

A Fototerapia com Diodo Emissor de Luz (LEDT) Aplicada Pré-Exercício Inibe a Peroxidação Lipídica em Atletas Após Exercício de Alta Intensidade. Um Estudo Preliminar



Light Emitting Diode Therapy (LEDT) Applied Pre-Exercise Inhibits Lipid Peroxidation in Athletes After High-Intensity Exercise. A Preliminary Study

Ernesto Cesar Pinto Leal Junior^{1,2}
Bruno Manfredini Baroni³
Rafael Paolo Rossi⁴
Vanessa de Godoi⁴
Thiago De Marchi^{5,6}
Shaiane Silva Tomazoni⁴
Patrícia de Almeida^{2,4}
Mirian Salvador⁵
Douglas Grosselli⁶
Rafael Abeche Generosi³
Maira Basso⁶
José Luis Mancalessi⁶
Rodrigo Álvaro Brandão
Lopes-Martins^{1,2,4}

1. Centro de Pesquisa e Inovação em Laser, Universidade Nove de Julho (Uninove), São Paulo, SP – Brasil.
2. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Universidade Nove de Julho (Uninove), São Paulo, SP – Brasil.
3. Laboratório de Pesquisa em Exercício, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS – Brasil.
4. Laboratório de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP – Brasil.
5. Laboratório de Estresse Oxidativo, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS – Brasil.
6. Laboratório do Movimento Humano (LMH), Instituto de Medicina do Esporte (IME), Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS – Brasil.

Endereço para correspondência:

Centro de Pesquisa e Inovação em Laser. Universidade Nove de Julho – Uninove – Rua Vergueiro, 235 – 01504-001 – São Paulo, SP – Brasil
E-mail: ernesto.leal.junior@gmail.com

RESUMO

Estresse oxidativo é o termo geralmente utilizado para descrever os danos causados pelo desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes no organismo. O aumento no consumo de O₂ induzido pelo exercício físico está associado ao aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) sendo estas indutoras do estresse oxidativo. Embora as evidências indiquem um provável efeito inibitório da fototerapia com diodos emissores de luz (LEDT) sobre a produção das EROs, não existem estudos observando tal efeito em atletas. Este estudo preliminar destina-se a verificar os efeitos da aplicação de LEDT previamente ao exercício de alta intensidade sobre a peroxidação lipídica, mensurada através dos níveis sanguíneos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Todos os seis atletas de voleibol do sexo masculino foram submetidos às duas situações: aplicação de LEDT efetiva e aplicação de LEDT placebo. O desempenho no protocolo de exercício adotado não revelou diferença ($p > 0,05$) entre as duas situações nas variáveis potência pico, potência média e índice de fadiga. Os resultados relacionados com a peroxidação lipídica foram: na situação LEDT efetiva, não foi possível observar diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os níveis pré e pós-exercício ($6,98 \pm 0,81$ e $7,02 \pm 0,47$ nmol/mL); na situação LEDT (LBP) placebo, houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,05$) entre os valores pré e pós-exercício ($7,09 \pm 1,28$ e $8,43 \pm 0,71$ nmol/mL). Tais resultados demonstram que a aplicação efetiva de LEDT parece ser eficaz no controle da peroxidação lipídica em atletas submetidos a exercício intenso.

Palavras-chave: fototerapia, peroxidação lipídica, esporte.

ABSTRACT

Oxidative stress is the term generally used to describe the damage caused by imbalance between pro-oxidants and antioxidants in the organism. The increase in the O₂ consumption induced by physical exercise is associated with the increase of reactive oxygen species (ROS) being these species inducers of oxidative stress. Although the evidence indicates a probable inhibitory effect of the light emitting diode therapy (LEDT) on the production of ROS, there are no studies observing this effect in humans. This preliminary study has the aim to verify the effects of LEDT applied before high-intensity exercise on lipid peroxidation, measured through blood levels of reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS). Six male volleyball athletes were submitted to two situations: active LEDT and placebo LEDT. Performance in the exercise protocol showed no difference ($p > 0.05$) between the two situations in peak power, average power and fatigue index. The results related to lipid peroxidation were: at active LEDT situation, it was not possible to observe statistically significant difference ($p > 0.05$) between pre and post exercise levels (6.98 ± 0.81 and 7.02 ± 0.47 nmol/mL); at placebo LEDT situation, statistically significant difference ($p = 0.05$) was observed between pre and post exercise levels (7.09 ± 1.28 and 8.43 ± 0.71 nmol/mL). These results show that active LEDT seems to be effective in controlling lipid peroxidation in athletes submitted to intense exercise.

Keywords: phototherapy, lipid peroxidation, sport

INTRODUÇÃO

Estresse oxidativo é o termo geralmente utilizado para descrever os danos causados pelo desequilíbrio entre pró-oxidantes e as defesas antioxidantes. Isso pode ocorrer tanto por um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) como por uma diminuição da capacidade de defesa antioxidante celular. Estes danos incluem o aumento dos níveis de peroxidação lipídica (oxidação da camada lipídica da membrana celular), aumento na carbonilação de proteínas e até mesmo danos no DNA intracelular, o que afeta o metabolismo intracelular e pode causar apoptose (morte da célula)⁽¹⁻⁴⁾.

