



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VANESSA BATISTA DA COSTA SANTOS

**APLICAÇÃO DA LEDTERAPIA E CRIOTERAPIA COMO
MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO AO EXERCÍCIO DE
NATAÇÃO EM RATOS WISTAR:
ANÁLISE ANTI-INFLAMATÓRIA E ERGOGÊNICA**

Londrina
2014

VANESSA BATISTA DA COSTA SANTOS

**APLICAÇÃO DA LEDTERAPIA E CRIOTERAPIA COMO
MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO AO EXERCÍCIO DE
NATAÇÃO EM RATOS WISTAR:
ANÁLISE ANTI-INFLAMATÓRIA E ERGOGÊNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Strictu-Sensu* associado em Educação Física - UEL/UEM, na área de concentração Desempenho Humano e Atividade Física, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Yuzo Nakamura.

Londrina
2014

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S237a	<p>Santos, Vanessa Batista da Costa.</p> <p>Aplicação da ledterapia e crioterapia como métodos de recuperação ao exercício de natação em ratos Wistar : análise anti-inflamatória e ergogênica / Vanessa Batista da Costa Santos. – Londrina, 2014.</p> <p>65f. : il.</p> <p>Orientador: Fabio Yuzo Nakamura.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Educação Física e Esporte, Programa de Pós-Graduação em Educação Física, 2014.</p> <p>Inclui bibliografia.</p> <p>1. Crioterapia – Teses. 2. Fototerapia – Teses. 3. Marcadores inflamatórios – Teses. 4. Natação – Treinamento – Teses. 5. Exercícios físicos – Teses. I. Nakamura, Fábio Yuzo. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Educação Física e Esporte. Programa de Pós-Graduação em Educação Física. III. Universidade Estadual de Maringá. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 796:61</p>
-------	--

VANESSA BATISTA DA COSTA SANTOS

**APLICAÇÃO DA LEDTERAPIA E CRIOTERAPIA COMO MÉTODOS
DE RECUPERAÇÃO AO EXERCÍCIO DE NATAÇÃO EM RATOS**

WISTAR:

ANÁLISE ANTI-INFLAMATÓRIA E ERGOGÊNICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Strictu-Sensu* associado em Educação Física - UEL/UEM, na área de concentração Desempenho Humano e Atividade Física, para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Fabio Yuzo Nakamura
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Solange Marta Franzói de Moraes
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Londrina, 17 de julho de 2014.

AGRADECIMENTOS

Várias pessoas direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e esta colaboração não se restringe apenas a parte científica, mas também aos incentivos, conselhos, apoio e compreensão. Em geral quero agradecer a todos que estiveram presentes durante esta árdua caminhada, aos que se preocuparam e torceram por mim.

Primeiramente tenho que agradecer a Deus por guiar meus passos e ser minha fortaleza nos momentos difíceis.

Ao meu orientador, o professor Dr. Fabio Yuzo Nakamura, pela oportunidade, os ensinamentos e por confiar na minha capacidade de trabalho, mas sobretudo por ser um grande exemplo de postura firme e de pesquisador qualificado.

A professora Dra. Solange de Paula Ramos, por todos os ensinamentos, pela paciência, amizade e confiança depositada em mim. Obrigada por orientar e incentivar o meu progresso sempre.

A professora Dra. Claudia Patricia Cardoso Martins Siqueira, por ter me inserido na pesquisa científica, pelas correções realizadas neste trabalho e principalmente pelo carinho e constante contribuição na minha formação.

A professora Dra. Christiane de Souza Guerino Macedo, que mesmo sem contribuir diretamente neste trabalho, nunca deixou de me orientar e a quem devo grande parte da minha formação profissional.

Aos colegas do PPGEF-UEM/UEL, em especial a Karla Goessler, Julia Durigan, Bruna Seron e Elisa Jacomassi, as quais admiro e tenho grande carinho. Obrigada pelas boas conversas, pela amizade, companherismo e por tornarem essa jornada mais leve.

Aos companheiros de GEAFIT, Carla Cristiane, Lucio Caldeira, Nilo Okuno, Victor Freitas e Lucas Pereira, pelo convívio agradável, conhecimento compartilhado e constante apoio. Agradeço em especial os que contribuíram diretamente na execução deste trabalho: Julio Cesar Molina, Vinícius Milanez, Ricardo Oliveira, Priscila Chierotti e Nicolle Dias, sem a ajuda de vocês não seria possível colocar esse projeto em prática. Muito obrigada!

A minha família por entender a minha ausência durante a pós-graduação. A minha mãe, Ivany Batista da Costa, a quem devo tudo que sou e quem nunca mediu esforços para me educar da melhor maneira. Ao meu pai, Antonio Augusto dos Santos, que mesmo distante, me apoiou durante esse período.

A minha amiga e irmã Bruna Piahuy, por acreditar no meu potencial e torcer pelo meu sucesso sempre, por todos os cuidados, pelo carinho, o auxílio e por me fortalecer nos momentos importantes da minha vida. Seria necessário muito mais que esta página para te agradecer.

Agradeço também as minhas amigas Cynthia Gobbi e Mariana Chavoni, que mesmo não estando diretamente ligadas a pesquisa, me apoiaram e confortaram por muitas vezes.

A Ivone, secretária do PPGEF-UEL, pelo profissionalismo e disposição a ajudar.

As técnicas do laboratório de Histologia, Andrea e Renata, pela colaboração prestada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

“Por comodismo, por inércia, por interesse, os conformados seguem passivamente a manada, mansos e anônimos, renunciando aquilo que neles é mais sagrado: O PENSAMENTO.”

(Eugène Ionesco)

SANTOS, Vanessa Batista da Costa. **Aplicação da LEDterapia e crioterapia como métodos de recuperação ao exercício de natação em ratos Wistar: Análise anti-inflamatória e ergogênica.** 2014. 65f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

Exercícios de alta intensidade e exercícios prolongados, podem levar a danos musculares que causam reações inflamatórias e altos níveis de marcadores de lesão muscular, levando a fadiga. Assim, estratégias que acelerem a recuperação são de extrema importância para o desempenho e o bem estar do esportista. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos anti-inflamatórios e ergogênicos, da fototerapia e da crioterapia como métodos de recuperação ao exercício de natação de ratos Wistar, tanto na aplicação única como sucessiva. Para isso foram realizados dois estudos, sendo o primeiro com o objetivo de analisar os efeitos de uma única aplicação dos métodos de recuperação. Esse estudo consistiu de duas fases, a primeira foi para análise dos danos celulares causados pelo exercício, utilizou 29 ratos que realizaram 45 minutos de natação, seguido da aplicação dos métodos de recuperação (LEDterapia, recuperação passiva ou crioterapia), e logo após realizaram uma nova série de natação por 45 minutos. Na segunda fase do estudo, para análise dos efeitos ergogênicos, 22 ratos foram submetidos a 45 minutos de natação, seguidos da aplicação das modalidades de recuperação e logo após realizaram um teste de desempenho até a exaustão. Os resultados do primeiro estudo demonstraram que tanto a LEDterapia quanto a crioterapia melhoraram o desempenho, entretanto a terapia com LED foi mais eficaz na redução dos danos musculares provocados pelo exercício. O segundo estudo, foi realizado para avaliar os efeitos de aplicações consecutivas dos métodos de recuperação, consistindo da aplicação diária da crioterapia, LEDterapia ou a recuperação passiva logo após o término das sessões de exercício de um programa de treinamento de natação com 30 dias de duração. Foram utilizados 35 ratos, divididos em cinco grupos: controle (CO), controle com teste de exaustão (CE), recuperação passiva (RP), crioterapia (CRIO) e LEDterapia (LED). Após o término das sessões de treinamento, os animais foram submetidos aos métodos de recuperação de acordo com o seu grupo. O grupo CO apresentou diferença significativa para o peso relativo do músculo gastrocnêmio, quando comparado ao grupo RP. A análise histológica do músculo sóleo e gastrocnêmio mostrou que o grupo CE apresentou o maior número de necrose, enquanto no grupo RP foi encontrado a maior frequência de edema, inflamação e células inflamatórias. A crioterapia e a LEDterapia foram eficazes na redução do edema e da inflamação muscular. Entretanto, nenhum dos métodos estudados mostrou diferenças significativas durante o teste de exaustão. Assim, os dados do segundo estudo sugerem que as aplicações sucessivas dos métodos de recuperação não alteram o desempenho durante o exercício, no entanto, diminuem as reações inflamatórias, o edema e previnem a necrose muscular.

Palavras-chave: Crioterapia. Fototerapia. Marcadores inflamatórios. Adaptações ao treinamento.

SANTOS, Vanessa Batista da Costa. **LED therapy and cryotherapy application how recovery methods to swimming exercise in Wistar rats: Anti-inflammatory and ergogenic analysis**. 2014. 65p. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

ABSTRACT

High-intensity exercise and prolonged exercise can lead to muscle damage and inflammatory reactions that cause high levels of markers of muscle damage inducing fatigue. Thus strategies to accelerate the recovery are extremely important to the performance and welfare of the athlete. The aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory and ergogenic effects of phototherapy and cold water immersion as recovery methods to swimming exercise in rats, both in single as successive application. Therefore, two studies were conducted, the aim of the first one was to analyze the effects of a single application of the methods of recovery. This study consisted of two phases, the first was to analyze the cellular damage caused by exercise, 29 rats underwent 45 minutes of swimming, followed by application of the methods of recovery (LED therapy, passive recovery or cryotherapy) and immediately after they were subjected to a new serie of 45 minutes of swimming. In the second phase of the study, in order to analyze the ergogenic effects, 22 rats were subjected to 45 minutes of swimming, followed by the application of the arrangements for recovering and then, conducted a performance test to exhaustion. The results of the first study showed that both LED therapy as cryotherapy improved performance, however, LED therapy was more effective at reducing muscle damage caused by exercise. The second study was conducted to evaluate the effects of consecutive applications of recovery methods, consisting of daily application of cold water immersion, LED therapy or passive recovery after the completion of the swimming training program with 30-day sessions. In this phase, 35 rats were divided into five groups: Control (CO), control with exhaustion test (CE), passive recovery (PR), cold water immersion (CRYO) and LED therapy (LED). After fulfilled the training sessions, the animals were subjected to recovery methods according to their group. The CO group showed significant difference for the gastrocnemius muscle relative weight when compared to the RP group. Histological analysis of gastrocnemius and soleus muscle showed that the CE group obtained the largest number of necrosis, while in the RP group found the highest frequency of edema, inflammation and inflammatory cells. The LED therapy and cold water immersion were effective in reducing edema and inflammation of muscle. However, none methods studied showed significant differences during the exhaustion test. Thus, data from the second study suggest that successive applications of recovery methods do not alter performance during exercise, however, decreases the inflammatory reactions, edema and prevents muscle necrosis.

Keywords: Cryotherapy. Phototherapy. Inflammatory markers. Adaptations to training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** – Imagem do espectro electromagnético25
- Figura 2** – Esquema da absorção da luz vermelha e infravermelha pelo fotorreceptor citocrome c oxidase26
- Figura 3** – Esquema dos mecanismos celulares gerados pela aplicação da luz vermelha e infravermelha27

ESTUDO 1 –LEDTERAPIA OU CRIOTERAPIA ENTRE INTERVALOS DE EXERCÍCIO EM RATOS WISTAR: EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ERGOGÊNICOS

- Figura 1** – Níveis sanguíneos médios de creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR), 24 horas após dois turnos de 45 minutos de exercício37
- Figura 2** – Fotomicrografia do músculo sóleo direito de ratos Wistar 38
- Figura 3** – Desempenho na natação após 45 minutos de exercício + métodos de recuperação 39
- Figura 4** – Níveis sanguíneos médios de creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR), 24 horas após o teste de desempenho na natação 39

LISTA DE TABELAS

ESTUDO 1 – LEDTERAPIA OU CRIOTERAPIA ENTRE INTERVALOS DE EXERCÍCIO EM RATOS WISTAR: EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ERGOGÊNICOS

- Tabela 1** – Contagem de leucócitos e níveis sanguíneos de creatina quinase após 24 horas do exercício37
- Tabela 2** – Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica38

ESTUDO 2 – EFEITO DE APLICAÇÕES SUCESSIVAS DA CRIOTERAPIA E DA LEDTERAPIA NAS ADAPTAÇÕES AO TREINAMENTO DE NATAÇÃO EM RATOS WISTAR

- Tabela 1** – Esquema do protocolo de exercício46
- Tabela 2** – Valores do peso corporal, gordura epididimal e dos músculos sóleo e gastrocnêmio49
- Tabela 3** – Contagem de leucócitos, níveis sanguíneos de creatina quinase e proteína C reativa após 24 horas do exercício50
- Tabela 4** – Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica do músculo sóleo51
- Tabela 5** – Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica do músculo gastrocnêmio.....51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP-1	Ativador da proteína 1
ATP	Adenosina Trifosfato
CE	Controle com teste de exaustão
CK	Creatina quinase
CO	Controle
COX-1	Enzima ciclo oxigenase 1
COX-2	Enzima ciclo oxigenase 2
CRIO	Crioterapia
CVM	Contração voluntária máxima
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FCmax	Frequência cardíaca máxima
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL-1 β	Interleucina - 1 beta
IL-6	Interleucina - 6
IL-10	Interleucina – 10
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
K ⁺	Íons potássio
LBP	Laser de baixa potência
LED	Diodos emissores de luz
MGF	Fator mecânico de crescimento
mW	Miliwatt
Na ⁺	Íons sódio
NF-kB	Fator nuclear kappa B
nm	Nanômetro
NO	Oxido nítrico
PCR	Proteína C reativa
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
RNA	Ácido ribonucleico
RP	Recuperação passiva
TGF- β	Fator de crescimento transformador - beta

TNF- α	Fator de necrose tumoral - alfa
uPA	Urokinase ativadora do plasminogênio
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VO ₂ max	Consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	DANO MUSCULAR E DESEMPENHO	17
3.2	MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO	18
3.2.1	Mecanismos de Ação da Crioterapia	19
3.2.1.1	Efeito da crioterapia relacionada ao exercício	22
3.2.2	Mecanismos de Ação da Fototerapia.....	24
3.2.2.1	Efeito da fototerapia relacionada ao exercício	28
4	ESTUDO 1 – LEDTERAPIA OU CRIOTERAPIA ENTRE INTERVALOS DE EXERCÍCIO EM RATOS WISTAR: EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ERGOGÊNICOS	32
4.1	INTRODUÇÃO.....	32
4.2	MÉTODOS.....	33
4.2.1	Animais	33
4.2.2	Inflamação e Lesão Muscular	34
4.2.3	Desempenho na Natação	36
4.2.4	Análise Estatística.....	36
4.3	RESULTADOS	36
4.3.1	Inflamação e Lesão Muscular	36
4.3.2	Desempenho na Natação	38
4.4	DISCUSSÃO.....	40
4.5	CONCLUSÃO	43

5	ESTUDO 2 – EFEITO DE APLICAÇÕES SUCESSIVAS DA CRIOTERAPIA E DA LEDTERAPIA NAS ADAPTAÇÕES AO TREINAMENTO DE NATAÇÃO EM RATOS WISTAR	44
5.1	INTRODUÇÃO	44
5.2	MÉTODOS	45
5.2.1	Animais	45
5.2.2	Protocolo de Exercício	46
5.2.3	Aplicação dos Métodos de Recuperação	46
5.2.4	Desempenho na Nataação	47
5.2.5	Coletas e Análises de Material Biológico	47
5.2.6	Análise Estatística	48
5.3	RESULTADOS	49
5.3.1	Percentual de Gordura Epididimal e Peso Muscular	49
5.3.2	Inflamação e Lesão Muscular	50
5.3.3	Desempenho na Nataação	51
5.4	DISCUSSÃO	52
5.5	CONCLUSÃO	55
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

Danos musculares que levam a fadiga, reações inflamatórias e níveis elevados de marcadores de lesão muscular, são observados após a realização de exercícios de alta intensidade intermitente ou contínuo e exercícios prolongados e podem interferir no desempenho do esportista (Ascensão et al., 2011). Com o objetivo de reduzir os danos provocados pelos exercícios, têm sido estudados métodos de recuperação que atenuem as lesões sem que ocorra uma queda no desempenho ou redução dos efeitos benéficos e necessários do treinamento. A crioterapia é um método utilizado no meio esportivo com o intuito de diminuir o edema, processo inflamatório, lesões por hipóxia secundária e a dor (Wilcock et al., 2006; Algafly et al., 2007). Entretanto, apesar de vários estudos descrevendo os potenciais efeitos da crioterapia na redução da inflamação, muitos trabalhos têm mostrado que os efeitos deste método estão mais relacionados com a percepção tanto da dor, quanto da recuperação, e não há consenso sobre os efeitos deste método na performance esportiva (Rowell et al., 2009; Kinugasa et al., 2009).

