem dinamicamente entre si (Richardson *et al.*, 1998). Dentre estes, destacam-se as interações cardiopulmonares e a capacidade do músculo em utilizar o oxigênio (Bearden & Moffatt, 2000). Dessa forma, foi introduzido o conceito de $VO_{2\ max}$ (Hill & Lupton, 1923), que pode ser definido como o maior volume de oxigênio por unidade de tempo que um indivíduo consegue captar. É

alcançado quando se atingem níveis máximos de débito cardíaco e de extração periférica de oxigênio e não é ultrapassado mesmo com incremento na carga de trabalho muscular (Taylor *et al.*, 1955).

A $VO_{2\text{ max}}$ é aceita e considerada como a melhor medida para determinação da estabilidade cardiovascular e a capacidade de realizar exercício físico. É habitualmente expressa em múltiplos das necessidades metabólicas básicas de oxigênio. Assim, um equivalente metabólico é a unidade de captação de oxigênio em repouso e corresponde à cerca de 3,5 mL de oxigênio por quilograma de peso por minuto ($\text{mL.Kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). A $VO_{2\text{ max}}$ pode variar de acordo com a idade, sexo, hábitos de exercício, hereditariedade e estabilidade cardiovascular (Fletcher *et al.*, 2001).

Existem dois limiares metabólicos que indicam acúmulo e aumento da produção de lactato. O primeiro, conhecido como limiar aeróbio, reflete a intensidade do exercício correspondente ao início do acúmulo de lactato sangüíneo, e também pode ser chamado de limiar ventilatório 1. O segundo é considerado o ponto de compensação respiratória (Wasserman & Mcilroy, 1964) ou limiar ventilatório 2, definido como a intensidade de esforço acima da qual a produção de lactato supera sua própria remoção. Isso faz com que seja provocando a hiperventilação, a qual é necessária para a diminuição da pressão parcial de dióxido de carbono venosa e para o restabelecimento das concentrações de bicarbonato e aumento do pH plasmático (Meyer *et al.*, 2005; Amann *et al.*, 2004).

Como descrito anteriormente, a prática de atividade física de alta intensidade (exercício exaustivo) provoca danos estruturais em células musculares e as avaliações destes danos podem ser feitas de forma direta e indireta. A avaliação direta do dano muscular em humanos é complexa, visto que sua análise é possível somente através de dois métodos: por biópsia muscular ou por ressonância magnética. Sendo assim, os problemas inerentes na análise por biópsia muscular são óbvios, pois uma pequena amostra é usada para estimar o dano no músculo todo. Além disso, devido ao fato de o dano muscular não estar presente em todo tecido, mas sim focalizado, é possível ocorrer uma estimativa errônea, sendo maior ou menor que o dano muscular real. As técnicas de

imagem utilizando a ressonância magnética vêm sendo utilizadas para avaliar o dano (edema) dentro do músculo. Embora seja uma técnica não invasiva, não são claras as mudanças indicadas nas imagens, além do custo econômico alto (Clarkson & Hubal, 2002).

Nos últimos anos, é crescente o interesse científico na busca pela resistência extrema no esporte (Banfi et.al., 2004). Diante disso, medições da atividade de CK e LDH têm sido utilizadas cada vez mais para determinar lesões musculares (Mair *et al.*, 1992; el-Mallakh *et al.*, 1992).

A CK catalisa a defosforilação da creatina fosfato ou sua fosforilação e é uma enzima globular que consiste em duas subunidades de massa molecular de 43 kDa. Até o momento, foram isoladas cinco isoformas diferentes, sendo três isoenzimas no citoplasma (CK-MM, CK-MB, e CK-BB) e duas isoenzimas (sarcoméricas e não-sarcoméricas) na mitocôndria (Nigro *et al.*, 1983). A medida da atividade da CK pode ser feita através de kit colorimétrico (Labtest[®] - Brazil). Os valores de referência da atividade sérica de CK são ainda controversos (Tabela 1). A maior razão para haver essas discrepâncias está relacionada, possivelmente, à variação do nível de atividade física dos indivíduos testados (Strømme *et al.*, 2004).

Tabela 1. Valores de referência da atividade sérica da creatino quinase em homens e mulheres não atletas.

Homens	Mulheres	Referências
26 - 350 U.L ⁻¹	26 - 200 U.L ⁻¹	Wong <i>et al.</i> (1983), Schumann & Klauke (2003) e Wu (2006)
26 - 240 U.L ⁻¹	26 - 207 U.L ⁻¹	Miller <i>et al.</i> (1984) e Strømme <i>et al.</i> (2004)
26 - 532 U.L ⁻¹	26 - 248 U.L ⁻¹	Lev <i>et al.</i> (1999)

A LDH, outra enzima marcadora de dano muscular, catalisa a redução do piruvato, produzindo lactato e NAD⁺ e vice-versa. A sua atividade pode ser determinada a partir da

velocidade de decomposição do NADH, medida pela queda da absorvidade a 340 nm. Os valores de referência em U/L para esse método, obtidos em populações sadias do sexo masculino e feminino, em soro ou plasma, são de 200 a 480 U/L (Young, 1997).

A atividade destas enzimas musculares serve como marcador da função do músculo e do tecido tanto nas condições patológicas quanto nas fisiológicas. O seu aumento pode representar necrose celular e dano tecidual (oxidativo ou não) seguido de lesão muscular crônica ou aguda (Szumilak *et al.*, 1998). Essas mudanças na atividade de enzimas musculares ocorrem em indivíduos normais e em atletas após exercícios extenuantes, muitas vezes extrapolando os valores de referências encontrados na literatura (Wolf *et al.*, 1987). As atividades séricas da CK e LDH mostram um comportamento diferente antes e depois do exercício (Lawler *et al.*, 1993; Macdougall *et al.*, 1998), sendo que sua atividade varia de acordo com o tipo de treinamento, o protocolo utilizado (Szabo *et al.*, 2003), a idade, gênero, raça, massa muscular, atividade física e condição climática (Brancaccio *et al.*, 2007).

A diminuição dos níveis de atividade das enzimas musculares depende também, do período de repouso após o exercício ou do tempo de inatividade física (Havas *et al.*, 1997). Alguns fatores podem auxiliar na diminuição da atividade da CK e LDH sérica, como a drenagem linfática e o uso de suplementação com aminoácidos (Coombes & Mcnaughton, 2000).

Sendo assim, os possíveis efeitos da LBP na prevenção de danos musculares, oxidativos ou não, gerados por exercícios complexos nos encaminham para um novo patamar de aplicação da LBP, que vem sendo utilizada no momento como forma de reabilitação. A diminuição/prevenção de lesões musculares induzidas pelo exercício físico poderá contribuir para os atletas de alto rendimento, podendo minimizar o tempo de repouso e de recuperação muscular após a prática esportiva.

3. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar os efeitos da laserterapia de baixa potência sobre o estresse oxidativo, fadiga e dano muscular pós-exercício de intensidade progressiva, em indivíduos saudáveis do sexo masculino com idade entre 20 e 25 anos.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar os efeitos do exercício de intensidade progressiva executado até a exaustão sobre os marcadores de danos oxidativos a lipídios e proteínas e na modulação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase.
- Averiguar a influência do exercício de intensidade progressiva executado até a exaustão sobre o dano muscular, através da medida da atividade de creatino quinase e lactato desidrogenase.
- Analisar os efeitos da laserterapia na possível prevenção de danos oxidativos a lipídios e proteínas e na modulação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase.
- Verificar a influência da laserterapia sobre a fadiga e *performance* em exercício de intensidade progressiva (teste de ergoespirometria), através da mensuração do $VO_{2\max}$, tempo total de execução do exercício e limiar anaeróbio.
- Averiguar os efeitos da laserterapia sobre o dano muscular pós-exercício, através da medida da atividade de creatino quinase e lactato desidrogenase.

4. RESULTADOS

Os resultados estão apresentados na forma de artigo publicado na revista *Lasers in Medical Science*. Neste trabalho são mostrados os dados referentes aos efeitos gerados pela LBP aplicada anteriormente ao exercício de intensidade progressiva em indivíduos saudáveis do sexo masculino sobre o estresse oxidativo, fadiga e dano muscular.

Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress

Thiago De Marchi · Ernesto Cesar Pinto Leal Junior ·
Celiana Bortoli · Shaiane Silva Tomazoni ·
Rodrigo Álvaro Brandão Lopes-Martins ·
Mirian Salvador

Received: 10 January 2011 / Accepted: 4 May 2011
© Springer-Verlag London Ltd 2011

Abstract The aim of this work was to evaluate the effects of low-level laser therapy (LLLT) on exercise performance, oxidative stress, and muscle status in humans. A randomized double-blind placebo-controlled crossover trial was performed with 22 untrained male volunteers. LLLT (810 nm, 200 mW, 30 J in each site, 30 s of irradiation in each site) using a multi-diode cluster (with five spots - 6 J from each spot) at 12 sites of each lower limb (six in quadriceps, four in hamstrings, and two in gastrocnemius) was performed 5 min before a standardized progressive-intensity running protocol on a motor-drive treadmill until exhaustion. We analyzed exercise performance ($VO_{2\text{ max}}$, time to exhaustion, aerobic threshold and anaerobic threshold), levels of oxidative damage to lipids and proteins, the activities of the antioxidant enzymes superox-

ide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and the markers of muscle damage creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH). Compared to placebo, active LLLT significantly increased exercise performance ($VO_{2\text{ max}}$ $p=0.01$; time to exhaustion, $p=0.04$) without changing the aerobic and anaerobic thresholds. LLLT also decreased post-exercise lipid ($p=0.0001$) and protein ($p=0.0230$) damages, as well as the activities of SOD ($p=0.0034$), CK ($p=0.0001$) and LDH ($p=0.0001$) enzymes. LLLT application was not able to modulate CAT activity. The use of LLLT before progressive-intensity running exercise increases exercise performance, decreases exercise-induced oxidative stress and muscle damage, suggesting that the modulation of the redox system by LLLT could be related to the delay in skeletal muscle fatigue observed after the use of LLLT.

T. De Marchi · C. Bortoli · M. Salvador (✉)
Laboratory of Oxidative Stress and Antioxidants,
Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul,
Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130,
950070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil
e-mail: msalvado@ucs.br

T. De Marchi
Sports Medicine Institute and Laboratory of Human Movement,
University of Caxias do Sul,
Caxias do Sul, RS, Brazil

E. C. P. Leal Junior · R. Á. B. Lopes-Martins
Post Graduate Program in Rehabilitation Sciences,
Nove de Julho University (UNINOVE),
São Paulo, SP, Brazil

S. S. Tomazoni · R. Á. B. Lopes-Martins
Laboratory of Pharmacology and Experimental Therapeutics,
Institute of Biomedical Sciences (ICB), University of São Paulo,
São Paulo, SP, Brazil

Keywords LLLT · Progressive-intensity exercise ·
Oxidative stress · Muscle damage

Introduction

The metabolism during contractile activity produces reactive oxygen species (ROS) [1], which can lead to muscle oxidative stress [2]. This can be one factor associated with a reduction in contractile function and muscle fatigue develops [3]. To counteract these effects, organisms present antioxidant defenses, such as the enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), responsible for the dismutation of the superoxide ($O_2^{\bullet-}$) radical and hydrogen peroxide (H_2O_2), respectively [2].

Skeletal muscle fatigue is characterized by impairment of muscle ability to generate and maintain force production

during muscle activity. In submaximal activities, skeletal muscle fatigue is denoted as a failure to continue activity at the initial intensity [4]. The development of muscle fatigue is a complex and multifaceted process involving several physiological and biomechanical elements [5], including muscle fiber type, the intensity and duration of the activity [6], and oxidative stress [3].

The use of low-level laser therapy (LLLT) and light-emitting diode therapy before exercise has shown positive results in delaying skeletal muscle fatigue [7] and improving skeletal muscle recovery in athletes [8, 9]. These studies were done with a single muscle group and with short-duration exercises at high intensities. However, in sport activities, several muscle groups are involved in the exercise. Therefore, it is important to know the effects of LLLT in more complex and long-duration exercise activities.

In this perspective, the aim of this work was to study LLLT effects on human exercise performance, oxidative stress, and muscle damage in a progressive-intensity running exercise.

Methods

Ethical aspects

The study was approved by the Ethics Committee of the University de Caxias do Sul. In accordance with the Declaration of Helsinki, all subjects were advised about the procedure and they signed an informed consent prior to participation in the study.

Subjects

Twenty-two volunteers were selected for this study. The number of the participants was calculated using a statistical power of 80% and a significance level of $p < 0.05$ (or 5%). The individuals were recruited among healthy untrained male volunteers, with ages between 20 and 25 years, from the University of Caxias do Sul, Brazil. Exclusion criteria included any previous musculoskeletal injury to the hip, knee, or ankle region in the previous 3 months and the use of any kind of nutritional supplements or pharmacological agents.