Outro método de recuperação estudado atualmente é a terapia com diodos emissores de luz (LED), que tem mostrado resultados benéficos como aumento da proliferação celular, modulação dos níveis de citocinas, fatores de crescimento e mediadores inflamatórios (Barolet et al., 2008; Hamblin et al., 2005; Komine et al., 2010; Wong-Riley et al., 2005; Huang et al., 2009). Estudos anteriores mostraram que a LEDterapia pode diminuir os marcadores de lesão muscular e a inflamação após o exercício (Hamblin et al., 2006; Leal Junior et al., 2013). Camargo et al. (2012) estudaram o efeito da crioterapia e da LEDterapia nos marcadores inflamatórios, dano muscular e edema, após 100 minutos de natação em ratos Wistar, e mostraram que a LEDterapia foi mais eficaz que a crioterapia na prevenção da lesão muscular e inflamação local, porém sem reduções no edema.

Diversos fatores relacionados à aplicação dos métodos de recuperação encontram-se desconhecidos ou inconclusivos. Portanto, mais estudos são necessários para demonstrar os efeitos de uma única aplicação da fototerapia e da crioterapia e também do uso contínuo desses métodos no desempenho e nos danos provocados pelo exercício intenso. Para isso, foi utilizado no presente estudo um protocolo experimental em ratos Wistar, uma vez que almeja-se controlar o maior

número de variáveis fisiológicas da amostra estudada e avaliar o efeito dos métodos de recuperação, respeitando os aspectos éticos da pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar os efeitos anti-inflamatórios e ergogênicos da fototerapia e da crioterapia como métodos de recuperação ao exercício de natação de ratos Wistar, analisando a ação destes tanto na aplicação única como consecutiva.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar os efeitos da fototerapia e da crioterapia nos:

- a) Marcadores inflamatórios sanguíneos (proteína C reativa e creatina quinase);
- b) Aspectos histológicos de necrose, edema e células inflamatórias;
- c) No teste de desempenho de natação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DANO MUSCULAR E DESEMPENHO

O consumo máximo de oxigênio ($VO_2\text{max}$) é definido como a maior taxa em que o oxigênio pode ser captado e utilizado pelo corpo durante o exercício, e altos valores de $VO_2\text{max}$ têm sido associados com melhores desempenhos em provas de *endurance* (Bouchard et al., 2011). Alguns autores tem considerado quatro fatores como os possíveis limitadores do $VO_2\text{max}$ e determinantes para o desempenho de *endurance*, sendo eles: capacidade de difusão pulmonar, débito cardíaco, capacidade de transporte de oxigênio e características constitutivas do músculo esquelético (Bassett, 2000). Outros aspectos como o aumento da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), melhora dos limiares de lactato e ventilatório, além da atenuação das respostas inflamatórias e do estresse oxidativo são associadas aos programas de treinamento de *endurance* (White et al., 2013).

Exercícios de alta intensidade intermitentes ou contínuos, e exercícios prolongados de menor intensidade, podem levar a danos musculares que causam fadiga, reações inflamatórias e altos níveis de marcadores de lesão muscular como a creatina quinase (CK), lactato desidrogenase, mioglobina, estresse oxidativo e dor muscular de início tardio, que podem comprometer o desempenho físico dos indivíduos (Ascensão et al., 2011; Camargo et al., 2012). O dano muscular pode ser agravado pelo acúmulo de metabólitos do metabolismo anaeróbio, devido à redução do pH intracelular, aumento da osmolaridade e diminuição da ressíntese de adenosina trifosfato (ATP), que leva à ruptura das membranas celulares, liberando cálcio intracelular e ativando vias de sinalização que geram necrose ou apoptose celular, liberando ainda mais metabólitos que reduzem o pH (White et al., 2013; Fredsted et al., 2007).

Pereira et al. (2013) avaliaram os danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) no sangue e células do músculo esquelético de camundongos após o treinamento aeróbio e a indução do *overtraining*. A carga de treinamento aplicada de acordo com o limiar anaeróbio medido pelo método de lactato mínimo foi suficiente para melhorar o desempenho no teste exaustivo do grupo de treinamento aeróbio; porém, o grupo *overtraining* alcançou piores resultados do que o grupo não-treinado. Além disso, o grupo *overtraining* mostrou aumento significativo na quantidade de

DNA na cauda, comparado com os demais grupos. Outro dado encontrado pelos autores, foi que o grupo *overtraining* apresentou menores concentrações de glutadiona e níveis de peroxidação lipídica maiores que o grupo controle e o grupo de treinamento aeróbio, sugerindo que maiores níveis de DNA e de estresse oxidativo estão relacionados com o *overtraining* e consequente queda do desempenho.

Xiao e colaboradores (2012) também investigaram os efeitos do *overtraining*, porém na expressão gênica relacionado ao crescimento e regeneração do músculo esquelético. Esses autores não encontraram diferenças do grupo submetido ao protocolo de *overtraining* comparado ao controle nos marcadores MyoD, miogenina, interleucina 1 beta (IL-1 β), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e fator mecânico de crescimento (MGF); entretanto, as concentrações de creatina quinase (CK), interleucina 6 (IL-6) e fator de crescimento transformador - beta (TGF- β) foram maiores no grupo *overtraining*, enquanto os níveis de interleucina 10 (IL-10), a atividade da enzima ciclo oxigenase 2 (COX-2) e uroquinase ativadora do plasminogênio (uPA) foram significativamente menor. Esses dados sugerem que quantidade reduzidas da citocina antiinflamatória IL-10, da COX-2 e da uPA podem estar relacionado com a inibição do crescimento e regeneração muscular induzido pelo exercício.

O formato dos treinos e competições dos esportes individuais e coletivos podem impor altas cargas de treinamento e demanda física, com pequenos intervalos de recuperação. Assim, considerando que o processo de adaptação requer altas cargas de estímulo e períodos de recuperação adequados, torna-se necessário investigar métodos que auxiliem o processo de recuperação e adaptação biológica ao estresse fisiológico potencialmente deletérico.

3.2 MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO

A recuperação após o estresse causado pelo exercício é necessária para promover a ressíntese de substratos energéticos, as adaptações ao treinamento, reduzir os riscos de lesões e melhorar o desempenho nas atividades esportivas seguintes. Com o intuito de fornecer recuperação adequada e acelerada, diversos métodos de recuperação estão sendo inseridos na rotina esportiva, dentre

eles as massagens, recuperação ativa, crioterapia, terapia de imersão em água com contraste de temperatura, oxigenoterapia hiperbárica, medicamentos anti-inflamatórios, roupas de compressão, alongamento, eletroestimulação e modalidades combinadas. Entretanto, há poucas evidências sobre os benefícios dessas estratégias de recuperação (Barnett, 2006).

A crioimersão é a estratégia mais praticada atualmente no meio esportivo, porém os efeitos contraditórios desse método sobre os marcadores inflamatórios e o desconforto de sua aplicação ainda causam resistência em sua utilização. Neste contexto, a fototerapia surge como uma possibilidade de intervenção que aparentemente tem bons resultados e pode ser aplicada de forma confortável ao esportista.

3.2.1 Mecanismos de Ação da Crioterapia

A crioterapia é um método comumente utilizado no meio esportivo, promovendo a vasoconstrição e diminuição do fluxo sanguíneo, reduzindo assim a permeabilidade capilar, a necrose celular, a migração de neutrófilos, a atividade metabólica, fatores que agem diretamente na diminuição do edema, processo inflamatório e lesões por hipóxia secundária, além da redução da condução nervosa, que atua na analgesia e redução do espasmo muscular (Wilcock et al., 2006; Algafly et al, 2007).

Quando se aplica a crioterapia há redução da temperatura local de acordo com a magnitude do método de resfriamento aplicado e a profundidade e tipo de tecido submetido a intervenção. Sugere-se que ao iniciar a aplicação da crioterapia ocorra declínio imediato e rápido da temperatura superficial da pele, seguida por redução na velocidade do resfriamento até atingir um platô alguns graus acima da temperatura da modalidade aplicada e começando o reaquecimento da pele imediatamente após a retirada do método (Knight, 2000). Os tecidos subcutâneos respondem da mesma forma que a pele, porém em menor magnitude, e a temperatura dos tecidos mais profundos, como os músculos, começam a reduzir gradativamente, e em menor velocidade que os tecidos mais superficiais, após alguns minutos do início da intervenção, podendo manter essa redução por alguns minutos após a retirada do método e então entrar no processo de reaquecimento (Knight, 2000; Jutte et al., 2001; Tomchuk et al., 2010).

O núcleo pré-óptico do hipotálamo possui neurônios sensíveis ao calor e ao frio, e é o centro que controla a temperatura corporal, atuando como um termostato (Machado, 1993). Assim que a temperatura dos tecidos começa a diminuir devido à crioterapia, essa informação é transmitida pelos neurônios sensitivos (termorreceptores) ao hipotálamo (que também detecta as alterações na temperatura do sangue que passa por ele) e este ativa mecanismos de conservação de calor necessários para a manutenção da temperatura. O centro de conservação de calor localiza-se no hipotálamo posterior e quando estimulado resulta na vasoconstrição periférica, tremores musculares e até mesmo a liberação de hormônios tireoidianos, desencadeando com isso alterações na permeabilidade vascular e redução do metabolismo celular em busca da geração ou conservação de calor, evitando assim a queda excessiva e lesiva da temperatura no local (Machado, 1993; Knight, 2000).

Gregson e colaboradores (2011) investigaram a influência de duas imersões de cinco minutos ao nível das cristas ilíacas, em água a 8°C e a 22°C, na temperatura retal, superficial da pele da coxa e intramuscular de homens moderadamente treinados, além de mensurar a velocidade de condução sanguínea cutânea (com *laser doppler*) e o fluxo sanguíneo da artéria femoral superficial (com ultrassom duplex). Os autores encontraram reduções significativamente maiores em todas as variáveis analisadas quando os indivíduos foram imersos em água a 8°C, tanto imediatamente após, quanto 30 minutos depois da imersão, sugerindo que temperaturas mais baixas estão associados com menor fluxo sanguíneo para os tecidos. Essa redução do fluxo sanguíneo está intimamente ligada ao declínio do metabolismo local e auxilia na redução de lesões secundárias causadas por um dano primário.

Quando o tecido sofre uma lesão, imediatamente inicia-se uma resposta inflamatória no local com o objetivo de defender o organismo de substâncias estranhas, remover o tecido necrosado possibilitando a cicatrização e promover a regeneração do tecido. A resposta inflamatória ocorre em oito fases que se sobrepõem: Lesão inicial (ou primária) que danifica a estrutura ou função tecidual; alterações ultra-estruturais com eventual rompimento da membrana celular e extravazamento do seu conteúdo para o meio extracelular; alterações metabólicas como a redução da oferta de oxigênio para a célula (hipóxia); ativação de mediadores químicos com o objetivo de sinalizar o organismo do dano ocorrido;

alterações hemodinâmicas; alterações de permeabilidade dos vasos sanguíneos; migração de leucócitos e por último a fagocitose. Já os sinais da inflamação são a dor, edema, rubor, calor e perda da função (Knight, 2000).

As lesões secundárias podem ser causadas por enzimas destinadas a digerir os detritos das células mortas, que quando entram em contato com células vivas degradam suas membranas levando-as à morte, e também pela lesão por hipóxia secundária que é resultado da oferta insuficiente de oxigênio para os tecidos distais da lesão primária decorrentes das lesões vasculares e aglomeração de células inflamatórias (Knight, 2000). O resfriamento do local lesionado não visa bloquear a resposta inflamatória, uma vez que, essa é essencial no processo de cicatrização tecidual. Porém, a resposta inflamatória exacerbada danifica os tecidos íntegros ao redor da área inicialmente lesionada (lesão secundária) e assim, o objetivo da crioterapia é diminuir ou controlar a resposta inflamatória exagerada, atuando principalmente na redução dos sinais da inflamação (Knight, 2000).

Shaser et al. (2007) realizaram um trabalho experimental para análise dos efeitos do resfriamento a 8°C de forma contínua e prolongada (durante 6 horas), imediatamente após uma severa lesão fechada dos tecidos moles da região antero-lateral da tibia de ratos machos. Quando comparado ao grupo lesionado sem nenhum tratamento, a crioterapia restaurou a densidade capilar de forma funcional, provocou redução acentuada da pressão intramuscular, da aderência de leucócitos, da invasão de granulócitos e macrófagos, além de atenuar o dano tecidual, diminuindo o número de fibras necrosadas no músculo extensor *digitorum longus*. Esses resultados confirmam a eficácia da crioterapia na atenuação da destruição tecidual mediada por leucócitos e lesão hipóxica secundária.

Outro mecanismo da crioterapia é a redução da condução nervosa causada pelo aumento na duração dos potenciais de ação dos neurônios com a queda gradual da temperatura (Knight, 2000). O potencial de ação é a sequência de eventos que invertem o potencial da membrana e em seguida restauram o seu valor de repouso. Durante esse evento, os canais de íons sódio (Na⁺) localizados na membrana do axônio e terminais axônicos se abrem, permitindo o influxo de Na⁺ para o interior da célula, causando a despolarização. Em seguida, ocorre a abertura dos canais de íons potássio (K⁺), permitindo o efluxo de K⁺, produzindo a repolarização da membrana (Tortora, 2002). Sugere-se que o aumento da duração do potencial de ação após a aplicação do frio seja consequência do aumento dos

períodos refratários (Knight, 2000), que é o período no qual a célula que foi excitada não pode gerar outro potencial de ação, pois coincide com o impulso de ativação e inativação dos canais de Na^+ e estes não podem ser reabertos enquanto o potencial da membrana não retornar aos valores de repouso (Tortora, 2000). Com esse aumento da duração do potencial de ação provocado pela aplicação da crioterapia, há redução da velocidade de transmissão dos estímulos e isso é proporcional a magnitude do resfriamento (Knight, 2000).

Algaflly et al. (2007) investigaram efeito da aplicação do pacote de gelo no tornozelo, sobre a velocidade de condução no nervo tibial, o limiar de dor e a tolerância a dor, e seus resultados mostraram que quando a temperatura da pele alcançou 10°C , ocorreu diminuição significativa na velocidade da condução nervosa, o que também foi acompanhada pelo aumento no limiar e tolerância a dor, devido à redução da transmissão do impulso doloroso pelos nociceptores teciduais.

3.2.1.1 Efeito da crioterapia associada ao exercício

Elias et al. (2013) compararam a eficácia da imersão em água fria (12°C) com a terapia de contraste, alternando a cada um minuto entre imersões em água quente (38°C) e fria (12°C), ambas imersões duraram 14 minutos e foram realizadas na altura do processo xifóide de atletas de elite, após jogos de futebol. Os autores observaram que a crioimersão manteve a capacidade de realização de *sprints* repetidos 24 e 48 horas após a aplicação, enquanto os grupos de contraste e recuperação passiva ficaram mais lentos. O mesmo trabalho mostra que a crioimersão também foi o método que promoveu maior analgesia, redução da fadiga e preveniu o declínio nos testes de salto vertical com e sem contramovimento. Ascensão et al. (2011) também compararam o efeito de uma sessão de crioimersão e da imersão em água termoneutra após um jogo de futebol, observando que a crioimersão foi mais eficaz na redução da atividade da enzima creatina quinase (CK) plasmática, mioglobina, proteína C reativa (PCR), dor muscular de início tardio, prevenindo a redução da força de quadríceps e adutores, contribuindo para recuperação mais rápida da função neuromuscular.

Muitos autores têm defendido que os efeitos da crioterapia como método de recuperação do exercício estão relacionados com a melhora na percepção subjetiva da dor e da fadiga, desencadeados principalmente pela redução

da condução nervosa e ativação parassimpática (Buchheit et al., 2009; Algaflly et al., 2007; Garcia-Manso et al., 2011). Bastos et al. (2012) compararam o efeito da criomersão e da recuperação ativa na concentração de lactato e na variabilidade da frequência cardíaca, mostrando que ambos os métodos reduzem a concentração de lactato quando comparado a recuperação passiva. No entanto, apenas a criomersão apresentou melhora na regulação autonômica cardíaca, com aumento da modulação parassimpática pós-aplicação, sugerindo maior ativação simpática após a recuperação ativa.

Ingram et al. (2009) compararam os efeitos da imersão em água a 10°C, terapia de contraste frio/quente e uma situação controle, nos marcadores inflamatórios e desempenho em *sprints* repetidos e força isométrica, pré-exercício e após 48 horas. Seus resultados mostraram que a criomersão foi mais eficaz na manutenção da *performance* após 48 horas do exercício até a exaustão, mantendo valores do tempo total de *sprints*, do melhor *sprint*, da força isométrica de flexão e extensão de joelho próximo aos valores alcançados inicialmente, sem diferenças significativas entre os métodos de recuperação nos marcadores inflamatórios. Nemet et al. (2009) avaliaram o efeito da aplicação do pacote de gelo nos mediadores anabolizantes, catabólicos e inflamatórios após uma sessão de treinamento de *sprints* intervalados, obtendo como resultado a diminuição de citocinas pró e antiinflamatórias, além de redução dos hormônios anabólicos, sugerindo potenciais efeitos negativos para as adaptações ao treinamento caso as aplicações fossem consecutivas.

Poucos estudos avaliaram as respostas fisiológicas e metabólicas da aplicação consecutiva da crioterapia. Haddad et al. (2010) mostraram que a aplicação da criomersão após o treinamento, durante cinco dias, em nadadores altamente treinados aumenta a atividade parassimpática e a qualidade subjetiva do sono. No entanto, eles não avaliaram a relação com o desempenho físico ou adaptações ao treinamento. Yamane et al. (2006) avaliaram a influência da aplicação regular do frio após os exercícios de um programa de treinamento de força e *endurance*, com 4 e 6 semanas de duração. Eles mostraram que o grupo submetido à crioterapia apresentou adaptações ao treinamento (VO_2 max, força isométrica máxima e diâmetro da artéria braquial e femoral) três vezes menores que o grupo controle, sugerindo que os ajustes moleculares e humorais provocados pelo dano do exercício são fisiológicos e necessários para a adaptação ao treinamento.

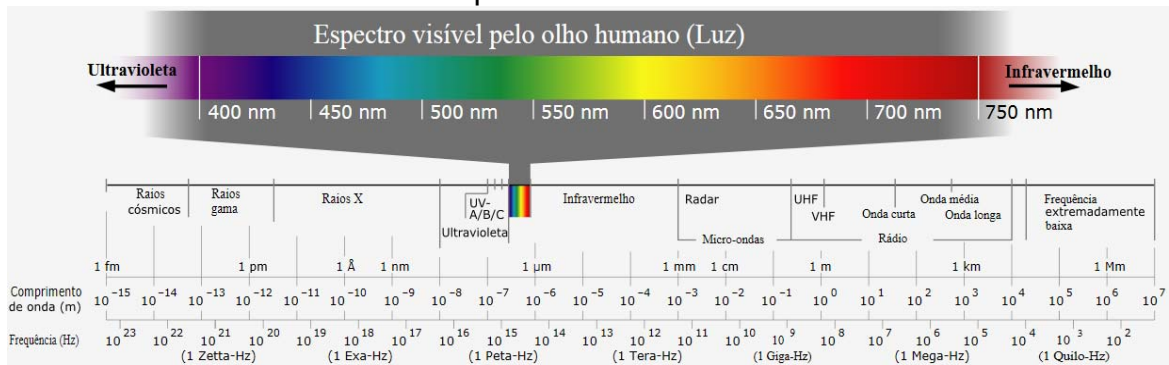
No entanto, Howatson et al. (2009) avaliaram os efeitos da imersão em água fria (12 minutos a 15°C) após dois blocos de exercício de saltos separados por 14 e 21 dias, sobre a adaptação ao exercício repetido. Os autores não encontraram diferenças significativas na contração isométrica voluntária máxima, dor muscular tardia, creatina quinase, circunferência da coxa e amplitude de movimento entre os grupos, sugerindo que a crioterapia não inibe os efeitos adaptativos do exercício repetido. Apesar do uso rotineiro da crioterapia, ainda existem muitas controvérsias sobre os seus reais efeitos.

3.2.2 Mecanismos de Ação da Fototerapia

Quando as células são expostas à fototerapia de baixa potência, ocorre aumento da síntese de ATP, modulação das espécies reativas de oxigênio (ERO), inibição da apoptose, estimulação da angiogênese, aumento do fluxo sanguíneo e indução de fatores de transcrição, levando ao aumento da proliferação celular e modulação dos níveis de citocinas, fatores de crescimento e mediadores inflamatórios (Barolet et al., 2008; Hamblin et al., 2005; Komine et al., 2010; Wong-Riley et al., 2005; Huang et al., 2009). Esses efeitos dependem de vários mecanismos bioquímicos que estão associados à dose de energia luminosa entregue e absorvida pelo tecido.

A fototerapia é frequentemente aplicada em uma potência entre 1 a 500mW, na largura espectral próxima à luz vermelha (600nm) e infravermelha (1000nm) (Figura 1), com densidade de potência entre 1mW-5W/cm² (Huang et al., 2009). Entretanto, estudos demonstraram que existe uma dose ideal de emissão de luz em qualquer tipo de aplicação, e que doses inferiores ou superiores a esse valor, interferem negativamente nos resultados terapêuticos (Hamblin et al., 2006; Huang et al., 2009).

Figura 1 – Imagem do espectro eletromagnético mostrando a região espectral que encontra-se os comprimentos de onda da luz vermelha e infravermelha utilizados na fototerapia.

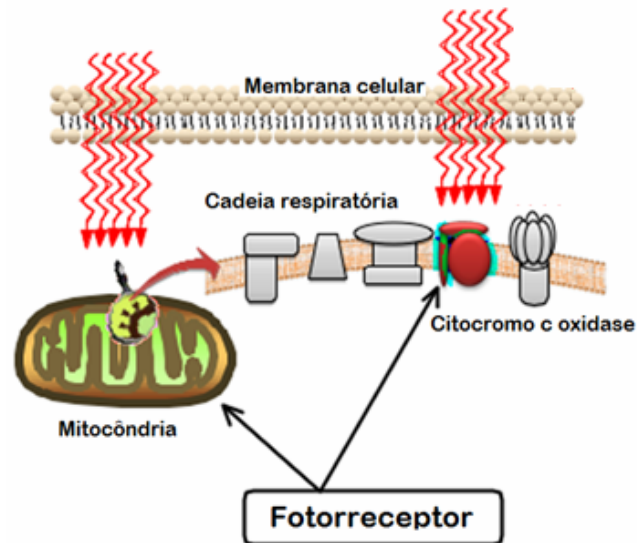


Fonte: <http://www.sbfisica.org.br/v1/novopion/index.php/publicacoes/imagens/130-espectro-eletromagnetico>

Os efeitos bioquímicos decorrentes da irradiação de luz são causados pela absorção dos fótons pelos fotorreceptores ou cromóforos, que são o conjunto de átomos de uma molécula responsáveis por sua cor, e que como exemplo podemos citar a hemoglobina, a citocromo c oxidase, a mioglobina, as flavoproteínas, entre outros (Karu et al., 1999). Os tecidos possuem propriedades ópticas que respondem diferentemente aos comprimentos de onda e de acordo com o seu fotorreceptor específico (Huang et al., 2009; Karu et al., 2005a).

Vários estudos têm demonstrado que a luz vermelha e infravermelha atuam na cadeia respiratória da mitocôndria, sendo absorvida pelo fotorreceptor citocromo c oxidase, estimulando assim as atividades mitocôndriais (Karu et al., 1999; Karu, 2010; Hamblin et al., 2006) (Figura 2). O citocromo c oxidase é uma enzima da cadeia respiratória das mitocôndrias, que pode bloquear a respiração celular quando ligado ao óxido nítrico (NO) (Huang et al., 2009; Karu et al., 2005b). A teoria da fotodissociação sugere que em processos inflamatórios, hipóxia e estresse celular, por exemplo, o citocromo c oxidase é obstruída pelo NO. No entanto, a irradiação terapêutica com LED ou laser de baixa potência seria capaz de dissociar este elemento ou difundi-lo para a matriz extracelular, deixando o citocromo c oxidase novamente livre para ligar-se ao oxigênio e retomar a atividade da cadeia respiratória (Karu et al., 2005b; Huang et al., 2009; Barolet et al., 2008).

Figura 2 – Esquema da absorção da luz vermelha e infravermelha pelo fotorreceptor citocromo c oxidase localizado na cadeia respiratória da mitocôndria.



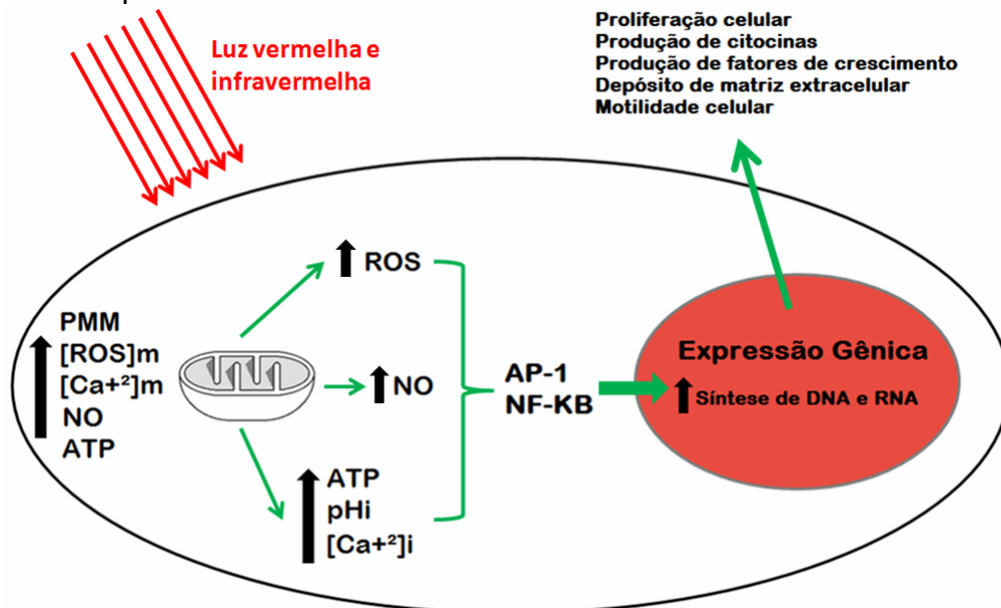
Fonte: Adaptado de Huang et al. (2009, p. 362)

Quando a respiração é bloqueada, sinais químicos na forma de radicais livres ou ERO são gerados, alterando o potencial redox da célula (Karu et al., 1999; Karu, 2008). Quando produzidos em quantidades normais, essas espécies reativas de oxigênio são sinalizadoras para a atividade de muitas proteínas ou fatores de transcrição; porém, se não houver modulação da produção de radicais livres, essa pode ser prejudicial à célula, fato encontrado em muitas patologias (Karu et al., 1999; Karu, 2008 e Barolet et al., 2008). Para entender a ação da fototerapia é necessário esclarecer o conceito básico da reação de oxidorredução ou reação redox, que é quando uma molécula aceita elétrons de outra molécula tornando-se reduzida, enquanto a molécula doadora de elétrons torna-se oxidada (reação concomitante). A propensão de uma molécula em receber elétrons e assim tornar-se reduzida é chamada de potencial eletroquímico de oxidação-redução, ou simplesmente potencial redox, e cada espécie química possui seu potencial intrínseco (Powers et al., 2000). É sugerido que a fototerapia tem melhores efeitos em células com potencial redox aumentado, ou seja, com maior tendência a receber elétrons (Hamblim et al., 2006; Karu, 2008)

Além das alterações do NO e do potencial redox celular, outras propriedades das células podem ser modificadas com a irradiação de luz vermelha e infravermelha, como: a produção de ATP, o potencial da membrana mitocondrial

interna, a homeostase fissão-fusão das mitocôndrias, a concentração de cálcio intracelular e o pH interno (Karu, 2008). Todas essas alterações tem ligação com o potencial redox celular e são sinalizadores para fatores de transcrição regulados por alterações nesse estado. Entre esses fatores de transcrição redox-dependente estão o ativador da proteína 1 (AP-1), o fator nuclear kappa B (NF- κ B), p53 e a proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB – *cAMP response element binding protein*) (Karu, 2008; Hamblim, 2006). Estudos mostraram que a irradiação de luz leva à alcalinização do pH intracelular e que o laser de baixa potência produz mudanças no potencial redox da célula em direção a maior oxidação (Karu, 2008; Hamblim, 2006). Entretanto, devido à sinalização mitocondrial retrógrada que o núcleo realiza após receber informações das mitocôndrias, enviando novas sinalizações que retornam às mitocôndrias, sugere-se que há uma modulação das espécies reativas de oxigênio com a irradiação de luz vermelha ou infravermelha (Karu, 2008).

Figura 3 – Esquema dos mecanismos celulares gerados pela aplicação da luz vermelha e infravermelha. PMM= Potencial da membrana mitocondrial; [ROS]_m= Concentração de espécies reativas de oxigênio derivados da mitocôndria; [Ca²⁺]_m= Concentração de cálcio mitocondrial; NO= Óxido nítrico; [Ca²⁺]_i= Concentração de cálcio intracelular; pH_i= potencial de hidrogênio intracelular; NF- κ B= Fator nuclear kappa B; AP-1= Ativador da proteína 1.



Fonte: Adaptado de Hamblim et al. (2006, p. 614001-6) e Karu (2008, p. 609).

De forma resumida, a teoria aceita atualmente é que quando a célula é submetida à aplicação da fototerapia, o fotorreceptor citocromo c oxidase transforma a energia dos fótons em energia bioquímica que será utilizada na cadeia respiratória das mitocôndrias, induzindo principalmente a produção de ATP, NO e ERO, que iniciarão uma cascata de sinalização via fatores de transcrição (AP-1 e NF-kB), induzindo a expressão gênica e gerando os efeitos terapêuticos da luz vermelha e infravermelha (Hamblin, 2006; Karu, 2008). A figura 3 ilustra os mecanismos de ação da fototerapia na célula.

3.2.2.1 Efeito da fototerapia associada ao exercício

A fototerapia é amplamente utilizada nos tratamentos fisioterápicos com o objetivo de reduzir a inflamação, edema e auxiliar nos processos de regeneração tecidual, acelerando a resolução de lesões tendíneas, musculares e ósseas (Laraia et al., 2012; Assis et al., 2012; Fangel et al., 2011). Há indícios que a terapia com laser de baixa potência (LBP), utilizando comprimentos de ondas vermelho e infravermelho, podem retardar a fadiga muscular durante exercícios de alta intensidade (De Almeida et al. 2012), e a LEDterapia também pode contribuir na recuperação do exercício, porém diferindo-se do LBP pela forma de aplicação, fonte de energia luminosa, tamanho do ponto, largura espectral entre outros parâmetros (Leal Junior et al., 2009a).

Alguns estudos em humanos tem mostrado que o LBP e a LEDterapia aplicadas pré-exercício, são eficazes na redução de marcadores bioquímicos como CK, PCR e lactato; no entanto, pouca ou nenhuma melhora no desempenho tem sido observado em testes anaeróbios como o Wingate (Leal Junior et al., 2009b; Leal Junior et al., 2011). Denis et al. (2013) avaliaram o efeito da irradiação com diodos emissores de luz vermelho (660nm) e infravermelho (950nm) após os testes de Wingate e Yo-Yo IR2, em atletas de esportes coletivos. Os autores não encontraram diferença entre o grupo tratado e o placebo na concentração de lactato sanguíneo, pico de potência e índice de fadiga muscular, concluindo que a LEDterapia nos parâmetros utilizados não foi eficaz na recuperação muscular após exercícios de alta intensidade e fadigante.

Em contrapartida, outras investigações têm demonstrado que a aplicação da fototerapia pré-exercício pode reduzir os danos celulares e melhorar a

execução das atividades seguintes. De Marchi et al. (2012) aplicaram o LBP (810nm) nos músculos quadríceps, isquiotibiais e gastrocnêmio de homens não treinados e analisaram os efeitos sobre o desempenho físico ($VO_2\text{max}$, tempo de exaustão, limiar anaeróbio e aeróbio) durante o teste incremental em esteira e sobre os níveis de estresse oxidativo. Os autores encontraram após a aplicação do LBP aumento no $VO_2\text{max}$ e tempo de exaustão, sem alterações nos limiares anaeróbio e aeróbio. Além disso, houve redução dos danos lipídicos e proteicos, da atividade das enzimas superóxido dismutase, enzima lactato desidrogenase e creatina quinase, porém sem alterações significativas na atividade da catalase.

Leal Junior e colaboradores (2009a) testaram o efeito da LEDterapia pré-exercício no desempenho muscular, fadiga e níveis de marcadores inflamatórios em jogadores de voleibol submetidos a um modelo experimental de contrações concêntricas do músculo bíceps braquial com carga de 75% da sua força de contração voluntária máxima (CVM) até a exaustão. Os autores observaram aumento de 12,9% no número de contrações voluntárias no grupo LED ativo comparado com o grupo LED placebo, além de reduções significativas do lactato sanguíneo, CK e PCR no grupo LED ativo. Entretanto, em homens saudáveis submetidos a exercícios de contração excêntrica de joelho, análises imediatamente após, com 24 horas e 48 horas da realização da atividade, demonstraram atenuação dos marcadores de danos musculares, porém sem diferenças na produção de força entre os grupos submetidos à fototerapia comparado com o placebo (Baroni et al., 2010).

Modelos animais também tem sido utilizados para investigar os efeitos da fototerapia. Leal Junior et al.(2010a), testaram os efeitos de diferentes doses de irradiação com laser de 904nm (0,1J, 0,3J, 1,0J e 3,0J), aplicado antes de contrações tetânicas por estimulação elétrica do músculo tibial anterior de ratos Wistar, e eles observaram que os grupos tratados com laser em doses mais altas (1J e 3J) tiveram maior valores de pico de força e aumento significativo do trabalho realizado e todos os grupos irradiados apresentaram menores níveis de lactato sanguíneo. Em relação a CK apenas o grupo irradiado com 3 joules não reduziu a atividade desta enzima pós-exercício.