Randomization and blinding procedures

The study was designed as a randomized double-blinded placebo-controlled crossover trial. Randomization was performed by a simple drawing of lots (A or B), which determined whether active LLLT (A) or placebo LLLT (B) would be given at the first exercise session. During the second session, participants were crossed over to receive treatment A or B, i.e., the one which had not been given at the first session. The code from the drawing of lots was

delivered to a technician who preset the control unit accordingly to either active LLLT or placebo LLLT mode. The technician was instructed to not communicate the type of treatment neither to the participants nor to the therapist applying the LLLT source to the lower limbs. Thus, the allocation of treatments was concealed to the participants and the therapist. Blinding was further maintained by the use of opaque goggles by participants and the therapist during LLLT procedures.

Low-level laser therapy

LLLT was performed exactly 5 min before the progressive running protocol. The therapy was applied by using a multi-diode cluster (with five diode spots; THOR[®] Photomedicine, London, UK) at 12 sites of each lower limb (six in quadriceps: two centrally - musculus rectus femoris and musculus vastus intermedius, two laterally - musculus vastus lateralis, and two medially - musculus vastus medialis; four in hamstrings; and two in gastrocnemius), as shown in Fig. 1. LLLT characteristics and application mode are shown in Table 1. The laser device was calibrated before and after data acquisition, the equipment showed the same power output in both calibrations. The optical power was measured using a Newport multifunction optical meter model 1835 C. The stability of the laser during the laser irradiation was measured collecting light with a partial reflect (4%). The dose was chosen based on previous studies of our research group. In these studies we observed an effective decrease in muscle damage induced by short-duration and high-intensity exercise involving a single muscle group [16, 19].

Exercise protocol

Subjects performed a standardized progressive running protocol on a motor-driven treadmill with a fixed inclination of 1%. The initial velocity was 3 km.h⁻¹ during the first 3

Fig. 1 **a** Treatment points in knee extensor muscles. **b** Treatment points in knee flexor and ankle plantiflexor muscles

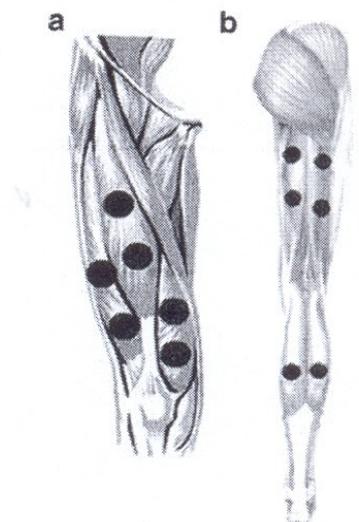


Table 1 LLLT characteristics and application mode

Number of laser diodes	5
Wavelength	810 nm (infrared)
Frequency	Continuous output
Optical output	200 mW each diode (total of 1,000 mW)
Spot size	0.0364 cm ² each spot
Power density	5.495 W/cm ² (for each laser spot)
Energy density	164.85 J/cm ² (for each laser spot)
Energy	30 J on each point (6 J for each spot)
Treatment time	30 s on each point (360 s of total treatment time in each leg)
Number of irradiation sites per lower limb	12
Number of irradiation points per lower limb	60
Total energy delivered per lower limb	360 J
Application mode	Cluster probe held stationary in skin contact with a 90-degree angle and slight pressure

min (warm-up phase). After the warm-up phase, the velocity was increased 1 km.h⁻¹ at each minute until it reached 16 km.h⁻¹. Volunteers performed the exercise protocol until exhaustion. The exercise protocol could be finished at any moment, if the volunteers asked (by hand sign). After the exercise protocol, volunteers performed a recovery phase with a velocity of 6 km.h⁻¹ for 3 min. During the exercise protocol, the rates of oxygen uptake (VO₂), dioxide carbon production (CO₂) (measured using a VO2000 gas analyzer, Inbrasport[®], Brazil), total time until exhaustion, and heart rate (measured using a digital electrocardiograph from Micromed[®], Brazil) were monitored. Aerobic and anaerobic thresholds were also measured through the methodology proposed by Wasserman et al. [10].

Blood samples and biochemical assays

Blood samples were collected by a qualified nurse blinded to group allocation and were obtained from an antecubital vein before exercise and exactly 5 min after the end of the

progressive exercise protocol. Blood was centrifuged at 2,700 × g for 10 min at 4°C. Serum was immediately pipetted into Eppendorf tubes and stored at -80°C until analysis. Lipid damages were measured spectrophotometrically (Shimadzu spectrophotometer Model UV-1700, Shimadzu[®], Japan) by determining thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as previously described by Wills [11]. Results were expressed as nmol per ml. The oxidative damage to proteins was assessed by determining carbonyl groups based on the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), as previously described by Levine et al. [12]. Results were expressed as DNPH nmol per mg of proteins. SOD activity was determined measuring the inhibition of the rate of auto-catalytic adrenochrome formation at 480 nm (Shimadzu spectrophotometer Model UV-1700, Shimadzu[®], Japan), in a reaction medium containing 1 mM adrenaline (pH 2.0) and 50 mM glycine (pH 10.2), (both from E. Merck) as described by Bannister and Calabrese [13]. This reaction was conducted at 30°C for 3 min and the results were expressed as units per gram of protein. One SOD unit was defined as the amount of enzyme that inhibits the rate of adrenochrome formation by 50% per gram of protein. CAT activity was measured according to the method described by Aebi [14]. The assay principle is based on determining the rate of hydrogen peroxide (E. Merck) decomposition at 240 nm (Shimadzu spectrophotometer Model UV-1700, Shimadzu[®], Japan). This reaction was conducted at 30°C for 1 min and the results were expressed as CAT units per milligram of protein. One unit of CAT decomposed one μmol of hydrogen peroxide per mg of protein per minute at pH 7.4. Total protein levels were evaluated using the Total Proteins kit from Labtest[®] (Protein Kit, Labtest Diagnostica S.A., Brazil). CK and LDH activity were measured by using a commercial kit (CK - Labtest[®] - Brazil, LDH - Bioclin[®] - Brazil). CK catalyzes the dephosphorylation of creatine phosphate to produce adenosine triphosphate, which reacts with glucose in the presence of hexokinase forming glucose-6-phosphate. Glucose-6-phosphate by glucose-6-phosphate dehydrogenase is oxidized to phosphogluconate and reduces NADP⁺ to NADPH. The rate of increase in absorbance at 340 nm is proportional to CK activity in the sample. The LDH catalyzes the reduction of pyruvate with NADH, resulting in lactate and NAD⁺. The

Table 2 Performance in progressive-intensity running exercise

	Placebo	LLLТ	<i>p</i> value
Total time to exhaustion (s)	697.27±83.62	711.41±87.47*	0.0467
Absolute VO ₂ max (l/min)	3.54±0.48	3.61±0.49*	0.0333
Relative VO ₂ max (ml/kg.min)	48.04±5.27	49.14±5.09*	0.0178
Aerobic threshold (s)	205.64±55.98	202.59±62.18	0.8314
Aerobic threshold (l/min)	1.82±0.40	1.75±0.30	0.4079
Anaerobic threshold (s)	468.82±85.81	457.45±79.96	0.6110
Anaerobic threshold (l/min)	2.90±0.39	2.88±0.40	0.8193

* Statistical significance (*p*<0.05) between LLLT and placebo

Table 3 Pre and post-exercise levels of oxidative damage markers

	Placebo		LLLT	
	Pre-exercise	Post-exercise	Pre-exercise	Post-exercise
TBARS (nmol/ml)	3.94±1.16	5.54±1.80*	4.84±1.41	5.04±1.98
Carbonylated Proteins (nmol of DNPH/g/dl of proteins)	2.15±1.02	2.71±1.27**	2.36±1.40	2.88±2.09
SOD (U SOD/g of protein)	2.46±1.74	1.48±1.17*	1.67±1.04	1.73±1.60
CAT (U CAT/mg of protein)	2.25±1.78	3.19±2.55	2.47±1.46	3.00±2.11

*Statistical significance ($p < 0.01$) from pre to post-exercise levels

**Statistical significance ($p < 0.05$) from pre to post-exercise levels

catalytic concentration is determined from the rate of decomposition of NADH, measured by the decrease in absorbance at 340 nm. Results were expressed as units per liter⁻¹.

Statistical analysis

Data from exercise protocol, oxidative stress and muscle damage markers were expressed as mean and standard

deviation (\pm SD) and tested statistically by a two-sided paired *t*-test through the software SPSS 18.0 for Windows. The significance level was set at $p < 0.05$.

Results

Volunteers in this study were 22.02 ± 3.02 years old, body weight was 74.22 ± 11.54 kg with a height of $176.30 \pm$

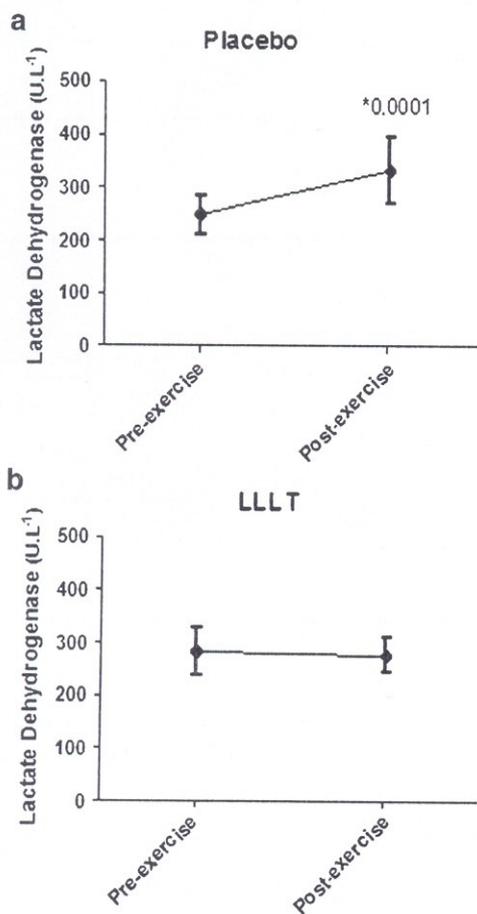


Fig. 2 Pre and post-exercise activity of lactate dehydrogenase (a) in placebo (b) and in active LLLT group. * Statistical significance from pre to post-exercise levels using the software SPSS 18.0 for Windows

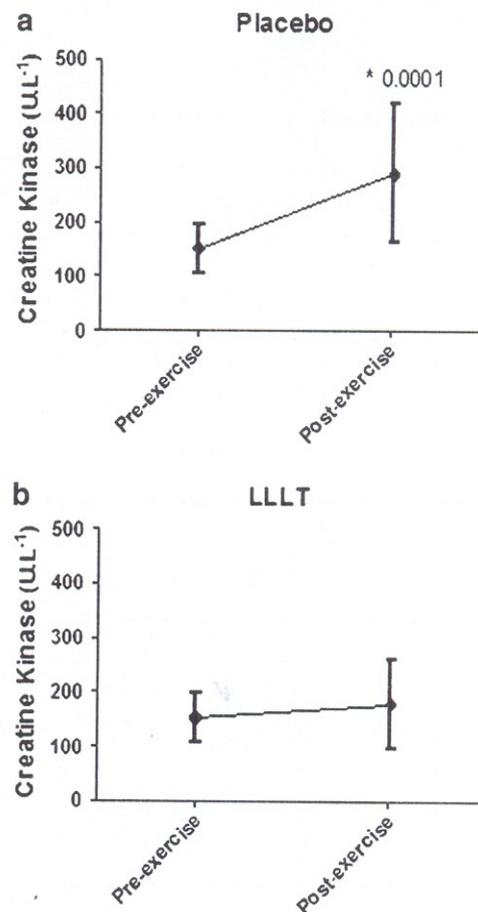


Fig. 3 Pre and post-exercise activity of creatine kinase (a) in placebo (b) and in active LLLT group. * Statistical significance from pre to post-exercise levels using the software SPSS 18.0 for Windows

7.75 cm. Results of the progressive-intensity running exercise with and without LLLT application are shown in Table 2. Total time to reach exhaustion during exercise protocol, as well as oxygen consumption - $\text{VO}_2 \text{ max}$ (both in absolute than in relative values) were significantly increased ($p < 0.05$) by pre-exercise irradiation with active LLLT. On the other hand, aerobic and anaerobic thresholds did not change with LLLT.

The progressive-intensity running exercise induced an increase in lipid (TBARS) and protein oxidative damages, as well as a decrease in SOD activity. The application of laser in the active LLLT group prevents these changes, avoiding the damages to the biomolecules and the decrease in the antioxidant enzyme SOD. Neither the progressive-intensity running exercise nor the active LLLT changed post-exercise CAT activity (Table 3). Baseline values for TBARS, protein oxidative damages, SOD and CAT was similar without significant difference ($p > 0.05$) in both treatments tested.