Carvalho et al. (2013) compararam o efeito do laser de baixa intensidade (3J, 100mW, 810nm) com a terapia com diclofenaco tópico ou intramuscular aplicadas apenas uma vez após uma hora de lesões musculares em

ratos Wistar. Seus resultados mostraram que todos os tratamentos reduziram significativamente a expressão do gene da enzima ciclo oxigenase 1 (COX-1) e COX-2 comparado ao grupo não-tratado, porém a laserterapia mostrou melhores efeitos em relação aos níveis de prostaglandina E-2 (PGE₂), sugerindo ser este mais eficaz para a redução da inflamação, dor e febre. Estudo em lesão semelhante comparando o efeito do diclofenaco de sódio tópico com o LBP de 810nm, porém com grupos recebendo 1J, 3J ou 9J de energia, mostrou que todas as doses de fototerapia foram melhores que o diclofenaco em relação aos aspectos histológicos do tecido muscular. Todos os tratamentos reduziram a expressão de COX-2 e a terapia com LBP foi mais eficaz na redução do TNF- α , principalmente com a dose de 9J (De Almeida et al., 2013).

O processo de regeneração muscular e a formação de fibrose após a criolesão também é melhorada após a aplicação da fototerapia, gerando redução da porcentagem da superfície muscular lesionada, aumentando os níveis de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) dos fatores de transcrição de MyoD e miogenina e do fator de crescimento endotelial vascular, além de diminuir a expressão do TGF- β (Assis et al., 2012a). A irradiação a 808nm após lesão muscular também mostra redução do estresse oxidativo e nitrativo, diminuindo a peroxidação lipídica, a formação de nitrotirosina e a produção de NO, além de reduzir a resposta inflamatória induzida pelo NF- κ B, COX-2, TNF- α e IL-1 β (Assis et al., 2012b).

Poucos estudos analisaram o efeito da aplicação crônica da fototerapia. Paolillo et al. (2011) aplicaram LED infravermelho (850nm) em mulheres pós-menopausa, durante um programa de treinamento em esteira de 30 minutos a 85-90% da frequência cardíaca máxima (FCmax), duas vezes por semana, durante 3 meses. Ambos os grupos melhoraram o tempo de exaustão durante o teste de velocidade constante submáximo, sem alterações no pico de torque entre os grupos, porém com melhora da potência e trabalho total no grupo irradiado, além de redução da fadiga. Brunelli et al. (2013) avaliaram os efeitos da fototerapia com 780nm com dose de 10 ou 50J/cm² em diferentes períodos, 7,14 ou 21 dias após a criolesão induzida em ratos Wistar. Foi observado fibras mais organizadas nos grupos irradiados nos períodos de 7 e 14 dias, o grupo 10J/cm² mostrou maior aumento na quantidade de vasos após 14 dias em relação ao grupo irradiado com 50J/cm², já a imuno-histoquímica do fator MyoD apresentou maior concentração de imunomarcadores nos grupos irradiados durante 7 dias e não foi observada

diferenças entre os grupos após os 21 dias de tratamento.

Revisões sistemáticas recentes mostraram que a luz vermelha e infravermelha, com doses de 50-200mW de potência e energia entre 5-6J por ponto, são capazes de melhorar a performance muscular e acelerar a recuperação pós-exercício, reduzindo marcadores de lesão e a fadiga produzida, além de melhorar a potência, trabalho total e tempo de exaustão no exercício (Leal Junior et al., 2013; Borsa et al., 2013). Entretanto, a maioria dos ensaios clínicos randomizados feitos atualmente, aplicam a fototerapia antes do exercício e há poucos estudos avaliando a aplicação dessa terapia em outros momentos.

4 ESTUDO 1 – LEDTERAPIA OU CRIOTERAPIA ENTRE INTERVALOS DE EXERCÍCIO EM RATOS WISTAR: EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ERGOGÊNICOS*

*Publicado na revista *Lasers in Medical Science* em 19 de junho de 2013.

4.1 INTRODUÇÃO

Os esportes coletivos exigem alta intensidade de esforço intermitente que causa fadiga e consequente diminuição do desempenho durante os minutos finais das partidas (Mohr et al., 2003; Reilly et al., 2008). Tanto a fadiga quanto a redução do desempenho têm sido associados com a depleção energética e metabólica, resultando em menor número de sprints e distâncias percorridas em alta intensidade, bem como diminuição das ações táticas ao final do jogo quando comparada com os momentos iniciais da partida (Bangsbo et al., 2007; Morh et al., 2003; Chelly et al., 2011; Mendez-Villanueva et al., 2013). Isso sugere que a recuperação passiva durante o intervalo do jogo seja um tempo insuficiente para superar o cansaço acumulado no primeiro tempo de exercício. Assim, a aplicação de estratégias de recuperação durante as pausas da partida podem ajudar a reduzir a fadiga e melhorar o desempenho ao longo de todo o jogo.

A imersão em água fria (crioterapia) é uma abordagem terapêutica amplamente utilizados em esportes para acelerar a recuperação fisiológica e o desempenho após exercícios de alta intensidade (Rowse et al., 2009; Ascensão et al., 2011). Tem sido proposto que a imersão em água fria pode diminuir marcadores de danos teciduais e reações inflamatórias (por exemplo, dor, edema, hemorragia, espasmos musculares), facilitando a recuperação física após treinos e jogos (Ascensão et al., 2011; Elias et al., 2012). De fato, a crioterapia tem mostrado efeitos positivos sobre a redução da percepção da fadiga e dor muscular nos membros inferiores, embora em alguns estudos, não ter influenciado nos marcadores bioquímicos séricos de lesão muscular e inflamação (Rowsell et al., 2009), nem provocar melhora no desempenho em testes físicos (Kinugasa et al., 2012; Rowsell et al., 2009). Além disso, a crioterapia pode ser bastante desconfortável devido o tratamento envolver a imersão parcial em água arrefecida (5-15 °C) durante vários minutos (10 a 15 min) (Leeder et al., 2012). Evidências também sugerem que alguns atletas são intolerantes a tal intervenção.

Recentemente, a fototerapia com lasers (laserterapia) ou diodos emissores de luz (LEDterapia) foi testada a fim de melhorar o desempenho, diminuir a inflamação e facilitar a recuperação após o exercício de alta intensidade (Camargo et al., 2012; Vierira et al., 2012; De Almeida et al., 2011). A emissão de luz infravermelha pode modular certas vias de sinalização intracelular e agir sobre o metabolismo oxidativo na cadeia respiratória mitocondrial, melhorando a síntese de ATP por estimular a atividade da enzima citocromo c oxidase (Silveira et al., 2009). A fototerapia também é eficaz na redução ou modulação das vias de sinalização inflamatórias, diminuindo os processos inflamatórios e lesões musculares induzidas pelo exercício de alta intensidade (De Almeida et al., 2011; Camargo et al., 2012). Um decréscimo significativo nos marcadores de dano oxidativo foi observado após o exercício quando a luz infravermelha foi aplicada como estímulo ergogênico antes da corrida (De Marchi et al., 2012), além de outros estudos mostrarem a diminuição dos níveis de creatina quinase e melhora desempenho após a aplicação da fototerapia (Camargo et al., 2012; Leal Junior et al., 2010).

Há poucas informações disponíveis sobre a aplicabilidade da crioterapia ou LEDterapia durante os curtos intervalos de descanso entre os exercícios. Esta abordagem pode ser útil para diminuir a fadiga e perda de rendimento durante esportes coletivos, porém esta possibilidade ainda não foi testada. O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da crioterapia ou LEDterapia aplicada entre dois testes consecutivos de natação sobre marcadores de dano tecidual e desempenho subsequente em ratos.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Animais

Ratos Wistar machos, pesando 300 ± 10 g, foram mantidos em condições normais de 20-22 °C com 12 horas de ciclo dia/noite e livre acesso a ração padrão para roedores (NUVILAB®CR1, Nuvital, Colombo, Brasil) e a água.

Seis animais por grupo de estudo foram necessárias para chegar a um poder estatístico de 95% e erro α de 5%. O número de animais foi calculado com base nos valores médios de creatina quinase (300 ± 100 U.I) em repouso e considerando os valores pós-exercício > 600 U.I. Inicialmente, nove animais foram

alocados em cada grupo e alguns animais foram perdidos durante a primeira sessão de exercícios (ou seja, morreu por afogamento) ($n = 2$), enquanto alguns não se recuperaram da sedação durante o intervalo de recuperação entre as séries de 25 minutos ($n = 9$). Vinte e nove animais completaram o primeiro experimento e foram utilizados para analisar os danos musculares e inflamação após dois blocos consecutivos de exercício (45 minutos cada bloco). Um segundo experimento foi completado com outros 22 ratos submetidos primeiro a um bloco de exercício com duração de 45 minutos e depois por um segundo turno de exercício realizado até a exaustão. Métodos de recuperação foram aplicados entre os dois blocos de exercício em ambos os experimentos.

Antes de serem submetidos aos protocolos de exercício, os animais foram familiarizados com o ambiente aquático durante cinco dias consecutivos, começando com cinco minutos no primeiro dia de exposição e aumentando progressivamente até 25 minutos no quinto dia. Todos os experimentos foram realizados de acordo com as orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina (n° 1177.2013.38).

4.2.2 Inflamação e Lesão Muscular

Os animais foram divididos em quatro grupos: controle (CO, $n = 6$), exercício + recuperação passiva (RP, $n = 6$), exercício + crioterapia (CRIO, $n = 8$) e exercício + LEDterapia (LED, $n = 9$). Para avaliar a lesão muscular, os grupos de exercício (RP, CRIO e LED) foram submetidos a dois episódios de 45 minutos de natação que foram separadas por 25 minutos de recuperação. A natação foi realizada em um recipiente plástico (40 cm de profundidade x 35 cm de diâmetro), sob supervisão contínua e com temperatura constante da água entre 30-32 °C. Depois da primeira sessão de exercício, os animais foram sedados em éter dietílico e submetidos a recuperação passiva (grupo RP), crioterapia (CRIO) ou LEDterapia (LED).

Os animais do grupo RP foram colocados em suas gaiolas sob supervisão até que se recuperassem da sedação. As pernas traseiras dos animais do grupo CRIO foram imersas em água fria (cerca de 10 °C) durante 10 minutos. A temperatura da água foi constantemente monitorada com um termômetro e controlada por substituição com água gelada. O grupo LED recebeu irradiação em

ambas as pernas traseiras, a um comprimento de onda de 940 nm e uma largura espectral de 45 nm, em intervalos de tempo suficiente (4 minutos) para administrar 4 J/cm² de intensidade energética, 9,5 mW/cm² de densidade de potência e 160 mW de potência de saída, que foi distribuído numa área de irradiação de 1 cm² em cada perna. A fonte de radiação foi ligada a um suporte e mantido 1 cm acima da superfície da pele na região média do ventre muscular do tríceps sural. A potência de saída óptica da fonte de luz foi calibrado antes do estudo, com um medidor de potência de banda larga e de energia (PD 300 Sensor Fotodiodo Padrão; Ophir Optronics, Jerusalém, Israel). O equipamento foi desenvolvido no Laboratório de Óptica e Optoeletrônica do Departamento de Física da Universidade Estadual de Londrina. Depois de fototerapia e da crioterapia, os animais foram mantidos em suas gaiolas e observados até a recuperação da sedação. Após 25 minutos, todos os animais recuperaram-se da sedação e foram submetidos a um segundo turno de 45 minutos de exercício para posterior análise histológica e hematológica.

Após 24 horas, os animais foram anestesiados com uma solução aquosa de cloridrato de xilazina (0,02 g/kg, Virbaxyl® 2%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil), associado com cloridrato de cetamina (1g/kg Francotar® 10%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil) e as amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca. A análise da creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR) foram realizadas utilizando kits comerciais e um analisador de bioquímica automatizado (Dimension EXL™ Sistema Químico, Siemens, Munique, Alemanha). A análise hematológica foi realizada em um analisador hematológico automatizado (BC 2800 Veterinário, Mindray Medical, Nanshan, China). Após a coleta das amostras de sangue, os animais foram sacrificados por overdose de solução anestésica.

O músculo sóleo direito foi então retirado e fixado em solução de Bouin durante 24 horas para o processamento histológico. Os cortes histológicos (7 mm) foram corados com hematoxilina-eosina e analisados com um microscópio óptico. Quinze imagens de cada animal foram capturados aleatoriamente em ampliação de 50x e 100x usando um dispositivo de imagem Moticam (grupo Motic, Xiamen, China) e analisados com Motic Image Plus 2.0 (Motic, Xiamen, China). Cada imagem foi seccionada em 20 campos, 50 µm²/área, com um total de 1500 campos analisados de cada animal. O número de campos com as fibras musculares danificadas e infiltrado inflamatório foi registrado. As células foram consideradas danificadas quando apresentaram citoplasma acidófilo, perda de estrias ou núcleos

ou em fagocitose por células inflamatórias. Infiltrados de células inflamatórias também estavam presentes no perímio e consistiam de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (Carmo-Araújo et al., 2007).

4.2.3 Desempenho na Natação

O desempenho físico foi avaliado em vinte e dois animais, alocados em 3 grupos: RP (n = 8), CRIO (n = 7) e o LED (n = 7). Os animais realizaram um bloco de 45 minutos de natação e foram subsequentemente submetidos a um dos métodos de recuperação descritos acima. O segundo bloco de exercício foi realizado até à exaustão (isto é, até a incapacidade de continuar o exercício), e a duração do exercício foi registrado em minutos (Dawson et al., 1970). As amostras de sangue foram coletadas 24 horas após o exercício.

4.2.4 Análise Estatística

O teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade da distribuição. Análise de variância e teste post-hoc de Tukey foram aplicados para comparar diferenças de médias entre os diferentes grupos de tratamento. Os testes Kruskal-Wallis e post-hoc de Dunn foram aplicados para os dados não paramétricos. Os dados estão expressos como média e desvio padrão (dados paramétricos) ou mediana e quartis 25-75% (dados não paramétricos). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Inflamação e Lesão Muscular

Vinte e quatro horas depois dos dois episódios de 45 minutos de exercício, um aumento do número de leucócitos totais foram observados nos grupos RP e CRIO. O grupo LED apresentou leucocitose significativa (Tabela 1). Leucocitose foi atribuído principalmente ao aumento do número de neutrófilos circulantes nos grupos RP e CRIO, porém nos animais do grupo LED também foi observado elevação do número de neutrófilos, entretanto sem aumento significativo

nos valores de leucócitos totais. Os níveis de CK foram aumentados apenas em animais submetidos à crioterapia, enquanto a PCR foi mais acentuada no grupo RP (Figura 1).

Tabela 1 - Contagem de leucócitos após 24 horas do exercício.

	Controle	Recuperação Passiva	Crioterapia	LEDterapia
Leucócitos (cels/mm ³)	4210±691	7220±1232*	7282±1816**	5508±1272
Linfócitos (cels/mm ³)	3836±710	5283±1681	5698±1284	4094±1307
Neutrófilos (cels/mm ³)	438±69	1284±506*	1584±710**	1414±188*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ comparado ao grupo controle. ANOVA e teste de Tukey.

No grupo RP, a análise microscópica mostrou aumento da frequência de áreas com necrose nas células musculares em relação ao grupo controle (Tabela 2). O número de áreas de necrose (Figura 2) não aumentou significativamente nos grupos CRIO ou LED. No entanto, o grupo de LED apresentou áreas necróticas significativamente menores do que o grupo PR. Os grupos RP e CRIO apresentaram maior frequência de áreas com edema (Figura 2) comparado com o grupo CO, enquanto a LEDterapia impediu a formação de edema (Tabela 2).

Figura 1 – Níveis sanguíneos médios de creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR), 24 horas após dois turnos de 45 minutos de exercício. Grupo controle não realizou exercício. Os grupos RP, Crio e LED foram submetidos a recuperação passiva, imersão em água fria e LEDterapia após o primeiro turno de exercício. * $P < 0.05$, teste de Tukey.

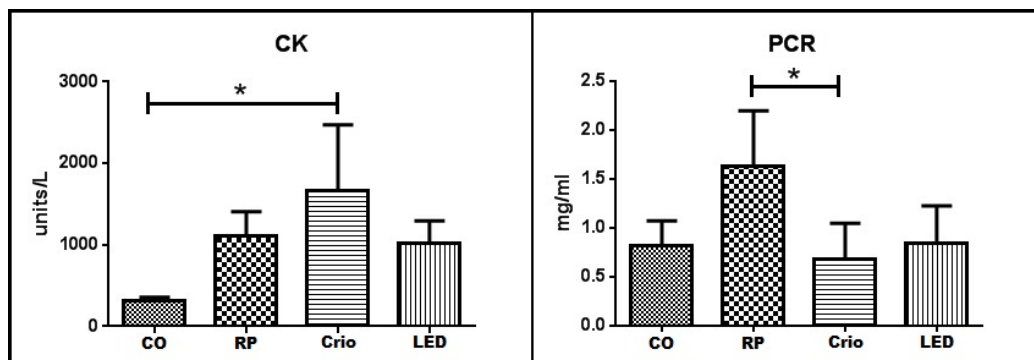


Figura 2 – Fotomicrografia do músculo sóleo direito de ratos Wistar. (a) Animais do grupo submetido a recuperação passiva, apresentando áreas de necrose muscular (seta branca), edema e infiltrado inflamatório (seta preta). (b) Grupo crioterapia apresentando áreas com edema e infiltrado celular (seta preta). (c) Grupo LEDterapia não apresentando necroses de fibras musculares ou edema. Hematoxilina e eosina, aumento de 100X.

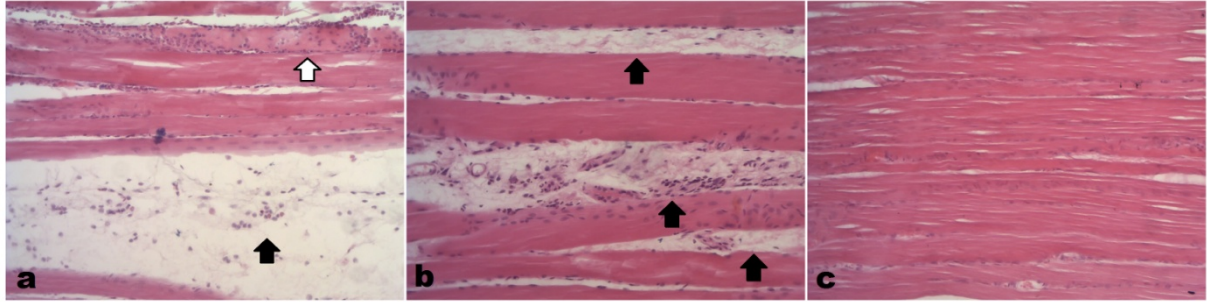


Tabela 2 - Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica.

Parâmetros das áreas	Controle	Recuperação Passiva	Crioterapia	LEDterapia
Necrose (%)	0.06	0.50**	0.17	0.12‡
Edema (%)	0.67	5.38**	9.58**‡‡	0.33‡‡‡‡
Inflamação (%)	0.07	3.56**	9.67**‡‡	2.26**‡‡‡
¹ Contagem das células inflamatórias (cels.mm ⁻²)	1 (1-2)	3 (2-7)	5 (2-12)**	2 (1-4)‡‡

* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ em comparação com o grupo controle; ‡ $p < 0.05$, ‡‡ $p < 0.005$ em comparação com o grupo RP; † $p < 0.05$, †† $p < 0.005$ em comparação com o grupo Crio; Teste Qui-quadrado.

¹Dados expressos em mediana (25 para 75 quartis); Kruskal-Wallis e teste de Dunn.

O grupo CO apresentou a menor frequência de campos contendo células inflamatórias, seguido pelos grupos LED, RP e, finalmente, a CRIO, com diferenças significativas entre todos os métodos de recuperação (Tabela 2). Em relação à densidade de células inflamatórias por campo, o grupo CRIO mostrou os valores mais elevados, obtendo diferenças significativas em relação aos grupos controle e LED (Tabela 2).

4.2.3 Desempenho na Natação

Na sessão de natação até a exaustão, o desempenho dos grupos LED e Crio foi maior do que o grupo de RP (Figura 3). As amostras de soro

coletadas 24 horas após o teste de exaustão, não apresentaram diferenças significativas nos valores de CK entre os grupos, sugerindo que os animais dos grupos CRIO e LED não aumentaram os níveis de lesão muscular, apesar da melhora do desempenho. O valor médio da PCR foram significativamente diferentes entre os grupos submetidos a crioterapia e LED, mas nenhum deles diferiu do grupo RP (Figura 4).

Figura 3 – Desempenho na natação após 45 minutos de exercício + métodos de recuperação (tempo até a exaustão). O grupo RP foi submetido a recuperação passiva durante o intervalo de descanso. O grupo CRIO realizou a imersão em água fria e o grupo LED recebeu a fototerapia durante o intervalo do exercício (4 J/cm^2). $**p < 0.01$; $***p < 0.005$ comparado com o grupo RP, teste de Tukey.

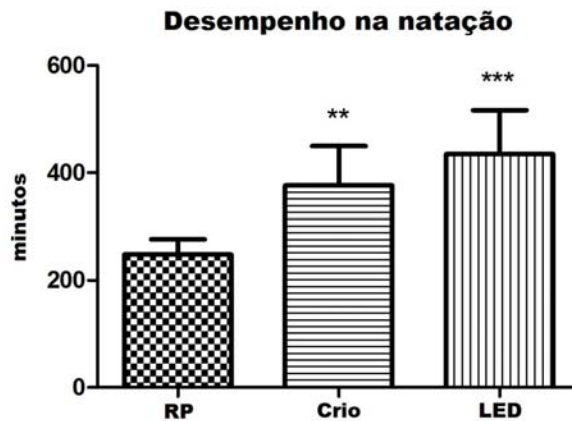
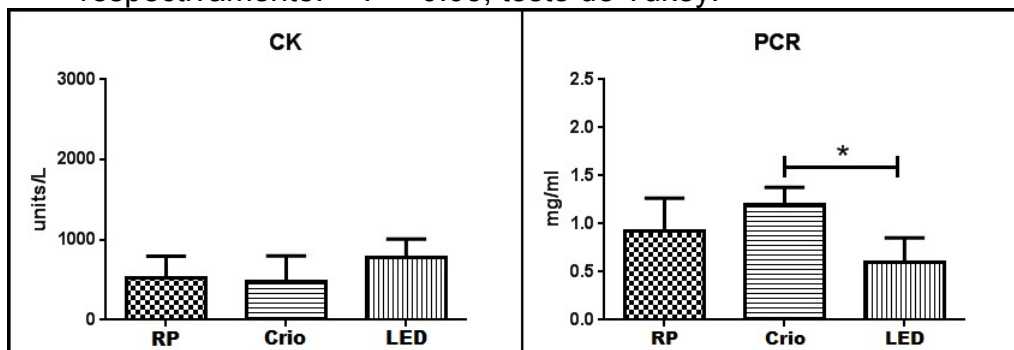


Figura 4 – Níveis sanguíneos médios de creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR), 24 horas após o teste de desempenho na natação. Os grupos RP, CRIO e LED foram submetidos a recuperação passiva, imersão em água fria e LEDterapia durante o intervalo de descanso, respectivamente. $* P < 0.05$, teste de Tukey.



4.4 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostrou que a fototerapia com LED, quando aplicada entre dois blocos consecutivos de exercício, é mais eficiente na prevenção de lesões musculares e reações inflamatórias do que a recuperação passiva ou crioterapia. Além disso, a LEDterapia e a crioterapia melhoram o desempenho no exercício, após 45 minutos de natação.

A imersão em água fria tem sido amplamente utilizada nos esportes para evitar lesões musculares e melhorar a recuperação (Leeder et al., 2012; Ascensão et al., 2011; Elias et al., 2012; Bailey et al., 2007; Garcia-Manso et al., 2011). Treinamento esportivo de alta intensidade está associada à hipertermia, depleção energética, danos musculares, estresse oxidativo, inflamação e fadiga, com consequente diminuição do desempenho devido à dor e função muscular prejudicada (Leeder et al., 2012). Os efeitos da crioterapia têm sido associados com a redução do fluxo sanguíneo e da temperatura muscular, diminuindo a atividade inflamatória após o exercício (Bailey et al., 2007; Pournot et al., 2011). Além disso, a imersão em água fria, pode diminuir a velocidade de condução nervosa, o que diminui a dor, mas também interfere no recrutamento de unidades motoras (Garcia-Manso et al., 2011). Os resultados do presente estudo mostraram que a imersão em água fria pode aumentar o desempenho em um bloco subsequente de exercício, no entanto, os aumentos de neutrófilos circulantes, a alta concentração de creatina quinase no sangue e o aumento da frequência de edema e áreas de inflamação muscular sugerem que a crioterapia não impediu o dano muscular ou inflamação.

A eficácia da crioterapia como estratégia de recuperação do exercício é controverso. Embora alguns estudos tenham descrito os efeitos benéficos da crioterapia para reduzir a inflamação, muitos efeitos biológicos deste método podem estar associado a percepções subjetivas de alívio da dor, bem-estar e um retorno mais rápido ao equilíbrio do sistema nervoso autônomo. Além disso, apenas um impacto modesto sobre o desempenho físico tem sido observado (Bailey et al., 2007; Kinugasa et al., 2009; Rowsell et al., 2009; Rupp et al., 2012; Stanley et al., 2012; Bleakley et al., 2012; Buchheit et al., 2009). Buchheit e Peiffer (2009) analisaram os efeitos da crioterapia pós-exercício na reativação parassimpática em um estudo onde os participantes foram submetidos à imersão em água fria entre dois conjuntos de exercício supra-máximo, e os autores concluíram que a crioterapia

pode acelerar a reativação parassimpática imediatamente após o exercício (Bucheit et al., 2009). Mesmo sendo observada melhora na percepção subjetiva de recuperação física, a terapêutica não demonstrou qualquer efeito na recuperação do desempenho físico. Embora a crioterapia aplicada após jogos de futebol reduza a percepção dolorosa e diminua os sintomas de fadiga, os níveis de marcadores inflamatórios parecem não diminuir, e também não foi observada melhoras em testes específicos como de saltos, sprints repetidos, teste de recuperação intermitente Yo-yo ou no shuttle run (Kinugasa et al., 2012; Roswell et al., 2009; Rupp et al., 2012; Stanley et al., 2012). Em contrapartida, Bailey e Erith (2007) aplicaram a crioterapia em indivíduos após exercícios de alta intensidade e encontraram diminuição da percepção da dor e menores níveis de mioglobina, uma hora após o exercício. Outros autores relataram baixos níveis de mioglobina (30 minutos), CK e PCR (24 e 48h), quando a crioterapia foi aplicada após uma partida de futebol (Ascensão et al., 2011).

Embora se saiba que a fadiga acumulada diminui o desempenho físico durante a segunda metade de jogos desportivos e que os marcadores elevados de inflamação e lesão muscular foram encontrados 24 a 48 horas após a competição, não foram apresentadas evidências científicas até o momento em relação ao uso de métodos de recuperação durante o intervalo do exercício. O presente estudo sugere que a crioterapia, normalmente utilizada após o exercício, pode ser útil para melhorar o desempenho em uma segunda sessão de exercício, mas pode aumentar a inflamação sistêmica e local. Os níveis elevados de CK observados neste estudo sugerem que os danos ultraestruturais das células musculares não foi impedido pela crioterapia, apesar do reduzido número de áreas de necrose indicar menos lesões irreversíveis das fibras musculares no grupo Crio comparado ao grupo submetido a recuperação passiva. Uma explicação possível para os resultados da crioterapia serem menos favoráveis do que os resultados da terapia com LED, é que o resfriamento provoca vasoconstrição e reduz transmissão nervosa local, o que compromete a nutrição, fornecimento de energia, remoção de produtos catabólicos e recrutamento de fibras musculares (Algafly et al., 2007; Crowley et al., 1991; Peiffer et al., 2009; Bailey et al., 2007; Garcia-Manso et al., 2011). Assim, quando os indivíduos são submetidos a um segundo turno de exercício imediatamente após a crioterapia, estes podem desenvolver mais lesões devido ao excessivo esforço inicial para retornar a uma temperatura corporal

adequada para a obtenção de respostas fisiológicas e metabólicas ideais para a realização da atividade física (Crowley et al., 1991; Peiffer et al., 2009).

Estudos recentes têm demonstrado que a terapia com LED pode diminuir o dano muscular e inflamação após o exercício (De Almeida et al., 2013; Leal Junior et al., 2010. Camargo e Siqueira (2012) analisaram os efeitos da imersão em água fria e da LEDterapia na lesão muscular e inflamação em ratos Wistar submetidos ao exercício de natação. Os autores constataram que o uso de terapia com LED após o exercício foi mais eficiente na prevenção de lesões musculares e inflamação do que a crioterapia [11]. Leal Júnior e de Godoi (2011) compararam a eficácia da crioterapia e da LEDterapia em jogadores de futebol de salão, encontrando baixos níveis de lactato e CK nos atletas tratados com LED, porém, eles não encontraram diferenças significativas na PCR e no desempenho no teste Wingate entre os atletas submetidos aos métodos.

O principal alvo da fototerapia é a citocromo c oxidase, uma enzima chave na cadeia respiratória mitocondrial (Prindeze et al., 2012; Wong-Riley et al., 2005). Expondo as células de mamíferos à luz vermelha ou infravermelha aumenta-se a síntese de ATP, reduz a liberação de espécies reativas de oxigênio, diminui a apoptose celular, estimula-se a angiogênese, melhora o fluxo sanguíneo local, induz a expressão de fatores de crescimento e modula a produção de mediadores inflamatórios (Wong-Riley et al., 2005; De Almeida et al., 2011; Komine et al., 2010; Silveira et al., 2009). As células musculares expostas à LEDterapia aumentam sua capacidade oxidativa, tornando-se mais resistente à fadiga, realizando maior número de repetições e trabalho total durante o exercício (Paolillo et al., 2011; Leal Junior et al., 2010; De Almeida et al., 2011). Estudos em humanos, no entanto, tiveram resultados contraditórios, demonstrando em alguns trabalhos melhora do desempenho e em outros nenhum efeito, quando analisados o número de repetições, o pico e média de força de flexão do cotovelo ou tempo de exaustão no teste de Wingate (De Almeida et al., 2012; Leal Junior et al., 2009a; Leal Junior et al., 2009c). No entanto, estudos têm demonstrado redução da CK, lactato e PCR sanguínea após o exercício em atletas submetidos a terapia com luz vermelha e infravermelha de baixa potência (Leal Junior et al., 2010b; Leal Junior et al., 2009a; Leal Junior et al., 2009b).

Em nosso projeto experimental, foram aplicados métodos de recuperação entre duas séries de exercícios, a fim de simular o tempo de intervalo

ao meio do jogo competitivo. O intervalo do jogo é uma pausa importante em que os atletas recebem instruções técnicas, táticas e podem se recuperar fisicamente (Bangsbo et al., 2008; Morh et al., 2003; Chelly et al., 2011; Mendez-Villnueva et al., 2013). Os resultados demonstraram que tanto a crioterapia como a terapia com LED nos parâmetros descritos podem retardar a fadiga, e podem ser úteis quando aplicados entre as séries sucessivas de exercício. No entanto, a LEDterapia pode ser mais adequada para acelerar a recuperação e prevenir danos ao tecido muscular.

4.5 CONCLUSÃO

A LEDterapia e a crioterapia promoveram efeitos ergogênicos no exercício de natação. No entanto, a terapia com LED foi mais eficiente na prevenção de lesões musculares e reações inflamatórias do que a recuperação passiva ou a crioterapia quando aplicada entre dois blocos consecutivos de exercício de natação. A LEDterapia pode ser mais adequada para a recuperação entre as séries sucessivas de exercício devido aos seus efeitos anti-inflamatórios locais e sistêmicos, prevenindo a lesão muscular e atrasando a fadiga.

5 ESTUDO 2 – EFEITO DE APLICAÇÕES SUCESSIVAS DA CRIOTERAPIA E DA LEDTERAPIA NAS ADAPTAÇÕES AO TREINAMENTO DE NATAÇÃO EM RATOS WISTAR

5.1 INTRODUÇÃO

Atletas de alto rendimento são expostos a altas cargas de treinamento que causam estresse fisiológico ao organismo, gerando adaptações centrais e periféricas, na regulação do sistema nervoso autônomo, do eixo hipotálamo-adoeno-hipófise, sistema imunológico e músculoesquelético (Green et al., 2012). Para que ocorram as adaptações ao treinamento, é necessário que o estresse seja frequente e de intensidade suficiente para provocar alterações fisiológicas e metabólicas no organismo, seguido por um período de redução das cargas de treinamento que permitam a recuperação e adaptação do organismo à carga de treino imposta (Mujika et al., 2010).

Entretanto, treinamentos intensos podem provocar lesões devido ao danos teciduais, inflamação, edema e outros fatores que podem comprometer o desempenho esportivo. Assim, quando o período de recuperação ao exercício é inadequado, distúrbios físicos e emocionais podem ser prolongados e, além de reduzir o desempenho, aumentam o risco de lesões em atletas nos períodos competitivos (Pereira et al., 2013; Meeussen et al., 2013). O desafio atual tem sido equilibrar as altas cargas de treinamento e as tensões das competições, com períodos de recuperação, com utilização ou não de métodos de recuperação que visem reduzir os danos provocados pelo exercício intenso, porém sem interferir negativamente nas adaptações moleculares necessárias para melhorar o desempenho esportivo (Meeusen et al., 2013).