Pre-exercise activity of CK (active LLLT $151.74 \pm 45.15 \text{ U/l}^{-1}$, placebo LLLT $150.10 \pm 48.60 \text{ U/l}^{-1}$) and LDH (active LLLT $281.89 \pm 44.36 \text{ U/l}^{-1}$, placebo LLLT $274.93 \pm 37.62 \text{ U/l}^{-1}$) were similar in two sections of exercise (with and without LLLT). Progressive-intensity running exercise increases CK (active LLLT 178.26 ± 82.36 , placebo LLLT 290.42 ± 127.11) and LDH (active LLLT 276.80 ± 32.86 , placebo LLLT 332.72 ± 63.07) activities. Active LLLT reduces the increase in the activities of these enzymes, as shown in Figs. 2 and 3.

Discussion

Several animal and human trials have shown positive effects of LLLT on inflammatory disorders both in acute and in chronic phases [15]. However, skeletal muscle fatigue and post-exercise recovery are new areas of research in LLLT and few studies have been performed on this subject. To our knowledge, this is the first study to examine the effects of LLLT applied previously to complex exercise involving several muscle groups. Studies have shown positive effects of red and infrared LLLT in reducing markers of fatigue and muscle damage [7, 8, 9, 16, 19]. However, we decided to use LLLT (810 nm), because infrared LLLT has greater skin penetration than red LLLT [17].

We observed that pre-exercise irradiation in healthy untrained subjects submitted to LLLT significantly increased $\text{VO}_2 \text{ max}$ both in absolute and in relative values, as well as the time to reach exhaustion (Table 2). In spite of a low increase of 14 s in exercise length, this enhancement seems to be clinically relevant, considering that in the last 10 years the world record 5,000-meter running (of approx. 13 min) improved only 12 s [18]. It illustrates how difficult it is to improve exercise performance at this level of effort.

On the other hand, we did not observe any significant changes in aerobic and anaerobic thresholds (Table 2), which means that although LLLT leads to performance improvement, it does not change the metabolic pathway of energy production.

Pre-exercise irradiation with LLLT also decreased the post-exercise improvement in the activities of CK and LDH (Figs. 2 and 3), which means that LLLT can protect skeletal muscle against exercise-induced damage in progressive-intensity long-duration exercises, which could, at least in part, explain the performance improvement observed in our study. Our findings corroborate previous studies that used pre-exercise LLLT irradiation in single muscle groups to decrease exercise-induced muscle damage [16, 19].

When volunteers did not receive pre-exercise active LLLT, an increase in oxidative damage, both in lipids and in proteins (Table 3) was observed, corroborating other studies [20, 21]. Active LLLT can prevent the exercise-induced increase in oxidative damage both in lipids and in proteins and prevent the decrease in SOD antioxidant activity (Table 3). Previous studies have already shown that LLLT can modulate SOD activity [22, 23] or stimulate its synthesis in the cell [24]. This redox modulation can explain, at least in part, the decrease in oxidative damage observed in our study. On the other hand, no statistical difference in CAT activity was observed after the progressive-intensity running exercise. Some studies show that acute exercise did not cause any changes in the concentrations of CAT [25, 26], corroborating our findings. Other studies about this biochemical parameter should be evaluated to confirm this data.

The mechanisms through which ROS play a role in the development of fatigue are not fully understood [4], however, it is known that oxidative stress leads to an impairment of the contractile muscle function resulting in muscle fatigue [3]. Therefore, our findings suggest that the reduction of oxidative stress is related to LLLT delaying skeletal muscle fatigue and protecting against exercise-induced damage. Others mechanisms for LLLT effects could include the increase in microcirculation, potential anti-inflammatory activity, and improvement of mitochondrial function [27, 28].

Conclusions

As far as we know, this is the first investigation about the effects of LLLT on a complex exercise. It is possible to conclude that pre-exercise LLLT application decreases oxidative stress leading to a delay in the development the skeletal muscle fatigue, improvement of skeletal muscle performance, and prevention of muscle damage. Optimal parameters of application and dose-response patterns still need to be identified in further studies.

Acknowledgments The authors would like to thank the volunteers who participated in the study, the staff of the Laboratories of Oxidative Stress and Antioxidants and the Sports Medicine Institute, especially Juliano Augusto Ziembowicz and Luciana Maria Machado. We also thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brazil) and Caxias do Sul University for their support.

References

- Almar M, Villa JG (2002) Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative damage in road cycling. *Free Radic Res* 36:247–253
- Halliwell B, Gutteridge JC (2000) *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York, Oxford
- Reid MB, Haack KE, Franchek KM, Valberg PA, Kobzik L, West MS (1992) Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro. *J Appl Physiol* 73:1797–1804
- Allen DG, Lamb GD, Westerblad H (2008) Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev* 88:287–332
- Ivey FM, Roth SM, Ferrell RE, Tracy BL, Lemmer JT, Hurlbut DE, Martel GF, Siegel EL, Fozard JL, Jeffrey Metter E, Fleg JL, Hurley BF (2000) Effects of age, gender, and myostatin genotype on the hypertrophic response to heavy resistance strength training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 55:641–648
- Lamb GD, Stephenson DG, Bangsbo J, Juel C (2006) Point: Counterpoint: Lactic acid accumulation is an advantage/disadvantage during muscle activity. *J Appl Physiol* 100:1410–1414
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, Baroni BM, Penna SC, Iversen VV, Bjordal JM (2008) Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg* 26:419–424
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Rossi RP, Grosselli D, Generosi RA, de Godoi V, Basso M, Mancalossi JL, Bjordal JM (2009) Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. *Photomed Laser Surg* 27:617–623
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Tauffer D, Manfro DS, Rech M, Danna V, Grosselli D, Generosi RA, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM (2009) Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci* 24:857–863
- Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ (1987) *Principles of Exercise Testing and Interpretation*. Lea & Febiger, Philadelphia
- Wills ED (1996) Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem J* 99:667–676
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186:464–478
- Bannister JV, Calabrese L (1987) Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal* 32:279–312
- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121–126
- Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR (2009) Biphasic dose response in low-level light therapy. *Dose Response* 7:358–383
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Frigo L, De Marchi T, Rossi RP, de Godoi V, Tomazoni SS, da Silva DP, Basso M, Lotti Filho P, Corsetti FV, Iversen VV, Bjordal JM (2010) 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* 40:524–532
- Enwemeka CS (2009) Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. *Photomed Laser Surg* 27:387–393
- International Association of Athletics Federations – IAAF (2010) Available at: <http://www.iaaf.org/statistics/toplists/index.html>. Accessed: August 20
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, de Godoi V, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM (2009) Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers Surg Med* 41:572–577
- Alessio HM (1993) Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 25:218–224
- Reid MB (2008) Free Radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radic Biol Med* 44:169–179
- Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, Marroni NP, González-Gallego J (2005) Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med* 37:293–300
- Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ (2009) Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. *Photomed Laser Surg* 27:863–869
- Lubart R, Eichler M, Lavi R, Friedman H, Shainberg A (2005) Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. *Photomed Laser Surg* 23:3–9
- Ji LL (1995) Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant system. *Exerc Sport Sci Rev* 23:135–166
- Powers SK, Jackson MJ (2008) Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 88:1243–1276
- Tullberg M, Alstergren PJ, Ernberg MM (2003) Effects of low-power laser exposure on masseter muscle pain and microcirculation. *Pain* 105:89–96
- Xu X, Zhao X, Liu TC, Pan H (2008) Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomed Laser Surg* 26:197–202

DISCUSSÃO

Durante a atividade física, a demanda energética intramuscular eleva-se e, para atender a esse requisito, o consumo de O² (VO₂) pode aumentar em até 20 vezes (Astrand *et al.*, 1986), enquanto o fluxo de oxigênio pelas fibras musculares ativas, pode aumentar em até 100 vezes em relação aos valores de repouso (Vollaard *et al.*, 2005). Consequentemente, a produção de ER também é potencializada durante o exercício. Em 1978, Dillard e colaboradores foram os primeiros a mostrar que a atividade física induzia aumento da peroxidação lipídica, após os voluntários pedalarem por 60 minutos, com intensidades moderadas, variando entre 25 e 75% do VO₂ máx. Desde então, um grande número de estudos vêm dando suporte à hipótese de que o exercício físico aumenta a produção de ER induzindo o estresse oxidativo (Davies *et al.*, 1982; Alessio, 1993). Apesar disso, os dados da literatura a respeito dessa modulação são conflitantes, estudos mostram que o exercício físico não aumentou os níveis de danos a lipídios (para revisão ver Vollaard *et al.*, 2005). O estresse oxidativo, além de estar associado à muitas doenças (diabetes, doenças cardiovasculares, doenças pulmonares, entre outras), também está envolvido em importantes processos fisiológicos, como o envelhecimento, a fadiga, a inflamação, entre outros (Alessio, 2000; Warburton *et al.*, 2006).

Embora o mecanismo exato do desenvolvimento da fadiga não esteja totalmente esclarecido (Allen *et al.*, 2008), sabe-se que o estresse oxidativo e o consequente comprometimento da função contrátil do músculo, pode resultar em fadiga muscular (Reid *et al.*, 1992). Sendo assim, o estudo da influência do LBP sobre o estresse oxidativo e a fadiga muscular são áreas de interesse em pesquisa na atualidade.

Os efeitos da LBP sobre a fadiga muscular induzida pelo exercício foram documentados em estudos envolvendo apenas um grupo muscular, tendo como resultado um aumento no desempenho, uma menor elevação de marcadores de fadiga e dano muscular (Leal Junior *et al.*, 2009a; Leal Junior *et al.*, 2009c). No entanto, na maioria das atividades desportivas, diversos músculos estão envolvidos. Por esse motivo, neste trabalho, avaliou-se os efeitos da LBP aplicada anteriormente a um protocolo de exercício envolvendo vários grupos musculares (teste de ergoespirometria).

Sabe-se que a LBP pode modular enzimas antioxidantes e minimizar os danos oxidativos quando aplicada posteriormente a lesões induzidas experimentalmente em ratos (Avni *et al.*, 2005; Fillipin *et al.*, 2005; Rizzi *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009; Servetto *et al.*, 2010; Silveira *et al.*, 2010). Porém, até o momento, não são conhecidos os efeitos da LBP sobre o estresse oxidativo induzido por exercício de intensidade progressiva em humanos.

Os efeitos benéficos da atividade física regular, de baixa e moderada intensidade, têm sido difundidos há muito tempo. Atualmente, aceita-se que a atividade física regular é muito eficiente na prevenção primária e secundária de diversas doenças crônicas como, por exemplo, doenças cardiovasculares, diabetes, câncer, hipertensão, obesidade, depressão, osteoporose, entre outras (Warburton *et al.*, 2006). No entanto, esses efeitos benéficos do exercício são perdidos com a exaustão. Sabe-se que o exercício exaustivo (especialmente quando esporádicos) provoca danos estruturais em células musculares, sendo evidenciados por aumentos na atividade sanguínea de enzimas musculares como CK e LDH.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos da laserterapia de baixa potência sobre o estresse oxidativo, dano muscular e fadiga pós-exercício de intensidade progressiva, em indivíduos saudáveis do sexo masculino com idades entre 20 e 25 anos. Para tanto, foram avaliados 22 indivíduos, que não praticavam atividade física regular, ou seja, mais de duas vezes por semana. De acordo com as informações obtidas no questionário de saúde ocupacional (Anexo 3), todos os participantes eram saudáveis, não fumantes e mantinham uma alimentação equilibrada, rica em todas as classes de nutrientes. Salienta-se, ainda, que os voluntários não relataram a ingestão de bebidas alcoólicas e o uso de fumo nas semanas em que foram realizadas as coletas, eliminando-se, dessa forma, uma possível interferência do cigarro e do álcool, nos resultados obtidos.

Observou-se que quando os voluntários receberam a aplicação prévia de LBP ao exercício melhoraram sua performance, ou seja, o tempo total de execução do exercício e VO_2 _{max} foram superiores (Table 2) aos atingidos quando os voluntários não receberam a aplicação de LBP.

Em estudo recente, Hayworth *et al.* (2010) avaliaram os efeitos da fototerapia (660nm) na citocromo oxidase (um intermediário da cadeia respiratória mitocondrial), em músculo esquelético (temporal) intacto de ratos vivos. Os autores observaram que a laserterapia pode ter efeitos citoprotetores no músculo esquelético e sugerem o uso da fototerapia para aumentar o potencial aeróbico muscular. Além disso, a LBP foi capaz de melhorar a função mitocondrial (Xu *et al.*, 2008) pela interação da luz com a citocromo oxidase (Karu 1999; Hayworth *et al.*, 2010), estimulando as células e potencializando o metabolismo celular (Lubart *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2009). Esses possíveis efeitos da LBP sobre a cadeia transportadora de elétrons pode explicar, ao menos em parte, a melhora da performance observada em nosso trabalho.