Várias modalidades de recuperação tem sido inseridas como parte integrante dos programas de treinamento de atletas de elite, para auxiliar no equilíbrio entre treinamento e recuperação. Porém, ainda há poucas evidências que comprovem os efeitos benéficos desses métodos na recuperação pós-exercício, e os resultados no desempenho em testes específicos são controversos (Barnett et al., 2006). A criomersão é a estratégia de recuperação mais utilizada no meio esportivo, aplicada com o objetivo de reduzir os danos teciduais, inflamação e edema decorrentes do exercício intenso. No entanto, a imersão em água fria é um meio desconfortável e muitas vezes pouco aceito pelos atletas, além de estudos recentes

demonstrarem que os efeitos deste método estão mais relacionados com a percepção subjetiva da fadiga, do que com a redução dos marcadores bioquímicos de lesão (Rupp et al., 2012; Buchheit et al., 2009).

A fototerapia é um método que vêm sendo aplicado no meio esportivo com o objetivo de modular as espécies reativas de oxigênio, níveis de citocinas, fatores de crescimento e mediadores inflamatórios de forma a controlar os danos provocados pelo exercício (Barolet et al., 2008; Huang et al., 2009; Leal-Junior, 2013; Da Costa-Santos et al., 2013). Todavia, os resultados da aplicação frequente das estratégias de recuperação sobre os marcadores inflamatórios, a adaptação ao treinamento e o desempenho ainda são desconhecidos ou inconclusivos. Esse conhecimento é relevante no sentido de guiar os praticantes ao uso ou não de métodos de recuperação após cada sessão de treinamento.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar os efeitos da fototerapia e da crioterapia, aplicadas após o exercício, nos marcadores inflamatórios, percentual de gordura epididimal e desempenho aeróbio em ratos Wistar, durante um período de 21 dias de treinamento intenso.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Animais

Trinta e oito ratos Wistar machos, pesando $300 \pm 10\text{g}$, foram mantidos em condições normais de $20\text{-}22\text{ }^{\circ}\text{C}$ com 12 horas de ciclo dia/noite e livre acesso a ração (NUVILAB®CR1, Nuvital, Colombo, Brasil) e água. Os animais foram divididos em cinco grupos: Controle sedentário (CO, n=6), controle + teste de exaustão (CE, n=7), treinamento + recuperação passiva (RP, n=8), treinamento + crioterapia (CRIO, n=7) e treinamento + LEDterapia (LED, n=7). Todos os experimentos foram realizados de acordo com as orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina.

5.2.2 Protocolo de exercício

Os grupos RP, CRIO e LED foram submetidos a sessões de natação durante cinco dias para familiarização com o ambiente aquático e na semana

seguinte foi iniciado o programa de treinamento composto de 21 dias de exercícios, conforme o protocolo adaptado de Da Costa Santos et al. (2011). O exercício foi realizado cinco vezes por semana, em recipientes com água a temperatura de 30°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e com 40 cm de profundidade. A familiarização foi realizada durante cinco dias consecutivos, começando com cinco minutos em uma profundidade de 10 cm no primeiro dia de exposição, e aumentando progressivamente até 25 minutos e 25 cm de profundidade no quinto dia. Na primeira sessão de exercício, os animais nadaram sete minutos sem carga adicional, e posteriormente foi aumentada a duração e carga do exercício de forma gradual, como descrito na tabela 1. Ao terceiro dia de treinamento, cargas individuais foram fixadas ao tórax de cada animal e corrigidas semanalmente de acordo com o peso corporal.

Tabela 1 – Esquema do protocolo de exercício.

Dias	1^o – 2^o	3^o – 5^o	6^o – 7^o	8^o	9^o – 12^o
Tempo (min)	7	10	Descanso	15	20
Carga (%peso)	0	3		4	4
Dias	13^o – 14^o	15^o – 16^o	17^o – 19^o	20 – 21	22
Tempo (min)	Descanso	25	30	Descanso	Teste de exaustão
Carga (%peso)		4	4		4

5.2.3 Aplicação dos Métodos de Recuperação

Após o término de cada sessão diária de treinamento, os animais foram levemente sedados por inalação em éter etílico e submetidos aos métodos de recuperação. Os animais do grupo RP foram colocados em suas gaiolas sob supervisão até que se recuperassem da sedação. As pernas traseiras dos animais do grupo CRIO foram imersas em água a 10°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) durante 5 minutos. A temperatura da água foi constantemente monitorada com um termômetro e controlada por substituição com água gelada. O grupo LED recebeu irradiação em ambas as pernas traseiras, a um comprimento de onda de 940 nm e uma largura espectral de 45 nm, em intervalos de tempo suficiente (4 minutos) para administrar 4 J/cm² de densidade energética, 9,5 mW/cm² de densidade de potência e 160 mW de potência de saída, que foi distribuído numa área de irradiação de 1 cm² em cada perna. A fonte de radiação foi ligada a um suporte e mantido 1 cm acima da

superfície da pele na região média do ventre muscular do tríceps sural, com os ratos posicionados em decúbito ventral. A potência de saída óptica da fonte de luz foi calibrada antes do estudo, com um medidor de potência de banda larga e de energia (PD 300 Sensor Fotodiodo Padrão; Ophir Optronics, Jerusalém, Israel). O equipamento de fototerapia foi desenvolvido no Laboratório de Óptica e Optoeletrônica do Departamento de Física da Universidade Estadual de Londrina. Depois da aplicação dos métodos de recuperação os animais foram devolvidos a suas gaiolas.

5.2.4 Desempenho na Natação

No 22º dia do protocolo de treinamento, os animais foram submetidos a um teste de desempenho para avaliar os efeitos promovidos pelo treinamento e a aplicação dos métodos de recuperação. O teste de desempenho físico foi realizado por todos os ratos dos grupos CE, RP, Crio e LED, com um intervalo de 72 horas da última sessão de treinamento e com carga de 4% do peso corporal mensurado imediatamente antes do teste. Os animais do grupo CE foram apenas familiarizados durante cinco dias e após 72 horas foram submetidos ao teste de exaustão. No dia da avaliação do desempenho não foi aplicado nenhum método de recuperação, a fim de excluir os efeitos agudos da aplicação destes. O exercício de natação foi realizado até a exaustão, ou seja, até o animal demonstrar incapacidade de continuar o exercício, e a duração do exercício foi gravada em minutos (Dawson et al., 1970; Da Costa Santos et al., 2013).

5.2.5 Coletas e Análises de Material Biológico

Após 24 horas da finalização do teste de desempenho, os animais foram anestesiados com uma solução aquosa de cloridrato de xilazina (0,02 g/kg, Virbaxyl® 2%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil), associado com cloridrato de cetamina (1g/kg Francotar® 10%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil) e as amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca. A análise da creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR) foram realizadas utilizando kits comerciais e um analisador bioquímico automatizado (Dimension EXL™ Sistema Químico, Siemens, Munique, Alemanha). A análise hematológica foi realizada em um analisador

hematológico automatizado (BC 2800 Veterinário, Mindray Medical, Nanshan, China). Após a coleta das amostras de sangue, os animais foram sacrificados por *overdose* de solução anestésica.

Os músculos sóleo e gastrocnêmio direito, assim como os depósitos de gordura epididimal foram removidos e pesados para o cálculo dos pesos relativos. O músculo sóleo e gastrocnêmio foram fixados em solução de Bouin durante 24 horas para o processamento histológico. Os cortes histológicos semi-seriados (7 mm) foram corados com hematoxilina-eosina e analisados com um microscópio óptico. Dez cortes foram obtidos a partir de cada animal, e a parte central do ventre muscular foi capturada aleatoriamente na objetiva de 10× usando um dispositivo de captura de imagem Moticam (grupo Motic, Xiamen, China) e analisados com o software Motic Image Plus 2.0 (Motic, Xiamen, China). Cada imagem foi dividida em 100 campos de 100 μm^2 , e o número de campos contendo fibras musculares danificadas e infiltrado inflamatório foi contado como descrito por Carmo-Araújo et al. (2007). As células musculares foram consideradas danificadas quando apresentaram sinais de necrose (citoplasma acidófilo, perda de estrias, perda do núcleo, núcleos picnóticos, contornos irregulares ou degradação por fagócitos). Cem campos por imagem, num total de 1.000 campos de cada músculo por animal, foram observados e os resultados registrados. O número de campos contendo as células inflamatórias no tecido conjuntivo ou em contato com as fibras musculares necróticas foram registrados e expressos como a porcentagem de campos contendo células inflamatórias.

5.2.6 Análise Estatística

O teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade da distribuição. O teste ANOVA two-way e o teste post hoc de Tukey foram aplicados para comparar as diferenças das médias entre os diferentes grupos de tratamento. O teste de Kruskal-Wallis e o teste post hoc de Dunn foram aplicados para dados não paramétricos. O teste Qui-quadrado foi utilizado para comparar as frequências entre os grupos. Os dados estão expressos como média e desvio padrão (dados paramétricos) ou mediana e quartis 25-75% (dados não paramétricos). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Percentual de Gordura Epididimal e Peso Muscular

Não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos no peso corporal, ganho de peso, depósito de gordura epididimal e no peso absoluto e relativo do músculo sóleo. O peso absoluto do músculo gastrocnêmio também não apresentou diferenças significativas entre os grupos; entretanto o peso relativo se mostrou diferente entre os grupos CO e RP (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores do peso corporal, gordura epididimal e dos músculos sóleo e gastrocnêmio.

	CO	CE	RP	CRIO	LED
Peso inicial (g)	328,3 ± 33,1	346,7 ± 39,8	375,1 ± 39,4	372,7 ± 8,4	363 ± 16,4
Peso final (g)	363,8 ± 19,6	369,3 ± 40,2	388,9 ± 37,1	388,6 ± 25,9	404,6 ± 26,5
Ganho de peso (g)	35,50 ± 18,81	22,57 ± 8,88	13,75 ± 27,09	15,86 ± 26,33	41,57 ± 15,69
¹ Depósito de gordura epididimal (g)	3,87 (3,58-5,10)	4,58 (4,04-5,75)	5,06 (4,16-6,67)	4,97 (4,45-5,41)	4,17 (3,23-6,15)
¹ Depósito de gordura epididimal (%)	1,07 (0,96-1,39)	1,26 (1,17-1,59)	1,34 (1,12-1,69)	1,23 (1,11-1,37)	0,98 (0,83-1,55)
¹ Peso do músculo sóleo (g)	0,16 (0,16-0,20)	0,18 (0,16-0,21)	0,20 (0,16-0,21)	0,18 (0,17-0,18)	0,20 (0,18-0,24)
Peso relativo do músculo sóleo (%)	0,048 ± 0,0047	0,052 ± 0,0063	0,050 ± 0,0048	0,048 ± 0,0047	0,052 ± 0,0092
¹ Peso do músculo gastrocnêmio (g)	2,33 (2,31-2,38)	2,26 (2,16-2,26)	2,23 (2,17-2,38)	2,41 (2,22-2,61)	2,46 (2,35-2,62)
Peso relativo do músculo gastrocnêmio (%)	0,64 ± 0,024	0,62 ± 0,031	0,58 ± 0,045*	0,62 ± 0,027	0,60 ± 0,045

* $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle (CO); Kruskal-Wallis e teste de Dunn.¹ Dados expressos em mediana (25 para 75 quartis);

5.3.2 Inflamação e Lesão Muscular

Vinte e quatro horas após o teste de exaustão, não foi observada diferença significativa nos valores de leucócitos totais, linfócitos, neutrófilos, creatina quinase e proteína C reativa entre nenhum dos grupos estudados (Tabela 3).

Tabela 3 – Contagem de leucócitos, níveis sanguíneos de creatina quinase (CK) e proteína C reativa (PCR) após 24 horas do exercício.

	CO (n=6)	CE (n=7)	RP (n=8)	CRIO (n=7)	LED (n=7)
¹ Leucócitos (cels/mm ³)	6950 (5600-8375)	6850 (5525-8800)	6100 (5200-8150)	7600 (5100-8275)	7300 (7300-8300)
Linfócitos (cels/mm ³)	5211±1927	4466±1495	4604±1339	5284±1457	4482±1035
Neutrófilos (cels/mm ³)	1520±384	2334±1376	2076±750	1749±794	2715±700
¹ CK (units/L)	492 (237-1168)	590 (223-1119)	465 (269-1256)	354 (247-756)	792 (320-1596)
¹ PCR (mg/ml)	4,4 (1-20)	9,0 (7-21)	3,5 (2-7)	4,0 (3-20)	4,0 (2-10)

ANOVA e teste de Tukey. ¹Dados expressos em mediana (25 para 75 quartis); Kruskal-Wallis e teste de Dunn.

A análise microscópica do músculo sóleo mostrou que o grupo CE apresentou a maior frequência de áreas de necrose comparado com o grupo controle, enquanto que no grupo submetido à recuperação passiva foi encontrada a maior frequência de áreas com edema, inflamação e células inflamatórias. Entre os grupos submetidos ao teste de exaustão, o grupo que recebeu a LEDterapia apresentou menor quantidade de campos com edema e inflamação, porém a crioterapia também foi eficaz na redução do edema e da inflamação quando comparado com o grupo RP (Tabela 4).

No músculo gastrocnêmio, o grupo CE também foi o que apresentou a maior frequência de necrose, seguido pelos grupos RP, LED e por último a CRIO, demonstrando que a crioterapia foi o melhor método para reduzir a morte das células musculares quando desafiado pelo exercício. O grupo RP foi o que mostrou a maior quantidade de campos com edema e inflamação, enquanto no grupo LED foi encontrada a menor frequência de áreas edemaciadas e inflamadas em comparação com os grupos submetidos ao teste de exaustão (Tabela 5).

Tabela 4 – Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica do músculo sóleo

Parâmetros das áreas	CO (n=6)	CE (n=7)	RP (n=8)	CRIO (n=7)	LED (n=7)
Necrose (%)	0,01	3,63**	0,28**¥¥	0,17*¥¥	0,34**¥¥
Edema (%)	5,71	21,16**	26,26**¥¥	14,62**¥¥‡‡	13,87**¥¥‡‡
Inflamação (%)	3,42	9,31**	15,66**¥¥	10,21**‡‡	7,71**¥¥‡‡‡‡
¹ Contagem das células inflamatórias (cels.mm ⁻²)	10,0 (6-25)	40,0 (20-84)**	51,5 (27-83)**	29,0 (18-49)**‡	33,5 (17-61)**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ em comparação com o grupo controle (CO); ¥ $p < 0.05$, ¥¥ $p < 0.005$ em comparação com o grupo controle com teste de exaustão (CE); ‡ $p < 0.05$, ‡‡ $p < 0.005$ em comparação com o grupo de recuperação passiva (RP); † $p < 0.05$, †† $p < 0.005$ em comparação com o grupo da crioterapia (CRIO); Teste Qui-quadrado.

¹Dados expressos em mediana (25 para 75 quartis); Kruskal-Wallis e teste de Dunn.

Tabela 5 – Frequência de áreas com necrose, edema e inflamação de acordo com a análise histológica do músculo gastrocnêmio

Parâmetros das áreas	CO (n=6)	CE (n=7)	RP (n=8)	CRIO (n=7)	LED (n=7)
Necrose (%)	0	1,67**	1,09**¥¥	0,45**¥¥‡‡	0,99**¥¥‡‡
Edema (%)	2,61	8,65**	21,76**¥¥	6,85**¥¥‡‡	5,76**¥¥‡‡‡‡
Inflamação (%)	0,87	3,36**	8,76**¥¥	3,89**‡‡	2,84**‡‡‡‡
¹ Contagem das células inflamatórias (cels.mm ⁻²)	6,0 (4-14)	14,0 (8-25)**	28,0 (16-49)**¥	12,0 (6-18)‡‡	14,5 (7-29)‡‡

* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ em comparação com o grupo controle (CO); ¥ $p < 0.05$, ¥¥ $p < 0.005$ em comparação com o grupo controle com teste de exaustão (CE); ‡ $p < 0.05$, ‡‡ $p < 0.005$ em comparação com o grupo de recuperação passiva (RP); † $p < 0.05$, †† $p < 0.005$ em comparação com o grupo da crioterapia (CRIO); Teste Qui-quadrado.

¹Dados expressos em mediana (25 para 75 quartis); Kruskal-Wallis e teste de Dunn.

5.3.3 Desempenho na Natação

O teste de natação até a exaustão não demonstrou diferenças significativas entre os grupos CE (151,1 ± 71,9 minutos), RP (156,6 ± 48,47 minutos), CRIO (156,4 ± 34,25 minutos) e LED (151,1 ± 109,5 minutos).

5.4 DISCUSSÃO

As adaptações decorrentes do treinamento são caracterizadas por alterações graduais das proteínas contráteis, função mitocondrial, regulação metabólica, sinalização intracelular e respostas dos fatores de transcrição, que alteram o teor de proteínas e a atividade enzimática do músculo esquelético (Egan et al., 2012). No entanto, altas cargas de treinamento podem provocar lesões e dores musculares de início tardio, devido ao acúmulo de ácido láctico, espasmos musculares, danos do tecido conjuntivo, inflamação, efluxo enzimático dentre outros mecanismos que podem comprometer o rendimento esportivo (Cheung et al., 2003).

O presente estudo mostrou que a carga de treinamento imposta aos animais não foi suficiente para provocar melhora no desempenho na natação. Da Costa Santos et al. (2011) testaram a mesma progressão de carga e dias de treinamento utilizado neste estudo, porém com trinta centímetros de profundidade, na inflamação, necrose, diâmetro das fibras do músculo sóleo de ratos Wistar, além dos valores de creatina quinase e lactato sérico. Os valores de lactato caracterizaram o protocolo de exercício como de baixa intensidade, no entanto o treinamento foi eficaz na redução dos marcadores inflamatórios e degeneração muscular, porém sem alteração significativa no diâmetro das fibras musculares. A alteração do protocolo deste estudo, aumentando a profundidade e acrescentando o teste de exaustão, foi com o objetivo de aumentar a intensidade do exercício para provocar maior adaptação e avaliar o desempenho após o treinamento. Entretanto, os resultados encontrados demonstram que a carga imposta durante o exercício não foi suficiente para melhorar a aptidão aeróbia. A grande quantidade de campos com edema e células inflamatórias no grupo treinado que realizou a recuperação passiva, sugere que o protocolo de exercício aplicado pode ter sido extenuante e isso pode ter provocado sintomas do *overreaching* nos animais. Outra hipótese seria, que as 72 horas de descanso pré-teste de exaustão, podem ter sido insuficientes para a recuperação total dos animais e o conseqüente efeito de supercompensação, entretanto, para comprovar essa hipótese seria necessário outro estudo analisando a quantidade de lesões musculares pré-teste de exaustão, o que não foi possível realizar no presente trabalho.

O breve período de queda do rendimento após o estresse causado pelo exercício, é conhecido como *overreaching funcional* e se caracteriza por

sintomas físicos, bioquímicos e emocionais que são compensados com um período de recuperação adequado (Meeusen et al., 2013). No entanto, quando não há recuperação adequada, os distúrbios físicos e emocionais podem se tornar prolongados, causando queda do desempenho por longos períodos, evoluindo assim para o *overreaching* não-funcional e a síndrome do *overtraining* (Kreher et al. 2012; Meeusen et al. 2013). Assim, os métodos de recuperação têm sido aplicados após o exercício físico, com o objetivo de reduzir os marcadores inflamatórios, acelerar o processo de regeneração muscular, reduzindo os sintomas dolorosos e os riscos da síndrome de *overtraining* (Ingram et al., 2009; Ascensão et al., 2011). Porém, os métodos de recuperação utilizados neste estudo e aplicados após a sessão de treinamento, também não demonstraram eficácia na melhora do desempenho no teste de natação. Ainda assim, o uso diário da crioterapia e da fototerapia após as sessões de treinamento, mostrou resultados favoráveis para a prevenção da necrose, edema e processo inflamatório dos músculos gastrocnêmio e sóleo.

A aplicação sucessiva da crioterapia após o treinamento poderia inibir algumas adaptações do organismo, pois os ajustes moleculares e humorais induzidos pelo exercício, incluindo a hiperemia muscular, são necessários para a regeneração das fibras musculares, hipertrofia e melhor irrigação sanguínea (Chargé et al., 2003). Reduzindo a temperatura, diminui-se também o fluxo sanguíneo e o processo inflamatório fisiológico em resposta ao treinamento, atenuando assim os efeitos provocados pelo exercício (Yamane et al., 2006). Porém, não foi observada adaptação reduzida dos animais estudados, demonstrando a eficácia da crioterapia na redução da inflamação, sem alterar negativamente o rendimento físico. Halson et al. (2014) avaliaram a aplicação pós-exercício da imersão em água fria (15°C por 15 minutos), quatro vezes por semana, durante 39 dias de treinamento em ciclistas, e mostraram que o grupo submetido a crioterapia obteve valores maiores de potência média e de pico de potência quando comparado ao grupo controle, sem diferenças significativas no teste contra-relógio, fortalecendo a hipótese da crioterapia ser um método adequado para a manutenção do desempenho.

Alguns estudos levantaram a hipótese da fototerapia favorecer o treinamento, diminuindo as respostas inflamatórias e o estresse oxidativo pós-exercício, fornecendo maior quantidade de oxigênio para as células executarem a atividade e favorecendo os mecanismos de regeneração celular (Camargo et al., 2012; Leal Junior et al., 2011). Estudos recentes demonstraram que altas taxas de

produção de ATP pelas mitocôndrias e o controle da acidose induzida pelo exercício estão associados com a redução das perturbações metabólicas e melhoras no desempenho, enquanto a redução da respiração mitocondrial apresenta ligação com a baixa capacidade aeróbia e redução da performance (Bishop et al., 2010; Driller et al., 2013).

Patrocínio et al. (2013) analisaram o efeito da aplicação da laserterapia de baixa potência, no comprimento de onda de 808nm e irradiação de 3,3 joules, aplicada após as sessões de treinamento de força em ratos Wistar. O protocolo de treinamento foi realizado três vezes por semana, durante cinco semanas e a irradiação foi realizada no músculo tibial anterior de ambas as pernas. Seus resultados mostraram que o grupo treinado que recebeu irradiação, reduziu significativamente o nível de lactato de repouso e a depleção de glicogênio muscular quando comparado com o grupo treinado sem irradiação, além de aumentar a área de secção transversal das fibras musculares do tibial anterior em comparação ao grupo controle e treinado sem irradiação. No presente estudo, a LEDterapia foi o método mais eficaz na redução do edema e inflamação muscular, entretanto, no modelo de treinamento utilizado não foi observada alterações significativas no desempenho.

Outro fator importante a ser considerado, é que os animais testados apresentavam o efeito acumulado das sessões de treinamento, o que pode ter interferido no teste de desempenho (Hawley, 2002). O grupo RP, que apresentou os valores mais altos de inflamação e edema, poderiam já ter iniciado o teste mais lesionados e isso provocou um aumento ainda maior nesses marcadores de danos musculares. Além disso, a grande quantidade de necrose muscular encontrada no grupo CE, sugere que o treinamento, mesmo que intenso, provocou um efeito protetor no músculo estriado esquelético, sendo encontrados menores quantidades de lesões irreversíveis nos grupos treinados (Meneghel et al., 2013; Nosaka et al., 2011). Nosaka et al. (2001) investigaram a duração máxima das adaptações geradas por dois blocos de exercícios excêntricos, separados por seis, nove ou 12 meses, em estudantes do gênero masculino. Estes autores mostraram que os efeitos protetores deste exercício durou no mínimo seis meses, mas perdeu-se entre o nono e décimo segundo mês de intervalo entre os blocos de exercício, concluindo que uma única sessão de exercício foi capaz de proteger o músculo para os exercícios seguintes por longo tempo.

5.5 CONCLUSÃO

O treinamento estudado não provocou melhora no desempenho de natação em ratos Wistar. A LEDterapia e a crioterapia, em adição ao treinamento, não alteraram o desempenho no exercício de natação quando aplicados diariamente após as sessões de treinamento em relação ao grupo com recuperação passiva. No entanto, a terapia com LED e a crioterapia foram eficazes na prevenção de lesões musculares e reações inflamatórias. Mais estudos são necessários para avaliar os efeitos da aplicação sucessiva da crioterapia e da fototerapia em outras intensidades de exercícios, e em um modelo experimental que permita a observação de mudanças no desempenho decorrentes do treinamento.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que tanto a LEDterapia, quanto a crioterapia podem melhorar o desempenho quando aplicado em uma única sessão entre o intervalo do exercício, entretanto a LEDterapia parece ser o método mais eficaz para prevenir lesões musculares e reações inflamatórias.

Quando analisado a aplicação consecutiva dos métodos de recuperação, a LEDterapia continua sendo a melhor estratégia para reduzir a inflamação e o edema, entretanto a crioterapia também é eficaz no controle da inflamação e o método mais adequado para reduzir a necrose muscular. No entanto, as aplicações sucessivas de ambos os métodos estudados, não foram capazes de gerar efeitos ergogênicos.

Estudos analisando os efeitos do uso único e contínuo dos métodos de recuperação, em diferentes modalidades e intensidades de exercícios, além da aplicação em momentos distintos do treinamento, continuam sendo necessários para maiores esclarecimentos sobre a interação da crioterapia e da LEDterapia com a recuperação e as adaptações do treinamento.

REFERÊNCIAS

- ALGAFLY, A. A., GEORGE, K. P. The effect of cryotherapy on nerve conduction velocity, pain threshold and pain tolerance. **Br J Sports Med**, v. 41, n. 6, p. 365-369, 2007.
- ASCENSÃO, A., LEITE, M., REBELO, A. N., MAGALHÃES, S., MAGALHÃES, J. Effects of cold water immersion on the recovery of physical performance and muscle damage following a one-off soccer match. **Journal of Sports Sciences**, v. 29, n. 3, p. 217-225, 2011.
- ASSIS, L., MORETTI, A. I. S., ABRAHÃO, T. B., DE SOUZA, H. P., HAMBLIM, M. R., PARIZOTTO, N. A. Low-level laser therapy (808 nm) contributes to muscle regeneration and prevents fibrosis in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. **Lasers Med Sci**, 2012a.
- ASSIS, L., MORETTI, A. I. S., ABRAHÃO, T. B., CURY, V., DE SOUZA, H. P., HAMBLIM, M. R., PARIZOTTO, N. A. Low-Level Laser Therapy (808 nm) Reduces Inflammatory Response and Oxidative Stress in Rat Tibialis Anterior Muscle After Cryolesion. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 44, p. 726–735, 2012b.
- BANGSBO, J., IAIA, F.M., KRUSTRUP, P. Metabolic response and fatigue in soccer. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 2, n. 2, p. 111-127, 2007.
- BANGSBO, J., IAIA, F. M., KRUSTRUP, P. The Yo-Yo intermittent recovery test : a useful tool for evaluation of physical performance in intermittent sports. **Sports Med**, v. 38, p. 37-51, 2008.
- BAILEY, D. M, ERITH, S. J., GRIFFIN, P. J., DOWSON, A., BREWER, D. S., GANT, N., WILLIAMS, C. Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. **J Sports Sci**, v. 25, n. 11, p. 1163-1170, 2007.
- BARNETT, A. Using Recovery Modalities between Training Sessions in Elite Athletes Does it Help? **Sports Med**, v. 36, n. 9, p. 781-796, 2006.
- BAROLET, D. Light-Emitting Diodes (LEDs) in Dermatology. **Semin Cutan Med Surg**, v. 27, n.1, p. 227-238, 2008.
- BARONI, B. M., LEAL JUNIOR, E. C. P., MARCHI, T., LOPES, A. L., SALVADOR, M., VAZ, M. A. Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. **Eur J Appl Physiol**, v. 110, p. 789–796, 2010.
- BASSETT JR, D. R., HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 32, p. 70–84, 2000.
- BASTOS, F. N., VANDERLEI, L. C. M., NAKAMURA, F. Y., BERTOLLO, M., GODOY, M. F., HOSHI, R. A., JUNIOR, J. N., PASTRE, C. M. Effects of Cold Water Immersion and Active Recovery on Post-Exercise Heart Rate Variability. **Int J Sports Med**, v. 33, 1–7, 2012.

- BISHOP, D.J., THOMAS, C., MOORE-MORRIS, T., TONKONOJI, M., SAHLIN, K., MERCIER, J. Sodium bicarbonate ingestion prior to training improves mitochondrial adaptations in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 299, n.1, p. 225–233, 2010.
- BLEAKLEY, C., MCDONOUGH, S., GARDNER, E., BAXTER, G. D., HOPKINS, J. T., DAVISON, G. W. Cold-water immersion (cryotherapy) for preventing and treating muscle soreness after exercise. **Cochrane Database Syst**, Rev 2:CD008262, 2012.
- BARNETT, Anthony. Using Recovery Modalities between Training Sessions in Elite Athletes Does it Help? **Sports Med**, v. 36, n.9, p. 781-796, 2012.
- BORSA, Paul A., LARKIN, Kelly A., TRUE, Jerry M. Does Phototherapy Enhance Skeletal Muscle Contractile Function and Postexercise Recovery? A Systematic Review. **Journal of Athletic Training**, v. 48, p.57–67, 2013.
- BOUCHARD, C., SARZYNSKI, M.A., RICE, T.K., KRAUS, W.E., CHURCH, T.S., SUNG, Y.J., RAO, D.C., RANKINEN, T. Genomic predictors of the maximal O₂ uptake response to standardized exercise training programs. **J Appl Physiol**, v. 110, p. 1160–1170, 2011.
- BRUNELLI, R. M., RODRIGUES, N. C., RIBEIRO, D. A., FERNANDES, K., MAGRI, A., ASSIS, L., PARIZOTTO, N. A., CLIQUET JR., A., RENNO, A. C. M., ABREU, D. C. C. The effects of 780-nm low-level laser therapy on muscle healing process after cryolesion. **Lasers Med Sci**, 2013.
- BUCHHEIT, M., PEIFFER, J. J., ABBISS, C. R., LAURSEN, PB. Effect of cold water immersion on postexercise parasympathetic reactivation. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 296, n. 2, p. 421-427, 2009.
- CAMARGO, M.Z., SIQUEIRA, C.P., PRETI, M.C., NAKAMURA, F.Y., DE LIMA, F.M., DIAS, I.F., TOGINHO FILHO, D. O., RAMOS, S. P. Effects of light emitting diode (LED) therapy and cold water immersion therapy on exercise-induced muscle damage in rats. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 5, p. 1051-1058, 2012.
- CARMO-ARAÚJO, E. M., DAL-PAI-SILVA, M., DAL-PAI, V., CECCHINI, R., FERREIRA, A. L. A. Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: morphological and histochemical studies. **Int. J. Exp. Path.**, v. 88, p. 147–154, 2007.
- CARVALHO, R. L. P., LEAL JUNIOR, E. C. P., PETRLLIS, M. C., MARCOS, R. L., DE CARVALHO, M. H. C., DE NUCCI, G., LOPES-MARTINS, R. A. B. Effects of Low-Level Laser Therapy (LLLT) and Diclofenac (Topical and Intramuscular) as Single and Combined Therapy in Experimental Model of Controlled Muscle Strain in Rats. **Photochemistry and Photobiology**, v. 89, p. 508–512, 2013.
- CHARGÉ, Sophie B. P., RUDNICKI, Michael A. Cellular and Molecular Regulation of Muscle Regeneration. **Physiol Rev**, v. 84, p. 209–238, 2004.
- CHELLY, M.S., HERMASSI, S., AOUADI, R., KHALIFA, R., VAN DEN TILLAAE, R., CHAMARI, K., SHEPHARD, R.J. Match analysis of elite adolescent team handball players. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 9, p. 2410-2417, 2011.

- CHEUNG, K., HUME, P. A., MAXWELL, L. Delayed Onset Muscle Soreness - Treatment Strategies and Performance Factors. **Sports Med**, v. 33, n. 2, p. 145-164, 2003.
- CROWLEY, G. C., GARG, A., LOHN, M. S., VAN SOMEREN, N., WADE, A. J. Effects of cooling the legs on performance in a standard Wingate anaerobic power test. **Br J Sports Med**, v. 25, n. 4, p. 200-203, 1991.
- DA COSTA SANTOS, V. B., RUIZ, R. J., VETTORATO, E. D., NAKAMURA, F. Y., JULIANI, L. C., POLITO, M. D., SIQUEIRA, C. P. C. M., DE PAULA RAMOS, S. Effects of chronic caffeine intake and low-intensity exercise on skeletal muscle of Wistar rats. **Exp Physiol**, v. 96, n.11, p. 1228–1238, 2011.
- DA COSTA SANTOS, V. B., DE PAULA RAMOS, S., MILANEZ, V. F., CORRÊA, J. C. M., ALVES, R. I. A., DIAS, I. F. L., NAKAMURA, F. Y.. LED therapy or cryotherapy between exercise intervals in Wistar rats: anti-inflammatory and ergogenic effects. **Lasers Med Sci**, 2013.
- DAWSON, C. A., HORVATH, S. M. Swimming in small laboratory animals. **Med Sci Sports**, v. 2, n. 2, p. 51-78, 1970.
- DE ALMEIDA, P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., TOMAZONI, S. S., ALBUQUERQUE-PONTES, G. M., SANTOS, L. A., VANIN, A. A., FRIGO, L., VIEIRA, R. P., ALBERTINI, R., CARVALHO, P. T. C., LEAL JUNIOR, E. C. P. Low-Level Laser Therapy and Sodium Diclofenac in Acute Inflammatory Response Induced by Skeletal Muscle Trauma: Effects in Muscle Morphology and mRNA Gene Expression of Inflammatory Markers. **Photochemistry and Photobiology**, v.89, p. 501–507, 2013.
- DE ALMEIDA, P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., DE MARCHI, T., TOMAZONI, S. S., ALBERTINI, R. A., CORRÊA, J. C. F., ROSSI, R. P., MACHADO, G. P., DA SILVA, D. P., BJORDAL, J. M., LEAL JUNIOR, E. C. P. Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? **Lasers Med Sci**, v. 27, p. 453–458, 2012.
- DE ALMEIDA, P., LOPES-MARTINS, R.A, TOMAZONI, S.S, SILVA, J. A., DE CARVALHO P. T., BJORDAL, J. M., LEAL JUNIOR, E.C. Low-level laser therapy improves skeletal muscle performance, decreases skeletal muscle damage and modulates mRNA expression of COX-1 and COX-2 in a dose-dependent manner. **Photochem Photobiol**, v. 87, n. 5, p. 1159-1163, 2011.
- DE MARCHI, T., LEAL JUNIOR, E. C. P., BORTOLI, C., TOMAZONI, S. S., LOPES-MARTINS, R. Á. B., SALVADOR, M. Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. **Lasers Med Sci**, v. 27, 231–236, 2012
- DENIS, R., O'BRIEN, C., DELAHUNT, E. The effects of light emitting diode therapy following high intensity exercise. **Physical Therapy in Sport**, v.14, p. 110 – 115, 2013.
- DRILLER, M. W., GREGORY, J. R., WILLIAMS, A. D., FELL, J. W.. The Effects of Chronic Sodium Bicarbonate Ingestion and Interval Training in Highly Trained

Rowers. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 23, p. 40 – 47, 2013.