Observou-se, também, que a prática do exercício de intensidade progressiva induziu danos oxidativos a lipídios e proteínas e diminuiu a atividade da Sod (Table 3). A aplicação prévia de LBP ao exercício evitou os danos oxidativos a lipídios e proteínas, bem como a diminuição de atividade da enzima Sod (Table 3). Há evidências na literatura mostrando que a LBP aumenta a atividade da enzima Sod (Fillipini *et al.*, 2005, Liu *et al.*, 2009) e estimula a sua síntese pela célula (Lubart *et al.*, 2005, Huang *et al.*, 2009), o que poderia explicar a diminuição dos danos oxidativos a lipídios e proteínas observados após a aplicação de LBP.

Como consequência da atividade da Sod é gerado H_2O_2 , o qual é dismutado pela Cat ou GPx. A atuação dessas enzimas varia em relação à concentração de H_2O_2 , sendo que a GPx é mais efetiva em baixas concentrações dessa ER (Subudhi *et al.*, 2001). Considerando-se que não foi observada alteração na atividade da enzima Cat após a realização do exercício, é possível que a GPx tenha dismutado o H_2O_2 formado, evitando danos oxidativos causados pelo H_2O_2 . Estudos adicionais acerca da atividade da GPx após o exercício com e sem a aplicação prévia de LBP, seriam importantes para elucidar este fato.

Além de danos oxidativos, o exercício de intensidade progressiva também induziu o dano muscular (Figure 2), o que foi prevenido pela aplicação de LBP previamente ao exercício. Estes achados corroboram com estudos anteriores (Leal Junior *et al.*, 2009, 2010) que demonstram que a

LBP, quando aplicada anteriormente ao exercício, protege o músculo contra danos na estrutura muscular.

Muitas ferramentas têm sido utilizadas para minimizar a fadiga muscular em indivíduos saudáveis como, por exemplo, suplementos nutricionais (Werbach, 2000). Em alguns casos, as suplementações com antioxidantes têm se mostrado eficientes em diminuir o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico em humanos (Ashton *et al.*, 1998). Entretanto, ainda não existem evidências que suportem a melhora no desempenho esportivo em resposta a um menor nível de estresse oxidativo (Itoh *et al.*, 2000). Em contrapartida, nossos resultados mostram que, além de uma diminuição no dano oxidativo e muscular, obtivemos um incremento de performance quando os indivíduos receberam a aplicação da LBP, sugerindo que a redução do estresse oxidativo induzido pela LBP possa estar associado ao retardo à fadiga e à redução do dano muscular induzido pelo exercício físico. É possível, no entanto, que o aumento da microcirculação (Tullberg *et al.*, 2003) e a melhora na função mitocondrial (Xu *et al.*, 2008) também possam ser mecanismos relacionados aos efeitos positivos da LBP no aumento da performance dos indivíduos estudados.

Em resumo, a LBP surge como um possível e inovador agente antioxidante não-farmacológico, que pode prevenir o estresse oxidativo gerado pelo exercício físico de intensidade progressiva. Esses dados são de grande valia para atletas, pois demonstram que a LBP pode prevenir possíveis lesões musculares causadas por excesso de uso (*overtraining*) e auxiliar no processo de recuperação muscular.

Salienta-se, no entanto, que equipamentos de LBP, principalmente equivalentes ao que foi utilizado neste estudo, possuem, ainda, um alto custo econômico, o que pode dificultar a utilização dessa ferramenta. Além disso, a LBP mostrou-se efetiva na dose, tempo e modo de aplicação utilizada neste trabalho (Table 1), sendo necessários, ainda, outros estudos para elucidar a possível “janela terapêutica” de ação da LBP na prevenção do dano oxidativo, muscular e retardo da fadiga induzidos por exercícios de intensidade progressiva.

6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- O exercício de intensidade progressiva executado até a exaustão aumenta os danos oxidativos a lipídios (TBARS) e proteínas (proteínas carboniladas) e diminui a atividade da enzima Sod. Por outro lado, não foram observadas alterações significativas na atividade da enzima Cat.
- As concentrações de CK e LDH são aumentadas pelo exercício de intensidade progressiva executado até a exaustão, evidenciando a ocorrência de danos musculares pós-exercício.
- A aplicação prévia de LBP ao exercício de intensidade progressiva, preveniu os danos oxidativos a lipídios (TBARS) e proteínas (proteínas carboniladas) e evitou a diminuição da atividade de Sod induzida pelo exercício físico.
- A LBP, aplicada anteriormente ao exercício de intensidade progressiva, preveniu o aumento das concentrações de CK e LDH, causadas pelo exercício.
- A aplicação prévia de LBP ao exercício retardou a fadiga muscular e aumentou a performance dos voluntários (aumento no tempo total de execução do exercício e valores mais altos de $VO_{2\max}$ absoluto e relativo).

7. PERSPECTIVAS

Como continuidade deste trabalho, pretende-se:

- Avaliar os efeitos da aplicação de LBP, previamente à realização de exercício complexo, em marcadores da cascata inflamatória.
- Avaliar os efeitos da LBP, aplicada anteriormente à realização de exercício complexo, sobre a glutathione peroxidase e peroxirredoxinas.
- Quantificar a “janela terapêutica” (dosagens) de ação da LBP capaz de prevenir danos oxidativos e musculares e manter o aumento da performance em exercícios de alta intensidade.
- Investigar as diferenças da aplicação prévia e da aplicação posterior da LBP ao exercício complexo, avaliando os efeitos de cada uma sobre os danos oxidativos, musculares e marcadores da cascata inflamatória.
- Avaliar os efeitos do exercício complexo e das diferentes modalidades de aplicação da LBP sobre os danos oxidativos ao DNA.
- Investigar os efeitos da LBP aplicada anteriormente ao exercício a longo prazo (avaliando seus efeitos ao longo de 96 horas, por exemplo).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. **Methods Enzymol.** 105:121-126.
2. Albertini, R.; Aimbire, F.S.; Correa, F.I.; Ribeiro, W.; Cogo, J.C.; Antunes, E.; Teixeira, S.A.; De Nucci, G.; Castro-Faria-Neto, H.C.; Zângaro, R.A.; Lopes-Martins, R.A.B. (2004). Effects of different protocols doses of low power laser gallium–aluminum–arsenate (Ga–Al–As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced paw oedema. **J Photochem. Photobiol.** B72(2–3):101–107.
3. Alessio, H.M. (1993). Exercise-induce oxidative stress. **Med. Sci. Sports Exerc.** 25: 218-224.
4. Alessio, H.M.; Hagerman, A.E.; Fulkerson, B.K.; Ambrose, J.; Rice, R.E.; Wiley, R.L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** 32(9): 1576-1581.
5. Allen, D.G.; Lamb, G.D.; Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. **Physiol Rev.** 88: 287-332.
6. Almar, M.; Villa, J.G. (2002). Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative damage in road cycling. **Free Radic. Res.** 36(3):247-53.
7. Al-Watban, F.A.; Zhang, X.Y.; Andres, B.L. (2007). Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. **Photomed. Laser Surg.** 25:72-77.
8. Al-Watban, F.A.; Zhang, X.Y. (2004). The comparison of effects between pulsed and CW lasers on wound healing. **J Clin. Laser Med. Surg.** 22:15–18.
9. Amann, M.; Subudhi, J.; Walker, J.; Eisenman, P.; Shultz, B.; Foster, C. (2004). An evaluation of the predictive validity and reliability of ventilatory threshold. **Med. Sci.**

- Sports Exerc.** 36(10):1716-22.
10. Amaral, A.C.; Parizotto, N.A.; Salvini, T.F. (2001). Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. **Lasers Med. Sci.** 16(1):44–51.
 11. Ashton, T.; Rowlands, C.C.; Jones, E.; Young, I.S.; Jackson, S.K.; Davies, B.; Peters, J.R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.** 77: 498-502.
 12. Astrand, P.O., Hultman, E.; Juhlin-Dannfelt, A.; Reynolds, G. (1986). Disposal of lactate during and after strenuous exercise in humans. **J. Appl. Physiol.** 61(1):338-43.
 13. Avni, D.; Levkovitz, S.; Maltz, L.; Oron, U. (2005). Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. **Photomed. Laser Surg.** 23(3):273-7.
 14. Banfi, G.; Roi, G.S.; Dolci, A.; Susta, D. (2004). Behaviour of haematological parameters in athletes performing marathons and ultramarathons in altitude (skyrunners). **Clin. Lab. Haematol.** 26:373–7.
 15. Bannister, J.V.; Calabrese, L. (1987). Assays for superoxide dismutase. **Methods Biochem. Anal.** 32: 279-312.
 16. Baroni, B.M.; Leal Junior, E.C. (2010). Aerobic capacity of male professional futsal players. **J. Sports Med. Phys. Fitness.** 50:395-9.
 17. Baroni, B.M.; Leal Junior, E.C.; De Marchi, T.; Lopes, A.L.; Salvador, M.; Vaz, M.A.(2010). Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. **European J. Appl. Physiol.** 110(4):789-96.
 18. Basford, J.R. (1993). Laser therapy: scientific basis and clinical role. **Orthopedics.** 16:541–547.

19. Basford, J.R. (1995). Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers Surg. Med.** 16(4):331–342.
20. Basford, J.R.; Sheffield, C.G.; Harmsen W.S. (1999). Laser therapy: a randomized, controlled trial of the effects of low-intensity Nd:YAG laser irradiation on musculoskeletal back pain. **Arch. Phys. Med. Rehabil.** 80(6):647-52.
21. Bearden, S. E.; Moffatt, R.J.(2000). VO₂ Kinetics and the O₂ deficit in heavy exercise. **J. Appl. Physiol.** 88(4): 1407 – 1412.
22. Beckerman, H.; de Bie, R.A.; Bouter, L.M.; de Cuyper, H.J.; Oostendorp, R.A. (1992). The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: a criteria-based metaanalysis of randomized clinical trials. **Phys. Ther.** 72(7):483–491.
23. Bibikova, A.; Oron, U. (1994). Attenuation of the process of muscle regeneration in the toad gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. **Lasers Surg. Med.** 14:355-361.
24. Bjordal, J.M.; Johnson, M.I.; Iversen, V.; Aimbire, F.; Lopes-Martins R.A. (2006). Photoradiation in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. **Photomed. Laser Surg.** 24:158-68.
25. Bonnefoy, M.; Draï, J.; Kostka, T. (2002). Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. **Presse. Med.** 31(25):1174-84.
26. Brancaccio, P.; Maffulli, N.; Limongelli, F.M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. **Br Med Bull.** 81-82:209-230.
27. Caetano, K.S.; Frade, M.A.; Minatel, D.G.; Santana, L.A.; Enwemeka, C.S. (2009). Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. **Photomed. Laser Surg.** 27(1):111-8.
28. Campaña, V.; Moya, M.; Gavotto, A.; Soriano, F.; Juri, H.; Spitale, L.; Simes, J.; Palma, J.

- (1999). The relative effects of HeNe laser and meloxicam on experimentally induced inflammation. **Laser Therapy**. 11(1)36–41.
29. Chagas Júnior, O.L. (2004). Avaliação da ação do laser ($\lambda=685$ nm) sobre os mastócitos: contagem absoluta através do método esteriológico. (2004). **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
30. Chakravarti, B.; Chakravarti, D.N. (2007). Oxidative modification of proteins: age-related changes. **Gerontology** 53: 128-139.
31. Chavantes, M.C.; Jatene, A.D.(1990). Aplicação do laser na área cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol**. 54:63-68.
32. Chevion, S.; Moran, D.S.; Heled, Y.; Shani, Y.; Regev, G.; Abbou, B.; Berenshtein, E.; Stadtman, E.R.; Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. **Proc. Natl. Acad. Sci**. 100(9):5119-23.
33. Chow, R.T.; Heller, G.Z.; Barnsley, L. (2006). The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. **Pain**. 124:201-10.
34. Clarkson, P.M.; Hubal, M.J. (2002). Exercise-Induced Muscle Damage. **Am. J. Phys. Med. Rehabil**. 81(11).
35. Coyle, E.F. (2004). Fluid and fuel intake during exercise. **J. Sports Sci**. 22:39-55.
36. Coombes, J.S.; McNaughton, L.R. (2000). Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. **J. Sports Med. Phys. Fitness**. 40:240-246.
37. Davies, K.J.; Quintanilha, A.T.; Brook, G.A.; Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochem. Biophys. Res. Commun**. 107: 1198-1205.

38. Denis, C.; Dozmois, D.; Lacour, J.R. (1984). Endurance training, VO₂ max., and OBLA: a longitudinal study of two different groups. **Int. J. Sports Med.** 5:167-73.
39. Dillard, C.J.; Litov, R.E.; Savin, W.M.; Dumelin, E.E.; Trappel, A.L. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **J. Appl. Physiol.** 45: 927-932.
40. el-Mallakh, R.S.; Egan, M.; Wyatt, R.J. (1992). Creatine kinase and enolase: intracellular enzymes serving as markers of central nervous system damage in neuropsychiatric disorders. **Psychiatry.** 55(4):392-402.
41. Elosua, R.; Molina, L.; Fito, M.; Arquer, A.; Sanchez-Quesada J.L.; Covas, M.I.; Ordoñez-Llanos, J.; Marrugat, J. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. **Atherosclerosis.** 167(2):327-34.
42. Emanet, S. K.; Altan L.I.; Yurtkuran M. (2010). Investigation of the effect of GaAs laser therapy on lateral epicondylitis. **Photomed. Laser Surg.** 28(3):397-403.
43. Enwemeka, C.S. (2001). Attenuation and penetration depth of red 632.8 nm and invisible infrared 904 nm light in soft tissues. **Laser Therapy.** 13:95–101.
44. Enwemeka, C.S. (2009). Intricacies of Dose in Laser Phototherapy for Tissue Repair and Pain Relief. **Photomed. Laser Surg.** 27(3):387-93.
45. Esterbauer, H.; Cheeseman, K.H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods Enzymol.** 186:407-21.
46. Ferreira, D.M.; Zângaro, R.A.; Villaverde, A.B.; Cury, Y.; Frigo, L.; Picolo, G.; Longo, I.; Barbosa, D.G. (2005). Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. **Photomed. Laser Surg.** 23:177-181.

47. Fielding, R.A.; Manfredi, T.J.; Fiatarone, M.A.; Evans, W.J.; Cannon, J.G. (1993). Acute phase response in exercise.III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.** 265:166-172.
48. Fillipin, L. I.; Mauriz, J. L.; Vedovelli, K.; Moreira, A. J.; Zettler, C. G.; Lech, O.; Marroni, N. P.; González-Gallego J. (2005). Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibroses en rat traumatized Achilles tendon. **Lasers Surg. Med.** 37:293-300.
49. Fletcher, G.F.; Balady, G.J.; Amsterdam, E.A.; Chaitman, B.; Eckel, R.; Fleg, J.; Froelicher, V.F.; Leon, A.S.; Pina, I.L.; Rodney, R.; Simons-Morton, D.A.; Williams, M.A.; Bazzare, T. (2001). Exercise Standards for Testing and Training: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. **Circulation.** 104 (14): 1694-1740.
50. Fridovich, I. (1998). Oxygen toxicity: a radical explanation. **J. Exp. Biol.** 201:1203-1209.
51. Gomez-Cabrera, M.C.; Domenech, E.; Viña, J. (2008). Moderate exercise is na antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radic. Biol. Med.** 15:44(2):126-31.
52. Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (2007). **Free Radicals in Biology And Medicine.** 4th ed. Oxford Univ Press: New York, United States, 851p.
53. Harris, C. M.; Sanders, S. A.; Massey, V. (1999). Role of the flavin midpoint potential and NAD binding in determining NAD versus oxygen reactivity of xanthine oxidoreductase. **J. Biol. Chem.** 274:4561–4569.
54. Havas, E.; Komulainen, J.; Vihko, V. (1997). Exercise-induced increase in serum creatine kinase is modified by subsequent bed rest. **Int. J. Sports Med.** 18:578-582.
55. Hayworth, C.H.; Rojas, J. C.; Padilla, E.; Homes, G. M.; Sheridan, E. C.; Gonzalez-lima F. (2010). In vivo low-level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. **Photochem. Photobiol.** 86(3):673-80.
56. Hill, A.V.; Lupton, H. (1923). Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of

- oxygen. **Q. J. Med.** 16:135-171.
57. Huang, Y.Y.; Chen, A.C.; Carroll, J.D.; Hamblin, M.R. (2009). Biphasic Dose Response in Low Level Light Therapy. **Dose Response.** 1;7(4):358-83.
58. Inoue, M. (1994). Protective mechanism against reactive oxygen species. En: *The Liver. Biology and Pathology.* Ed. Arias, I. M.; Boyer, J.L.; Fausto, N.; Jacoby, W.B.; Schachter, D. A.; Shafritz, D. A. **Raven Press**, New York, 443-460.
59. Itoh, H.; Ohkuwa, T.; Yamazaki, Y.; Shimoda, T.; Wakayama, A.; Tamura, S.; Yamamoto, T.; Sato, Y.; Miyamura, M. (2000). Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. **Int. J. Sports Med.** 21:369-374.
60. Karu, T. (1999). Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J Photochem Photobiol. B.** 49:1-17.
61. Kitchen, S.S.; Bazin, S. (1998). **Eletroterapia de Clayton.** 10^a ed. São Paulo: Manole. 350p.
62. Koyama, K.; Kaya, M.; Ishigaki, T.; Tsujita, J.; Horsi, S.; Seino, T.; Kasugai, A. (1999). Role of xanthine oxidase in delayed lipid peroxidation in rat liver induced by acute exhausting exercise. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.** 80(1):28-33.
63. Kretzschmar, M.; Müller, D.; Hübscher, J.; Marin, E.; Klinger, W. (1991). Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. **Int. J. Sports Med.** 12(2):218-22.
64. Lawler, J.M.; Powers, S.K.; Visser, T.; Van Dijk, H.; Kordus, M.J.; Ji, L.L. (1993). Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: effects of fiber type and age. **Am. J. Physiol.** 265: R1344–1350.
65. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Dalan, F.; Ferrari, M.; Sbabo, F.M.; Generosi, R.A.; Baroni, B.M.; Penna, S.C.; Iversen, V.V.; Bjordal, J.M. (2008). Effect of 655-nm low-level

- laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. **Photomed. Laser Surg.** 26: 419-424.
66. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Vanin, A.A.; Baroni, B.M.; Grosselli, D.; De Marchi, T.; Iversen, V.V.; Bjordal, J.M. (2009a). Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. **Lasers Med. Sci.** 24: 425-431.
67. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Baroni, B.M.; De Marchi, T.; Rossi, R.P.; Grosselli, D.; Generosi, R.A.; de Godoi, V.; Basso, M.; Mancalossi, J.L.; Bjordal, J.M. (2009b). Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. **Photomed. Laser Surg.** 27: 617-623.
68. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Rossi, R.P.; De Marchi, T.; Baroni, B.M.; de Godoi, V.; Marcos, R.L.; Ramos, L.; Bjordal, J.M. (2009c). Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. **Lasers Surg. Med.** 41: 572-577.
69. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Baroni, B.M.; De Marchi, T.; Taufer, D.; Manfro, D.S.; Rech, M.; Danna, V.; Grosselli, D.; Generosi, R.A.; Marcos, R.L.; Ramos, L.; Bjordal, J.M. (2009d). Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. **Lasers Med. Sci.** 24: 857-863.
70. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; de Almeida, P.; Ramos, L.; Iversen, V.V.; Bjordal, J.M. (2010a). Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. **Eur. J. Appl. Physiol.** 108: 1083-1088.
71. Leal Junior, E.C.; Lopes-Martins, R.A.; Frigo, L.; De Marchi, T.; Rossi, R.P.; de Godoi, V.; Tomazoni, S.S.; da Silva, D.P.; Basso, M.; Lotti Filho, P.; Corsetti, F.V.; Iversen, V.V.; Bjordal, J.M. (2010b). 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.** 40: 524-532.

72. Lev, E.I.; Tur-Kaspa, I.; Ashkenazy, I.; Reiner, A.; Faraggi, D.; Shemer, J.; Argov, Z. (1999). Distribution of serum creatine kinase activity in young healthy persons. **Clin. Chim. Acta.** 279:107-115.
73. Levine, R.L.; Garland, D.; Oliver, C.N.; Amici, A.; Climent, I.; Lenz, A.G.; Ahn, B.W.; Shaltiel, S.; Stadtman, E.R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol.** 186:464-478.
74. Liu, X.G.; Zhou, Y.J.; Liu, T.C.; Yuan, J.Q. (2009). Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. **Photomed. Laser Surg.** 27:863–869.
75. Lopes-Martins, R. A.; Marcos R.L.; Leonardo P.S.; Prianti Jr, A.C.; Muscara, M.N.; Aimbire, F.; Frigo L.; Iversen, V.V.; Bjordal, J.M. (2006). Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. **J. Appl. Physiol.** 101, 283–288.
76. Low, L.; Reed, A. (2001). **Eletroterapia explicada: Princípios e prática.** 3³ ed. Barueri: Manole.484p.
77. Lubart, R.; Eichler, M.; Lavi, R.; Friedman H, Shainberg A. (2005) Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. **Photomed. Laser Surg.** 23:3-9.
78. Mair, J.; Koller, A.; Artner-Dworzak, E.; Haid, C.; Wicke, K.; Judmaier, W.; Puschendorf B. (1992). Effects of exercise on plasma myosin heavy chain fragments and MRI of skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.** 72: 656–663
79. McAnulty, S.R.; McAnulty, L.S. (2003). Influence of carbohydrate ingestion on oxidative stress and plasma antioxidant potential following a 3h run. **Free. Radic. Res.** 37(8):835-40.
80. MacDougall, J.D.; Hicks, A.L.; Mac Donald, J.R.; McKelvie, R.S.; Green, H.J.; Smith, K.M. (1998). Muscle performance and enzymatic adaptations to sprint interval training. **J. Appl. Physiol.** 84:2138-2142.
81. Mendez, T.M.T.V.; Pinheiro, A.L.B.; Pacheco, M.T.T.; Nascimento, P.M.; Ramalho, L.M.P.

- (2004). Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. **J. Clin. Laser Med. Surg.** 22:1–7.
82. Meneguello, M.O.; Mendonca, J.R.; Lancha, A.H. Jr.; Costa Rosa, L.F. (2003). Effect of arginine, ornithine and citrulline supplementation upon performance and metabolism of trained rats. **Cell Biochem. Funct.** 21:85-91.
83. Mester, E. (1966). A Laser sugar alkamazaea a gyogyaezatban (The use of the laser beam in therapy). **Orv. Hetil.** 107:1012-1016.
84. Meyer, T.; Lucia, A.; Earnest, C.P.; Kinderman, W. (2005). A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from sub maximal gas exchange parameters – theory and application. **Int. J. Sports Med.** 26:1-11.
85. Miller, W.G.; Chinchilli, V.M.; Gruemer, H.D.; Nance, W.E. (1984). Sampling from a skewed population distribution as exemplified by estimation of the creatine kinase upper reference limit. **Clin Chem.** 30:18-23.
86. Mujika, I.; Padilla, S. (1997). Creatine supplementation as an ergogenic acid for sports performance in highly trained athletes: a critical review. **Int. J. Sports Med.** 18:491-496.
87. Nascimento, P.M.; Pinheiro, A.L.; Salgado, M.A.; Ramalho, L.M. (2004). A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. **Photomed. Laser Surg.** 22:513–518.
88. Nigro, G.; Comi, L.I.; Limongelli, F.M.; Giugliano, M.A.; Politano, L.; Petretta, V.; Passamano, L.; Stefanelli, S. (1983). Prospective study of X-linked progressive muscular dystrophy in Campania. **Muscle Nerve.** 6:253-262.
89. Ozdemir, F.; Birtane, M.; Kokino, S. (2001). The clinical efficacy of low-power laser therapy on pain and function in cervical osteoarthritis. **Clin. Rheumatol.** 20:181-4.