EGAN, B., ZIERATH, J. R. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. **Cell Metabolism**, v. 17, p. 162-184, 2013.

ELIAS, George P., WYCKELSMA, Victoria L., VARLEY, Matthew C., McKENNA, Michael J., AUGHEY, Robert J. Effectiveness of Water Immersion on Postmatch Recovery in Elite Professional Footballers. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 8, p. 243-253, 2013.

FANGEL, R., BOSSINI, P. S., RENNO, A. C., RIBEIRO, D. A., WANG, C. C., TOMA, R. L., NONAKA, K. O., DRIUSSO, P., PARIZOTTO, N. A., OISHIE, J. Low-level laser therapy, at 60 J/cm² associated with a Biosilicate R₂ increase in bone deposition and indentation biomechanical properties of callus in osteopenic rats. **Journal of Biomedical Optics**, v. 16, n. 7, p. 078001, 2011.

FREDSTED, A., GISSEL, H., MADSEN, K., CLAUSEN, T. Causes of excitation-induced muscle cell damage in isometric contractions: mechanical stress or calcium overload? **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. R2249–R2258, 2007.

GARCIA-MANSO, J. M., RODRIGUEZ-MATOSO, D., RODRIGUEZ-RUIZ D., SARMIENTO S., DE SAA Y., CALDERON J. Effect of cold-water immersion on skeletal muscle contractile properties in soccer players. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 90, n.5, p. 356-363, 2011.

GREGSON, W., BLACK, M. A., JONES, H., MILSON, J., MORTON, J., DAWSON, B., ATKINSON, G., GREEN, J. Influence of Cold Water Immersion on Limb and Cutaneous Blood Flow at Rest. **Am J Sports Med**, v. 39, p. 1316, 2011.

GREEN, H. J., BATADA, A., COLE, B., BURNETT, M. E., KOLLIAS, H., MCKAY, S., ROY, B., SCHERTZER, J. D., SMITH, I. C., TUPLING, S. Muscle cellular properties in the ice hockey player: a model for investigating overtraining? **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 90, p. 1–12, 2012.

HADDAD, H. A., LAURSEN, P. B., CHOLLET, D., LEMAITRE, F., AHMAIDI, S., BUCHHEIT, M. Effect of cold or thermoneutral water immersion on post-exercise heart rate recovery and heart rate variability indices. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 156, p. 111–116, 2010.

HALSON, S. L., BARTRAM, J., WEST, N., STEPHENS, J., ARGUS, C. K., DRILLER, M. W., SARGENT, C., LASTELLA, M., HOPKINS, W. G., MARTIN, D. T. Does Hydrotherapy Help or Hinder Adaptation to Training in Competitive Cyclists? **Med Sci Sports Exerc.**, 2014.

HAMBLIN, M. R., DEMIDOVA, T. N. Mechanisms of Low Level Light Therapy. **Proc. of SPIE**, v. 6140, p. 614001-1 a 614001-12, 2006.

HAWLEY, J. A. Adaptations of Skeletal Muscle to Prolonged, Intense Endurance Training. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.29, p. 218–222, 2002.

- HOWATSON, G., GOODALL, S., VAN SOMEREN, K. A. The influence of cold water immersions on adaptation following a single bout of damaging exercise. **Eur J Appl Physiol**, v.105, p. 615–621, 2009.
- HUANG, Y., CHEN, A. C.H., CARROLL, J. D., HAMBLIN, M. R. Biphasic dose response in low level light therapy. **Dose-Response**, v. 7, p. 358–383, 2009.
- INGRAM, J., DAWSON, B., GOODMAN, C., WALLMAN, K., BEILBY, J. Effect of water immersion methods on post-exercise recovery from simulated team sport exercise. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 12, p. 417–421, 2009
- JUTTE, L. S., MERRICK, M. A., INGERSOLL, C. D. EDWARDS, J. E. The relationship between intramuscular temperature, skin temperature, and adipose thickness during cryotherapy and rewarming. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 82, p. 845-50, 2001.
- KARU, T. I. Mitochondrial Signaling in Mammalian Cells Activated by Red and Near-IR Radiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, p. 1091–1099, 2008.
- KARU, T. I., KOLYAKOV, S. F. Exact Action Spectra for Cellular Responses Relevant to Phototherapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 4, p. 355-361, 2005a.
- KARU, T. I., PYATIBRAT, L. V., AFANASYEVA, N. I. Cellular Effects of Low Power Laser Therapy Can be Mediated by Nitric Oxide. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 36, p. 307–314, 2005b.
- KREHER, J. B., SCHWARTZ, J. B. Overtraining Syndrome: A Practical Guide. **Sports Health**, v. 4, n.2, p. 128-138, 2012.
- KNIGHT, K. L. **Crioterapia no Tratamento das Lesões Esportivas**. Primeira edição. São Paulo: Ed. Manole, 2000
- KINUGASA, T., KILDING, A. E. A comparison of post-match recovery strategies in youth soccer players. **J Strength Cond Res**, v. 23, n. 5, p. 1402-1407, 2009.
- KOMINE, N., IKEDA, K., TADA, K., HASHIMOTO, N., SUGIMOTO, N., TOMITA, K. Activation of the extracellular signal-regulated kinase signal pathway by light emitting diode irradiation. **Lasers Med Sci**, v. 25, n. 4, p. 531-537, 2010.
- LARAIA, E. M. S., SILVA, I. S. S., PEREIRA, D. M. P., DOS REIS, F. A., ALBERTINI, R., DE ALMEIDA, P., LEAL JUNIOR, E. C. P., DE CARVALHO, P. T. C.. Effect of Low-Level Laser Therapy (660 nm) on Acute Inflammation Induced by Tenotomy of Achilles Tendon in Rats. **Photochemistry and Photobiology**, v.88, p. 1546–1550, 2012.
- LEAL JUNIOR, E. C. P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., ROSSI, R. P., DE MARCHI, T., BARONI, B. M., GODOI, V., MARCOS, R. L., RAMOS, L., BJORDAL, J. M. 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**, v. 41, p. 572–577, 2009a.

LEAL JUNIOR, E. C. P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., BARONI, B. M., DE MARCHI, T., TAULER, D., MANFRO, D. S., RECH, M., DANNA, V. D., GROSSELLI, D., GENEROSI, R. A., 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 Med Sci**, v.24, p. 857–863, 2009b.

LEAL JUNIOR, E. C. P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., 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. 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, n. 4, p. 617-623, 2009c.

LEAL JUNIOR, E. C. P., LOPES-MARTINS, R. Á. B., DE ALMEIDA, P., RAMOS, L., IVERSEN, V. V. I., BJORDAL, J. M. 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**, v. 108, p.1083–1088, 2010a.

LEAL JUNIOR, E. C., LOPES-MARTINS, R. A., FRIGO, L., DE MARCHI, T., ROSSI, R. P., DE GODOI, V., TOMAZONI, S.S., SILVA, D. P., BASSO, M., FILHO, P.L., DE VALLS CORSETTI, F., IVERSEN, V. V., BJORDAL, J. M. Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to postexercise recovery. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 40, n. 8, p. 524-532, 2010b.

LEAL JUNIOR, E. C., DE GODOI, V., MANCALOSSI, J.L., ROSSI, R.P., DE MARCHI, T., PARENTE, M., GROSSELLI, D., GENEROSI, R. A., BASSO, M., FRIGO, L., TOMAZONI, S.S., BJORDAL, J.M., LOPES-MARTINS, R.A. Comparison between cold water immersion therapy (CWIT) and light emitting diode therapy (LEDT) in short-term skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes--preliminary results. **Lasers Med Sci**, v. 26, n. 4, p. 493-501, 2011.

LEAL-JUNIOR, E. C. P., VANIN, A. A., MIRANDA, E. F., DE CARVALHO, T. C., CORSO, S. D. C., BJORDAL, J. M.. Effect of phototherapy (low-level laser therapy and light-emitting diode therapy) on exercise performance and markers of exercise recovery: a systematic review with meta-analysis. **Lasers Med Sci**, 2013.

LEEDER, J., GISSANE, C., VAN SOMEREN, K., GREGSON, W., HOWATSON, G. Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. **Br J Sports Med**, v. 46, n. 4, p. 233-240, 2012.

MACHADO, Angelo B. M. Estrutura e Funções do Hipotálamo. In: MACHADO, Angelo B. M. **Neuroanatomia Funcional**. Segunda edição. São Paulo/ Rio de Janeiro/ Belo Horizonte: Atheneu, 1993, p. 229-235.

MEEUSEN, R., DUCLOS, M., FOSTER, C., FRY, A., GLEESON, M., NIEMAN, D., RAGLIN, J., RIETJENS, G., STEINACKER, J., URHAUSEN, A. Prevention, diagnosis and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the European College of Sport Science (ECSS) and the American College of Sports Medicine (ACSM). **European Journal of Sport Science**, v. 13, n.1, p. 1-24, 2013.

MENDEZ-VILLANUEVA, A., BUCHHEIT, M., SIMPSON, B., BOURDON, P.C. Match play intensity distribution in youth soccer. **Int J Sports Med**, v. 34, n.2, p.101-110, 2013.

MENEGHEL, A. J., CRISP, A. H., VERLENGIA, R., LOPES, C. R. Review of the Repeated Bout Effect in Trained and Untrained men. **International Journal of Sports Science**, v. 3, n. 5, p. 147-156, 2013.

MOHR, M., KRUSTRUP, P., BANGSBO, J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. **J Sports Sci**, v. 21, n.7, p. 519-528, 2003.

MUJIKKA, I. Intense training: the key to optimal performance before and during the taper. **Scand J Med Sci Sports**, v. 20, n. 2, p. 24–31, 2010.

NEMET, D., MECKEL, Y., BAR-SELA, S., ZALDIVAR, F., COOPER, D. M., ELIAKIM, A. Effect of local cold-pack application on systemic anabolic and inflammatory response to sprint-interval training: a prospective comparative trial. **Eur J Appl Physiol**, v. 107, p. 411–417, 2009.

NOSAKA, K., AOKI, M. S. Repeated bout effect: Research update and future perspective. **Brazilian Journal of Biomotricity**, v. 5, n. 1, p. 5-15, 2011.

NOSAKA, K., SAKAMOTO, K., NEWTON, M., SACCO, P. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 33, n. 9, p. 1490–1495, 2001.

PAOLILLO, F. R., MILAN, J. C., ANICETO, I. V., BARRETO, S. G., REBELATTO, J. R., BORGHI-SILVA, A., PARIZOTTO, N. A, KURACHI, C., BAGNATO, V. S. Effects of infrared-LED illumination applied during high-intensity treadmill training in postmenopausal women. **Photomed Laser Surg**, v. 29, n.9, p. 639-645, 2011.

PATROCINIO, T., SARDIM, A. C., ASSIS, L., FERNANDES, K. R., RODRIGUES, N., RENNO, A. C. M.. Effect of Low-Level Laser Therapy (808 nm) in Skeletal Muscle After Resistance Exercise Training in Rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 31, n.10, 2013.

PEIFFER, J. J, ABBISS, C. R., NOSAKA, K., PEAKE, J. M., LAURSEN, P. B. Effect of cold water immersion after exercise in the heat on muscle function, body temperatures, and vessel diameter. **J Sci Med Sport**, v. 12, n.1, p. 91-96, 2009.

PEREIRA, B. C., PAULI, J. R., ANTUNES, L. M. G., DE FREITAS, E. C., DE ALMEIDA, M. R., VENÂNCIO, V. P., ROPELLE, E. R., DE SOUZA, C. T., CINTRA, D. E., PAPOTI, M., DA SILVA, A. S. R. Overtraining is associated with DNA damage in blood and skeletal muscle cells of Swiss mice. **BMC Physiology**, v.13, n.11, 2013.

POURNOT, H., BIEUZEN, F., DUFFIELD, R., LEPRETRE, P. M., COZZOLINO, C., HAUSSWIRTH, C. Short term effects of various water immersions on recovery from exhaustive intermittent exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 7, p. 1287-1295, 2011.

POWERS, S. K., HOWLEY, E. T. Bioenergética. **Fisiologia do Exercício: Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. Terceira edição. São Paulo: Manole, 2000, p. 21-42.

PRINDEZE, N. J., MOFFATT, L.T., SHUPP, J. W. Mechanisms of action for light therapy: a review of molecular interactions. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 237, n. 11, p. 1241-1248, 2012.

REILLY, T., DRUST, B., CLARKE, N. Muscle fatigue during football match-play. **Sports Med**, v. 38, n. 5, p. 357-367, 2008.

ROWSELL, G. J., COUTTS, A. J., REABURN, P., HILL-HAAS, S. Effects of cold-water immersion on physical performance between successive matches in high-performance junior male soccer players. **J Sports Sci**, v. 27, n. 6, p. 565-573, 2009.

RUPP, K. A, SELKOW, N. M., PARENTE, W. R., INGERSOLL, C. D, WELTMAN, A. L., SALIBA, S. A. The effect of cold water immersion on 48-hour performance testing in collegiate soccer players. **J Strength Cond Res**, v. 26, n. 8, p. 2043-2050, 2012.

SHASER, K. D., DISCH, A. C., STOVER, J. F., LAUFFER, A., BAIL, H. J., MITTLMEIER, T. Prolonged Superficial Local Cryotherapy Attenuates Microcirculatory Impairment, Regional Inflammation, and Muscle Necrosis After Closed Soft Tissue Injury in Rats. **Am. J. Sports Med**, v. 35, p. 93, 2007.

STANLEY, J., BUCHHEIT, M., PEAKE, J. M. The effect of post-exercise hydrotherapy on subsequent exercise performance and heart rate variability. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n.3, p. 951-961, 2012.

SILVEIRA, P. C, SILVA, L. A, FRAGA, D.B, FREITAS, T. P, STRECK, E. L, PINHO, R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. **J Photochem Photobiol B**, v. 95, n. 2, p. 89-92, 2009.

TOMCHUK, D., RUBLEY, M. D., HOLCOMB, W. R., GUADAGNOLI, M., TARNO, J. M. The Magnitude of Tissue Cooling During Cryotherapy With Varied Types of Compression. **Journal of Athletic Training**, v. 45, n. 3, p. 230-237, 2010.

TORTORA, G. J., GRABOWSKI, S. R. Tecido nervoso. In: TORTORA, Gerard J. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. Nona edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 347-372.

VIEIRA, W.H., FERRARESI, C., PEREZ, S.E., BALDISSERA, V., PARIZOTTO, N. A. Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 2, p. 497-504, 2012.

XIAO, W., CHEN, P., DONG, J. Effects of Overtraining on Skeletal Muscle Growth and Gene Expression. **Int J Sports Med**, 2012.

WHITE, G. E., WELLS, G. D. Cold-water immersion and other forms of cryotherapy: physiological changes potentially affecting recovery from high-intensity exercise. **Extreme Physiology & Medicine**, v. 26, n. 2, p. 2-11, 2013.

WILCOCK, I. M., CRONIN, J. B., HING, W. A. Physiological Response to Water Immersion: A Method for Sport Recovery? **Sports Med**, v. 36, n. 9, p. 747-765, 2006.

WONG-RILEY, M. T., LIANG, H. L., EELLS, J. T., CHANCE, B., HENRY, M. M., BUCHMANN, E., KANE, M., WHELAN, H. T. Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome c oxidase. **J Biol Chem**, v. 280, n. 6, p. 4761-4771, 2005.

YAMANE, M., TERUYA, H., NAKANO, M., OGAI, R., OHNISHI, N., KOSAKA, M. Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation. **Eur J Appl Physiol**, v. 96, p. 572–580, 2006.