90. Palazzetti, S.; Richard, M.J.; Favier, A.; Maragitis, I. (2003). Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. **Can. J. Appl. Physiol.** 28(4):588-604.
91. Pessoa, E.S.; Melhado, R.M.; Theodoro, L.H.; Garcia, V.G. (2004). A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals. **Photomed. Laser Surg.** 22:199-204.
92. Powers, S.K.; Jackson, M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol. Rev.** 88(4):1243-76.
93. Ramel, A.; Wagner, K.H.; Elmadfa, I. (2004). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. **Eur. J. Nutr.** 43(1):2-6.
94. Reddy, G.K.; Stehno-Bittel, L.; Enwemeka C.S. (1998). Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. **Lasers Surg. Med.** 22(5):281-7.
95. Reid, M.B.; Haack, K.E.; Franchek, K.M.; Valberg, P.A.; Kobzik, L.; West, M.S. (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro. **J. Appl. Physiol.** 73:1797 – 1804.
96. Richardson, R.S.; Tagore, K.; Haseler, L.J.; Jordan, M.; Wagner, P.D. (1998). Increased VO₂ max with right-shifted Hb-O₂ dissociation curve at a constant O₂ delivery in dog muscle in situ. **J. Appl. Physiol.** 84 (3): 995-1002.
97. Rizzi, C.F.; Mauriz, J.L.; Freitas Corrêa, D.S.; Moreira, A.J.; Zettler, C.G.; Filippin, L.I.; Marroni, N.P.; González-Gallego, J. (2006). Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. **Lasers Surg. Med.** 38:704-713.
98. Rochkind, S.; Leider-Trejo, L.; Nissan, M.; Shamir, M.H.; Kharenko, O.; Alon, M. (2007). Efficacy of 780-nm laser phototherapy on peripheral nerve regeneration after neurotube

- reconstruction procedure (double-blind randomized study). **Photomed. Laser Surg.** 25:137-43.
99. Sahlin, K. (1992). Metabolic factors in fatigue. **Sports Med.** 13(2):99-107.
100. Sato, Y.; Ohshima, T. (2000). The expression of mRNA of proinflammatory cytokines during skin wound healing in mice: A preliminary study for forensic wound age estimation (II). **Int. J. Legal Med.** 113:140–145.
101. Scharhag, J.; Meyer, T.; Gabriel, H.H.; Auracher, M.; Kindermann, W. (2002). Mobilization and oxidative bursts of neutrophils are influenced by carbohydrate supplementation during prolonged cycling in humans. **Eur. J. Appl. Physiol.** 87(6): 584-7.
102. Schawlow, A.L. (1995). Principles of lasers. **J. Clin. Laser Med. Surg.** 13:127-130.
103. Schumann, G.; Klauke, R. (2003). New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalized subjects. **Clin. Chim. Acta.** 327:69-79.
104. Seiguel, G. J.; Agranoff, B. W.; Albers, W.; Fisher, S. K.; Uhler, M. D. (1999). **Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular and Medical Aspects.** 6 ed. Lippincott, Williams & Wilkins: Philadelphia.
105. Serra, S. (1997). Considerações sobre ergoespirometria. **Arq. Bras. Cardiol.** 68:301-4.
106. Servetto, N.; Cremonezzi, D.; Simes, J.C.; Moya, M.; Soriano, F.; Palma J.A.; Campaña V.R. (2010). Evaluation of inflammatory biomarkers associated with oxidative stress and histological assessment of low-level laser therapy in experimental myopathy. **Laseres Surg. Med.** 42(6):577-83.
107. Sesboué, B.; Guincestres, J.Y. (2006). Muscular Fatigue. **Annales de réadaptation**

- et de medicine physique.** 49:348-354.
108. Silva, P.R.S.; Romano, A.; Yazbek Jr, P.; Cordeiro, J.R.; Battistella, L.R. (1998). Ergoespirometria computadorizada ou calorimetria indireta: um método não invasivo de crescente valorização na avaliação cardiorrespiratória ao exercício. **Rev. Bras. Med. Esporte.** 4:147-58.
109. Silveira, P.C.; Silva L.A.; Freitas.: Latini, A.; Pinho, R.A. (2011). Effects of low-powerlaser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing. **Lasers Med. Sci.** 26(1):125-31.
110. Stergioulas, A.; Stergioula, M.; Aarskog, R.; Lopes-Martins, R.A.; Bjordal, J.M. (2008). Effects of low-level laser therapy and eccentric exercises in the treatment of recreational athletes with chronic achilles tendinopathy. **Am. J. Sports Med.** 36:881-7.
111. Strømme, J.H.; Rustad, P.; Steensland, H.; Theodorsen, L.; Urdal, P. (2004). Reference intervals for eight enzymes in blood of adult females and males measured in accordance with the International Federation of Clinical Chemistry reference system at 37°C: part of the Nordic Reference Interval Project. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.** 64:371-384.
112. Subudhi, A.W.; Davis, S.L.; Kipp, R.W.; Askew, E.W. (2001). Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski races. **Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.** 11(1):32-41.
113. Szabo, A.; Romvari, R.; Bogner, P.; Febel, H.; Szendro, Z. (2003). Metabolic changes induced by regular submaximal aerobic exercise in meat-type rabbits. **Acta Vet. Hung.** 51(4):503-512.
114. Szumilak, D.; Sulowicz, W.; Walatek, B. (1998). Rhabdomyolysis: clinical features, causes, complications and treatment. **Przegl. Lek.** 55:274-279.

115. Taylor, H.L.; Buskirk, E.; Henschel, A. (1955). Maximal oxygen intake as an objective measure of cardiorespiratory performance. **J. Appl. Physiol.** 8:73-80.
116. Terrados, N.; Fernández, B. (1997). **Fatiga Muscular.** In: Martínez, A.C. **La fatiga muscular en el rendimiento deportivo.** 1 ed. Madrid: Síntesis, 435p.
117. Thompson, D.; Williams, C.; Kingsley, M.; Nicholas, C.W.; Lakomy, H.K.; McArdle, F.; Jackson, M.J. (2001). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. **Int. J. Sports Med.** 22:68-75.
118. Tullberg, M.; Alstergren, P.J.; Ernberg, M.M. (2003). Effects of low-power laser exposure on masseter muscle pain and microcirculation. **Pain.** 105: 89-96.
119. Ursini, M. V.; Parrella, A.; Rosa, G.; Salzano, S.; Martini, G. (1997). Enhanced expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human cells sustaining oxidative stress. **Biochem. J.** 323:801-806
120. Urso, M.L.; Clarkson, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicol** 189:41-54.
121. Viña, J.; Gomez-Cabrera, M. C.; Lloret, A.; Marquez, R.; Minana, J. B.; Pallardo, F. V.; Sastre, J. (2000). Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. **IUBMB Life.** 50:271–277.
122. Vincent, H.K.; Morgan, J.W.; Vincent, K.R. (2004). Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** 36 (5): 772-779.
123. Vollaard, N.B.; Shearman, J.P.; Cooper, C.E. (2005). Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Med.** 35(12):1045-62.

124. Warburton, D. E.; Nicol, C. W.; Bredin, S. S. (2006). Health benefits of physical activity: the evidence. **Can. Med. Assoc. J.** 174:801–809.
125. Wasserman, K.; Mcilroy, M.B. (1964). Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **Am. J. Cardiol.** 14:844-52.
126. Werbach, M.R. (2000). Nutritional strategies for treating chronic fatigue syndrome. **Altern. Med. Rev.** 5:93-108.
127. Woodruff, L.D.; Bounkeo, J.M.; Brannon, W.M.; Dawes, K.S.; Barham, C.D.; Waddell, D.L.; Enewmeka, C.S. (2004). The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. **Photomed. Laser Surg.** 22:241-247.
128. Wolf, P.L.; Lott, J.A.; Nitti, G.J.; Bookstein, R. (1987). Changes in serum enzymes, lactate and haptoglobin following acute physical stress in international-class athletes. **Clin. Biochem.** 20:73-77.
129. Wong, E.T.; Cobb, C.; Umehara, M.K.; Wolff, G.A.; Haywood, L.J.; Greenberg, T.; Shaw, S.T. Jr. (1983). Heterogeneity of serum creatine kinase activity among racial and gender groups of the population. **Am. J. Clin. Pathol.** 79:582-586.
130. Wu, A.H. (2006). **Tietz clinical guide to laboratory tests**. St Louis, Missouri, USA: Saunders, 306–309.
131. Xu, X.; Zhao, X.; Liu, T.C.; Pan H. (2008). Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. **Photomed. Laser Surg.** 26, 197–202.
132. Young, D.S. (1997). Effects of drugs on clinical laboratory tests. **Ann. Clin. Biochem.** 34:579-81.

133. Zelko, I. N.; Mariani, T. J.; Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CU-Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) gene structure, evolution and expression. **Free Radic. Biol. Med.** 33(3): 337-49.
134. Zivin, J.A.; Albers, G.W.; Bornstein, N.; Chippendale, T.; Dahlof, B.; Devlin, T.; Fisher, M.; Hacke, W.; Holt, W.; Ilic, S.; Kasner, S.; Lew, R.; Nash, M.; Perez, J.; Rymer, M.; Schellinger, P.; Schneider, D.; Schwab, S.; Veltkamp, R.; Walker, M.; Streeter, J. (2009). Effectiveness and safety of transcranial laser therapy for acute ischemic stroke. **Stroke.** 40:1359-64.

9. ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____ (RG: _____),

DECLARO, na condição de voluntário do projeto de pesquisa intitulado, “Efeito da Laserterapia de Baixa Potência sobre o Estresse Oxidativo Induzido pelo Exercício Físico”, desenvolvido pelo fisioterapeuta Thiago De Marchi, aluno do programa de pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS) e orientado da Profa. Dra. Mirian Salvador, que fui devidamente esclarecido quanto aos seguintes aspectos:

1°. A pesquisa tem o objetivo de verificar se a aplicação da laserterapia poderá diminuir o dano (mesmo os que não causam sintomas ao paciente) que podem ser induzidos pelo exercício físico, como por exemplo, caminhadas e corridas. Consequentemente, esta pesquisa, poderá contribuir para melhorar o desempenho dos indivíduos em exercícios de intensidade progressiva.

2°. A laserterapia tem sido utilizada habitualmente como forma de reabilitação de lesões físicas, como por exemplo, torções, lesões musculares, lesões da pele, entre outras. Recentemente tem sido demonstrado que a utilização de laserterapia pode retardar a fadiga e o dano muscular, bem como, diminuir a inflamação quando aplicada anteriormente a exercícios de alta intensidade (Leal Junior et. al., 2008, 2009). O conhecimento do mecanismo de ação da LBP contribuirá para o esclarecimento e efetividade desta terapia.

3°. O voluntário realizará dois Testes de Ergoespirometria, sob supervisão médica e monitoramento cardíaco (eletrocardiograma) em dois dias distintos. O teste consistirá em uma corrida em esteira que terá uma inclinação fixa de 1% e uma velocidade variável partindo de 3 km/h ao fim da fase de aquecimento com duração de 3 (três) minutos, tendo um incremento de 1 km/h a cada minuto até atingir a velocidade máxima de 16 km/h. O término da avaliação dar-se-á assim que o voluntário relate que não consegue mais continuar devido ao cansaço. Neste momento, inicia-se a fase de recuperação com duração de 3 (três) minutos a uma velocidade de 6 km/h. O procedimento será encerrado, sempre que o voluntário assim o solicitar.

4°. Antes do teste de ergoespirometria o voluntário receberá a aplicação de laserterapia de baixa potência ou placebo (simulação da aplicação de laserterapia, porém com o equipamento desligado), que consistirá na aplicação de laser nos membros inferiores.

5° Além disso, serão feitas 3 coletas sanguíneas (aproximadamente 5,0 ml), por profissionais habilitado e com material descartável, em cada dia, totalizando seis coletas sanguíneas. As coletas poderão, eventualmente, ocasionar hematomas (manchas roxas), porém sem riscos à saúde dos participantes. Para diminuir a possibilidade do aparecimento de hematomas (manchas roxas), os voluntários serão orientados a comprimir o local da punção sanguínea.

7° A laserterapia não apresenta nenhum risco à saúde dos voluntários. O teste de ergoespirometria pode gerar vertigem e, raramente, arritmias cardíacas. No caso do médico constatar qualquer início de anormalidade

cardíaca o teste será suspenso, o voluntário informado e encaminhado a médico cardiologista.

8°. Será garantido ao voluntário, antes e durante o curso da pesquisa, qualquer tipo de esclarecimento a respeito dos procedimentos relacionados à intervenção realizada.

9°. O fisioterapeuta Thiago De Marchi será responsável pela assistência dada ao voluntário durante aplicação da LBP. A enfermeira será responsável por acompanhar o paciente durante a realização das coletas sanguíneas. Durante o teste de ergoespiometria, os responsáveis serão o médico do IME e o fisioterapeuta Thiago De Marchi.

10°. O voluntário tem a liberdade de se recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

11°. O voluntário tem a garantia de sigilo quanto aos dados resultantes da pesquisa, assegurando-lhe absoluta privacidade.

12°. Os dados da pesquisa podem vir a ser publicados/divulgados, sem menção ou qualquer tipo de identificação do voluntário.

13°. Não haverá qualquer tipo de remuneração financeira aos voluntários por participarem da pesquisa, bem como nenhum tipo de indenização além das previstas por lei.

DECLARO, igualmente, que após conveniente esclarecimento pelos pesquisadores e de ter compreendido o que me foi explicado, consisto voluntariamente, em participar desta pesquisa.

Caxias do Sul, _____ de _____ de 2009.

Voluntário

Thiago De Marchi

Profa. Dra. Mirian Salvador

Crefito 4842-LTT/F

Universidade de Caxias do Sul

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidante

Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Mirian Salvador

Aluno: Thiago De Marchi (Fisioterapeuta - Crefito 4842-LTT/F)

Rua Francisco Getúlio Vargas, n°.1130 Caxias do Sul- RS CEP: 95070-560

Telefone para contato: (54) 3218 2105

ANEXO 2
QUESTIONÁRIO DE SAÚDE OCUPACIONAL

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE OCUPACIONAL

1. Nome: _____.

2. Amostra número: _____.

3. Data: ___/___/___.

3. Idade: _____. (em anos).

4. Realiza atividade física aeróbica? () Sim () Não

Se sim: Quantas vezes por semana: _____.

5. Você fuma ou já fumou? () Sim () Não

6. Você já teve alguma lesão muscular? () Sim () Não

Se sim: Qual e há quanto tempo? _____ (mês e ano).

7. Você faz uso de algum medicamento/suplemento de uso contínuo?

() Sim () Não

8. Você teve ou tem alguma problema de saúde? () Sim () Não

Se sim, descreva: _____

9. Comente sobre sua dieta, caso ela tenha algo de especial (por exemplo, dieta rica em proteínas e pobre em carboidratos, rica em frutas, legumes, verduras, etc.).

10. Você faz uso regular de bebidas alcoólicas?

() Sim () Não

Se sim, qual ou quais? _____

Indique a sua média de consumo semanal: _____

ANEXO 3
CURRICULUM LATTES DO CANDIDATO

Thiago De Marchi

Curriculum Vitae

Dados Pessoais

Nome Thiago De Marchi
Filiação Nilton De Marchi e Marta Regina De Marchi
Nascimento 16/05/1985 - Caxias Do Sul/RS - Brasil

Endereço profissional Universidade de Caxias do Sul, Reitoria, Instituto de Medicina do Esporte –
Bloco 70
Rua Francisco Getulio Vargas 1130
Petropolis - Caxias do Sul
95001-970, RS - Brasil
Telefone: 54 32182100

Endereço eletrônico

e-mail para contato : thiagomarchi@gmail.com
e-mail alternativo : tmarchi@ucs.br

Formação Acadêmica/Titulação

- 2009** Mestrado em Biotecnologia.
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
Título: EFEITOS DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO
Orientador: Mirian Salvador
- 2003 - 2008** Graduação em Fisioterapia.
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
Título: EFEITOS DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O DANO MUSCULAR, INFLAMAÇÃO E LACTATO SANGUÍNEO GERADOS POR UM PROTOCOLO DE FADIGA INDUZIDO POR EXERCÍCIO DE ALTA INTENSIDADE EM ATLETAS PROFISSIONAIS DE VOLEIBOL
Orientador: Ernesto Cesar Pinto Leal Junior
- 2001 - 2003** Ensino Profissional de nível técnico em Técnico de Informática.
Universidade de Caxias do Sul - Cetec, CETEC, Brasil
- 2000 - 2002** Ensino Médio (2o grau).
Universidade de Caxias do Sul - Cetec, CETEC, Brasil
-

Formação complementar

- 2010 - 2010** Curso de curta duração em Treinamento Funcional: Módulo Básico.
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
- 2010 - 2010** Curso de curta duração em Capacitação para o Uso de Dinamômetro Isocinético.
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
- 2008 - 2008** Curso de curta duração em Mulligan Manual Therapy: NAGS, SNAGS and MWMS..
Manual Concepts Institute, MCI, Austrália
- 2004 - 2004** Curso de curta duração em Utilização de Bandagens Funcionais.
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
-

Atuação profissional

1. Universidade de Caxias do Sul - UCS

Vínculo institucional

2011 - Atual	Vínculo: Celetista formal , Enquadramento funcional: Técnico de Laboratório , Carga horária: 40, Regime: Integral
2010 - 2010	Vínculo: Estágio em docência , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 5, Regime: Parcial
2009 - 2010	Vínculo: CLT , Enquadramento funcional: Técnico , Carga horária: 20, Regime: Parcial
2009 - Atual	Vínculo: Instituto de Biotecnologia , Enquadramento funcional: Mestrando, Regime: Parcial
2008 - 2009	Vínculo: Iniciação Científica , Enquadramento funcional: Estagiário do Laboratório de Movimento Humano , Carga horária: 20, Regime: Parcial
2007 - 2007	Vínculo: Estágio extra-curricular , Enquadramento funcional: Estagiário do Projeto UCS Olimpíadas , Carga horária: 20, Regime: Parcial
2007 - 2007	Vínculo: Estágio extra-curricular , Enquadramento funcional: Estagiário de Fisioterapia , Carga horária: 2, Regime: Parcial
2007 - 2007	Vínculo: Estágio extra-curricular , Enquadramento funcional: Estagiário de Fisioterapia , Carga horária: 4, Regime: Parcial

Atividades

06/2011 - 06/2011	Especialização <i>Especificação:</i> <i>FISIOTERAPIA DESPORTIVA E SUAS NOVAS TENDÊNCIAS</i>
2009 - Atual	Projetos de pesquisa, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia <i>Participação em projetos:</i> <i>Efeitos da Laserterapia de Baixa Potência Sobre o Estresse Oxidativo Induzido pelo Exercício Físico</i>
06/2008 - 06/2009	Projetos de pesquisa, Reitoria, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa <i>Participação em projetos:</i> <i>Análise dos efeitos de métodos e recursos fisioterapêuticos na prevenção e reabilitação de lesões desportivas e na recuperação muscular pós-exercícios de alta intensidade</i>
08/2007 - 06/2009	Projetos de pesquisa, Reitoria, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa <i>Participação em projetos:</i> <i>Efeitos da aplicação do Laser de Baixa Potência sobre a fadiga muscular e os índices preditores de performance física</i>

2. Esporte Clube Juventude - ECJ

Vínculo institucional

2004 - 2004	Vínculo: Estágio extra-curricular , Enquadramento funcional: Estagiário do Departamento Médico , Carga horária: 23, Regime: Parcial
--------------------	---

Projetos

2009 - Atual	Efeitos da Laserterapia de Baixa Potência Sobre o Estresse Oxidativo Induzido pelo Exercício Físico Descrição: Estudos recentes (Leal Junior et. al., 2009; Leal Junior et. al., 2010), demonstraram que a Laserterapia de Baixa Potência (LBP) é capaz de retardar a fadiga muscular induzida por exercícios de curta duração e alta intensidade, em protocolos de exercício envolvendo apenas um grupo músculo. No
---------------------	---

entanto, em atividades desportivas, vários grupos musculares estão envolvidos na realização do exercício. Portanto, apesar dos efeitos positivos da LBP observados em estudos anteriores, vários fatores ainda são desconhecidos, tais como: mecanismos da LBP em retardar a fadiga e os efeitos em exercícios complexos com maior duração. Nesta perspectiva, objetivamos testar se a LBP pode retardar a fadiga muscular e melhorar o desempenho no exercício de intensidade progressiva, bem como proteger o músculo esquelético contra os danos musculares e oxidativos induzidos pelo exercício de intensidade progressiva.

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (2); Doutorado (1);

Integrantes: Thiago De Marchi; Ernesto Cesar Pinto Leal Junior; Shaiane da Silva Tomazoni; Mirian Salvador (Responsável); Celiana Bortoli

Financiador(es):

2008 - 2009 Análise dos efeitos de métodos e recursos fisioterapêuticos na prevenção e reabilitação de lesões desportivas e na recuperação muscular pós-exercícios de alta intensidade

Descrição: O esporte devido suas características de esforço intenso, proporciona aos atletas um considerável risco de lesões, entre as quais destacam-se as lesões musculoesqueléticas originadas por sobrecarga. Um dos principais fatores responsáveis pela incidência de lesões é a falta de preparo físico ou excesso de treinamento, que estão diretamente relacionados à fadiga muscular. Normalmente usa-se o termo fadiga para descrever uma sensação de cansaço e a concomitante redução da eficiência muscular. A fadiga está relacionada com a depleção das ofertas do sistema creatina fosfato, da glicose sanguínea, do glicogênio muscular e consequentemente da ATP, e também com o aumento da concentração de lactato sanguíneo e acidose metabólica. A terapia com laser de baixa potência vem sendo utilizada para tratar algias, processos cicatriciais, rupturas ósseas, lesões ligamentares e processos inflamatórios em geral. Apenas um estudo conduzido até o momento evidenciou em animais que a laserterapia de baixa potência através do aumento da síntese de ATP e incremento da microcirculação sanguínea, facilita a produção de energia e o escoamento de metabólitos, retardando assim a fadiga muscular. (LOPES-MARTINS et al., 2006) No presente projeto serão realizados ensaios clínicos randomizados placebo-controlados (duplo-cego), com o objetivo de verificar os efeitos da laserterapia de baixa potência sobre a fadiga muscular e sobre diversos indicadores de performance física em humanos. A comprovação dos resultados da laserterapia de baixa potência como ferramenta de retardo da fadiga muscular, possibilitará posteriormente que este recurso seja utilizado de maneira curativa e preventiva em diversas condições de distúrbios músculo-esqueléticos relacionadas à mesma, que tem alta incidência de acometimento em indivíduos atletas e não atletas

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (6);

Integrantes: Thiago De Marchi; Ernesto Cesar Pinto Leal Junior (Responsável); Bruno Manfredini Baroni; Douglas Grosselli; Rafael Paolo Rossi; Vanessa de Godoi; Maira Basso; Rafael Abeche Generosi

Financiador(es): Laboratorio do Movimento Humano - Universidade de Caxias do Sul-LMH

2007 - 2009 Efeitos da aplicação do Laser de Baixa Potência sobre a fadiga muscular e os índices preditores de performance física

Descrição: O esporte devido suas características de esforço intenso, proporciona aos atletas um considerável risco de lesões, entre as quais destacam-se as lesões musculoesqueléticas originadas por sobrecarga. Um dos principais fatores responsáveis pela incidência de lesões é a falta de preparo físico ou excesso de treinamento, que estão diretamente relacionados à fadiga muscular. Normalmente usa-se o termo fadiga para descrever uma sensação de cansaço e a concomitante redução da eficiência muscular. A fadiga está relacionada com a depleção das ofertas do sistema creatina fosfato, da glicose sanguínea, do glicogênio muscular e consequentemente da ATP, e também com o aumento da concentração de lactato sanguíneo e acidose metabólica. A terapia com laser de baixa potência vem sendo utilizada para tratar algias, processos cicatriciais, rupturas ósseas, lesões ligamentares e processos inflamatórios em geral. Apenas um estudo conduzido até o momento evidenciou em animais que a laserterapia de baixa potência através do aumento da síntese de ATP e incremento da microcirculação sanguínea, facilita a produção de energia e o escoamento de metabólitos, retardando assim a fadiga muscular. (LOPES-MARTINS et al., 2006) No presente projeto serão realizados ensaios clínicos randomizados placebo-controlados (duplo-cego), com o objetivo de verificar os efeitos da laserterapia de baixa potência sobre a fadiga muscular e sobre diversos indicadores de performance física em humanos. A comprovação dos resultados da laserterapia de baixa potência como ferramenta de retardo da fadiga muscular, possibilitará posteriormente que este recurso seja utilizado de maneira curativa e preventiva em diversas condições de distúrbios músculo-esqueléticos relacionadas à mesma, que tem alta incidência de acometimento em indivíduos atletas e não atletas.

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (6);

Integrantes: Thiago De Marchi; Ernesto Cesar Pinto Leal Junior (Responsável); Bruno Manfredini Baroni; Douglas Grosselli; Rafael Paolo Rossi; Vanessa de Godoi; Maira Basso; José Luis Mancalossi; Rafael Abeche Generosi

Financiador(es): Laboratorio do Movimento Humano - Universidade de Caxias do Sul-LMH

Revisor de periódico

1. International Journal of the Physical Sciences -

Vínculo

2011 - Atual Regime: Parcial

2. African Journal of Pharmacy and Pharmacology -

Vínculo

2011 - Atual Regime: Parcial

Idiomas

Inglês Compreende Razoavelmente , Fala Razoavelmente, Escreve Razoavelmente, Lê Razoavelmente

Espanhol Compreende Bem , Fala Razoavelmente, Escreve Razoavelmente, Lê Bem

Prêmios e títulos

2010 Proficiência em Língua Estrangeira - Inglês, Universidade de Caxias do Sul

Produção em C, T& A

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Baroni, Bruno Manfredini, Rossi, Rafael Paolo, de Godoi, Vanessa, De Marchi, Thiago, Tomazoni, Shaiane da Silva., Almeida, Patrícia, Salvador, Mirian, Grosselli, Douglas, Generosi, Rafael Abeche, Basso, Maira, Mancalossi, José Luis, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão A fototerapia com diodo emissor de luz (LEDT) aplicada pré-exercício inibe a peroxidação lipídica em atletas após exercício de alta intensidade. Um estudo preliminar.. Revista Brasileira de Medicina do Esporte (Impresso). , v.17, p.8 - 12, 2011.

2. Pertile, Lara, Vaccaro, Thaisa Chissini, De Marchi, Thiago, Rossi, Rafael Paolo, Grosselli, Douglas, Mancalossi, José Luis
Estudo comparativo entre o método pilates® e exercícios terapêuticos sobre a força muscular e flexibilidade

de tronco em atletas de futebol. *ConScientiae Saúde.* , v.10, p.102 - 111, 2011.

3. FACCIN, A. P., RECH, R. R., Trentin, D. T., Silva, E. R., Giazzon, I. W., De MARCHI, T.
Gasto Calórico nas aulas de Body Pump e Power Jump. *Revista brasileira de prescrição e fisiologia do exercício.* , v.5, p.16 - 29, 2011.

4. De Marchi, Thiago, Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Bortoli, Celiana, Tomazoni, Shaiane Silva, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Salvador, Mirian
Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers in Medical Science.* , v.xx, p.xx - , 2011.

5. Almeida, Patrícia, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, De Marchi, Thiago, Tomazoni, Shaiane Silva, Albertini, Regiane, Corrêa, João Carlos Ferrari, Rossi, Rafael Paolo, Machado, Guilherme Pinheiro, Silva, Daniela Perin, Bjordal, Jan Magnus, Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto
Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better?. *Lasers in Medical Science.* , v.xx, p.xx - , 2011.

6. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, de Godoi, Vanessa, Mancalossi, José Luis, Rossi, Rafael Paolo, De Marchi, Thiago, Parente, Márcio, Grosselli, Douglas, Generosi, Rafael Abeche, Basso, Maira, Frigo, Lucio, Tomazoni, Shaiane da Silva., Bjordal, Jan Magnus, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão
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 in Medical Science.* , v.26, p.493 - 501, 2010.

7. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Frigo, Lucio, De MARCHI, T., Rossi, Rafael Paolo, de Godoi, Vanessa, Tomazoni, Shaiane da Silva., da Silva, Daniela Perin, Basso, Maira, Lotti Filho, Pedro, Corsetti, Francisco Valls, Iversen, Vegard V., Bjordal, Jan Magnus
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. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy.* , p.524 - 532, 2010.

8. BARONI, B.M., LEAL JUNIOR, E.C.P., De MARCHI, T., LOPES, A. L., SALVADOR, M., VAZ, M. A.
Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *European Journal of Applied Physiology (Print).* , v.110, p.789 - 796, 2010.

9. GENEROSI, R. A., BARONI, B.M., GROSSELLI, D., De MARCHI, T., LEAL JUNIOR, E.C.P., NAVARRO, F.
Aptidão física e saúde de adolescentes praticantes e não praticantes de futebol ou futsal fora do âmbito escolar. *Revista Brasileira de Futsal e Futebol.* , v.1, p.251 - 258, 2009.

10. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Baroni, Bruno Manfredini, De Marchi, Thiago, Rossi, Rafael Paolo, Grosselli, Douglas, Generosi, Rafael Abeche, de Godoi, Vanessa, Basso, Maira, Mancalossi, José Luis, Bjordal, Jan Magnus
Comparison Between Single-Diode Low-Level Laser Therapy (LLLT) and LED Multi-Diode (Cluster) Therapy (LEDT) Applications Before High-Intensity Exercise. *Photomedicine and Laser Surgery.* , v.27, p.617 - 623, 2009.

11. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Rossi, Rafael Paolo, De Marchi, Thiago, Baroni, Bruno Manfredini, de Godoi, Vanessa, Marcos, Rodrigo Labat, Ramos, Luciano, Bjordal, Jan Magnus
Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers in Surgery and Medicine (Print).* , v.41, p.572 - 577, 2009.

12. LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., BARONI, B.M., De MARCHI, T., TAUFER, D., MANFRO, D. S, RECH, M., DANNA, V, GROSSELLI, D., MARCOS, R. L., RAMOS, L., BJORDAL, J.M.
Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers in Medical Science.* , v.24, p.857 - 863, 2009.

13. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Vanin, Adriane Aver, Baroni, Bruno Manfredini, Grosselli, Douglas, De Marchi, Thiago, Iversen, Vegard V., Bjordal, Jan Magnus
Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers in Medical Science.* , v.24, p.425 - 431, 2009.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, de Godoi, Vanessa, Mancalossi, José Luis, Rossi, Rafael Paolo, De Marchi, Thiago, Grosselli, Douglas, Generosi, Rafael Abeche, Basso, Maira, Frigo, Lucio, Bjordal, Jan Magnus

Comparison between light emitting diode therapy (LEDT) and cold water immersion therapy (CWIT) in short-term recovery of biochemical markers related to skeletal muscle restitution after high-intensity exercise in athletes - A pilot study In: 8th International Congress of World Association for Laser Therapy, 2010, Bergen, Norway, 2010, Bergen.

8th International Congress of World Association for Laser Therapy. , 2010.

2. BORTOLI, C., LEAL JUNIOR, E.C.P., TOMAZONI, S. S., De MARCHI, T., SALVADOR, M.

Efeitos da laserterapia de baixa potência sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico In: XVIII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2010, Caxias do Sul.

XVIII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS. , 2010.

3. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Frigo, Lucio, De Marchi, Thiago, Rossi, Rafael Paolo, de Godoi, Vanessa, Tomazoni, Shaiane da Silva., Iversen, Vegard V., Bjordal, Jan Magnus

Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to short-term post-exercise recovery In: 8th International Congress of World Association for Laser Therapy, 2010, Bergen, Norway, 2010, Bergen.

8th International Congress of World Association for Laser Therapy. , 2010.

4. De Marchi, Thiago, Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto, Tomazoni, Shaiane da Silva., Bortoli, Celiana, Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão, Bjordal, Jan Magnus, Salvador, Mirian

Low-level laser therapy in progressive-intensity running exercise in treadmill: Effects on exercise performance, oxidative stress and biochemical markers related to skeletal muscle damage In: 8th International Congress of World Association for Laser Therapy, 2010, Bergen, Norway, 2010, Bergen.

8th International Congress of World Association for Laser Therapy. , 2010.

5. MACHADO, G. P., De MARCHI, T., BARONI, B.M., SILVA, D. P., TOMAZONI, S. S., LEAL JUNIOR, E.C.P. Comparação da Laserterapia de Baixa Potência (LBP) com Comprimentos de Onda de 660nm e 830nm sobre a Fadiga Muscular em Humanos - estudo preliminar In: XVII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2009, Caxias Do Sul.

XVII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS. , 2009.

6. LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., BARONI, B.M., GODOI, V., MANCALOSSO, J. L., ROSSI, R. P., De MARCHI, T., BASSO, M., MACHADO, G. P., BJORDAL, J.M.

Comparação entre cinco minutos de crioterapia e LED terapia com cluster (LEDT) na recuperação muscular esquelética pós-exercício de alta intensidade em atletas - Um estudo piloto In: II Congresso da Sulbrafito e I Congresso Catarinense de Fisioterapia Traumato-Ortopédica, 2009, Florianópolis.

II Congresso da Sulbrafito e I Congresso Catarinense de Fisioterapia Traumato-Ortopédica. , 2009.

7. De MARCHI, T., LOPES-MARTINS, R.A.B., BARONI, B.M., ROSSI, R. P., GROSSELLI, D., GENEROSI, R. A., GODOI, V., BASSO, M., MANCALOSSO, J. L., BJORDAL, J.M., LEAL JUNIOR, E.C.P.

Comparação da aplicação de laserterapia de baixa potência (LBP) utilizando single probe e cluster misto no dano muscular e na remoção do lactato sanguíneo após exercício de alta intensidade em humanos In: XVI Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2008, Caxias do Sul.

XVI Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS. , 2008.

8. LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., TAUFER, D., RECH, M., BARONI, B.M., GENEROSI, R. A., De MARCHI, T., IVERSEN, V.V., BJORDAL, J.M.

Efeito da laserterapia de baixa potência sobre a fadiga muscular e remoção de lactato sanguíneo pós-exercício de alta intensidade em atletas. In: VIII Congresso Brasileiro de Ortopedia Pediátrica., 2008, Gramado - RS.

VIII Congresso Brasileiro de Ortopedia Pediátrica, 2008.. , 2008.

9. LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., BARONI, B.M., GROSSELLI, D., De MARCHI, T.,

GENEROSI, R. A., TAUFER, D., DANNA, V, IVERSEN, V.V., BJORDAL, J.M.

Effect of 830 nm low level laser therapy in skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes In: 7th International Congress of World Association for Laser Therapy, 2008, Sun City, South Africa, 2008, Sun City.

7th International Congress of World Association for Laser Therapy, 2008, Sun City, South Africa. , 2008.

10. LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., VANIN, A.A., BARONI, B.M., GROSSELLI, D., De MARCHI, T., IVERSEN, V.V., BJORDAL, J.M.

Effect of 830 nm low level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. In: 7th International Congress of the WORLD ASSOCIATION FOR LASER THERAPY., 2008, Sun City, South Africa.

7th International Congress of the WORLD ASSOCIATION FOR LASER THERAPY, 2008. , 2008.

Orientações e Supervisões

Orientações e Supervisões concluídas

Iniciação científica

1. Celianna Bortoli. **Efeitos da laserterapia de baixa potência sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício.** 2010. Iniciação científica (Nutrição) - Universidade de Caxias do Sul

ANEXO 4
PUBLICAÇÕES DO CANDIDATO NO PERÍODO DO CURSO

Artigos completos publicados em periódicos

1. Pertile, Lara ; Vaccaro, Thaisa Chissini ; **De Marchi, Thiago** ; Rossi, Rafael Paolo ; Grosselli, Douglas ; Mancalossi, José Luis . Estudo comparativo entre o método pilates e exercícios terapêuticos sobre a força muscular e flexibilidade de tronco em atletas de futebol. *ConScientiae Saúde*, v. 10, p. 102-111, 2011.
2. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto ; Baroni, Bruno Manfredini ; Rossi, Rafael Paolo ; de Godoi, Vanessa ; **De Marchi, Thiago** ; Tomazoni, Shaiane da Silva. ; Almeida, Patrícia ; Salvador, Mirian ; Grosselli, Douglas ; Generosi, Rafael Abeche ; Basso, Maira ; Mancalossi, José Luis ; Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão . A fototerapia com diodo emissor de luz (LEDT) aplicada pré-exercício inibe a peroxidação lipídica em atletas após exercício de alta intensidade. Um estudo preliminar.. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte (Impresso)* ^{JCR}, v. 17, p. 8-12, 2011.
3. ★ **De Marchi, Thiago** ; Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto ; Bortoli, Celiana ; Tomazoni, Shaiane Silva ; Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão ; Salvador, Mirian . Low-level laser therapy (LLLTT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers in Medical Science* ^{JCR}, v. xx, p. xx, 2011.
4. FACCIN, A. P. ; RECH, R. R. ; Trentin, D. T. ; Silva, E. R. ; Giazzon, I. W. ; **De MARCHI, T.** . Gasto Calórico nas aulas de Body Pump e Power Jump. *Revista brasileira de prescrição e fisiologia do exercício*, v. 5, p. 16-29, 2011.
5. Almeida, Patrícia ; Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão ; **De Marchi, Thiago** ; Tomazoni, Shaiane Silva ; Albertini, Regiane ; Corrêa, João Carlos Ferrari ; Rossi, Rafael Paolo ; Machado, Guilherme Pinheiro ; Silva, Daniela Perin ; Bjordal, Jan Magnus ; Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto . Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better?. *Lasers in Medical Science* ^{JCR}, v. xx, p. xx, 2011.
6. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto ; de Godoi, Vanessa ; Mancalossi, José Luis ; Rossi, Rafael Paolo ; **De Marchi, Thiago** ; Parente, Márcio ; Grosselli, Douglas ; Generosi, Rafael Abeche ; Basso, Maira ; Frigo, Lucio ; Tomazoni, Shaiane da Silva. ; Bjordal, Jan Magnus ; Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão . 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 in Medical Science* ^{JCR}, v. 26, p. 493-501, 2010.
7. Baroni, B.M. ; Leal Junior, E.C.P. ; **De MARCHI, T.** ; Lopes, A. L. ; Salvador, M. ; VAZ, M. A. . Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *European Journal of Applied Physiology (Print)* ^{JCR}, v. 110, p. 789-796, 2010.
8. Leal Junior, Ernesto Cesar Pinto ; Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão ; Frigo, Lucio ; **De MARCHI, T.** ; Rossi, Rafael Paolo ; de Godoi, Vanessa ; Tomazoni, Shaiane da Silva. ; da Silva, Daniela Perin ; Basso, Maira ; Lotti Filho, Pedro ; Corsetti, Francisco Valls ; Iversen, Vegard V. ; Bjordal, Jan Magnus . Effects of Low-Level Laser Therapy (LLLTT) in the Development of Exercise-Induced Skeletal Muscle Fatigue and Changes in Biochemical Markers Related to Post-Exercise Recovery. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy* ^{JCR}, p. 524-532, 2010.