O exercício físico promove um aumento na demanda energética de até 35 vezes em relação ao repouso⁽⁵⁾. Sabendo que cerca de 2% a 5% do O₂ consumido origina EROS na mitocôndria^(2,6), o aumento no consumo de O₂ induzido pelo exercício físico está associado ao aumento das EROS sendo estas indutoras do estresse oxidativo. Dillard *et al.*⁽⁷⁾ foram os primeiros a demonstrar que o exercício físico induz ao aumento da peroxidação lipídica. Após 1982, quando Davies *et al.*⁽⁸⁾ demonstraram o dano oxidativo causado pelo exercício exaustivo, um número considerável de evidências experimentais tem surgido indicando uma relação causa-efeito entre estresse oxidativo e fadiga muscular⁽⁹⁾. No entanto, ainda não foi estabelecido se a peroxidação lipídica é a causa ou consequência do dano tecidual causado pelo exercício⁽¹⁾.

Alguns autores acreditam que o estresse oxidativo pode ser prejudicial ao desempenho esportivo^(9,10), embora ainda exista uma lacuna de evidências que suportem tal hipótese. Estudos realizados em animais e em fibras isoladas indicam que o aumento das EROS induzida por fontes exógenas podem prejudicar a *performance* muscular⁽¹¹⁾. No entanto, alguns autores sugerem que o principal efeito do estresse oxidativo ocorre a longo prazo, na indução do *overreaching*, um desequilíbrio metabólico relacionado com o estado inicial de *overtraining*^(12,13). Embora a suplementação de antioxidantes tenha se mostrado eficaz na redução do estresse oxidativo induzido pelo exercício físico em humanos⁽¹⁴⁾, não há um corpo de evidências que suportem que o desempenho esportivo melhora como resposta a um menor nível de estresse oxidativo⁽¹⁵⁾.

Em um estudo recente envolvendo a estimulação elétrica em cultura de células musculares de ratos, Xu *et al.*⁽¹⁶⁾ verificaram que o tratamento com fototerapia diminuiu significativamente a produção das EROS e restaurou a função mitocondrial. Os autores sugerem que a fototerapia é uma terapia inovadora e não invasiva no tratamento da fadiga muscular induzida pelo exercício, lesão tecidual e outros processos em que a função mitocondrial tenha papel chave. A fototerapia também já demonstrou eficácia na prevenção do estresse oxidativo após lesão muscular induzida por trauma mecânico em modelo animal^(17,18). No estudo pioneiro sobre a fototerapia e fadiga muscular, Lopes-Martins *et al.*⁽¹⁹⁾ observaram o efeito protetor da fototerapia sobre o dano muscular em ratos submetidos a um protocolo de contrações musculares geradas através de estimulação elétrica. Em seres humanos, Leal Junior *et al.*^(20,21) demonstraram que a fototerapia utilizando laserterapia de baixa potência (LBP) pode ter efeitos positivos na atenuação da fadiga muscular e na recuperação muscular pós-exercício⁽²²⁾ quando a terapia é aplicada anteriormente à realização do exercício. Além disso, Leal Junior *et al.*^(23,24) também observaram que a fototerapia com diodo emissor de luz (LEDT) possui efeitos semelhantes à LBP na atenuação da fadiga muscular e melhora da recuperação pós-exercício.

Embora as evidências indiquem um provável efeito inibitório da fototerapia sobre a produção das EROS e, conseqüentemente, um efeito protetor contra o estresse oxidativo, até o momento não existem estudos observando tal possibilidade em atletas. Portanto, este estudo preliminar destina-se a verificar o efeito da LEDT sobre a peroxidação

lipídica, mensurada através dos níveis sanguíneos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em atletas submetidos a um protocolo de exercício de alta intensidade.

METODOLOGIA

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, duplo-cego e cruzado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Vale do Paraíba e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os voluntários foram recrutados entre jovens atletas de voleibol do sexo masculino (n = 6) participantes da equipe juvenil da Universidade de Caxias do Sul, adotando-se os seguintes critérios de exclusão: idade abaixo de 17 anos; tempo de prática inferior a cinco anos; qualquer lesão musculoesquelética prévia na região do quadril, joelho ou tornozelo; participação inferior a 80% das atividades da equipe; jogadores utilizando quaisquer tipos de suplementos nutricionais ou agentes farmacológicos.

Todos os atletas compareceram duas vezes ao laboratório, sendo submetidos a duas situações: aplicação efetiva de LEDT e aplicação placebo de LEDT. Em ambas as sessões, seguiu-se o seguinte protocolo: inicialmente, ocorreu a coleta sanguínea basal do atleta; em seguida, um protocolo de alongamento muscular padronizado; a seguir, aplicação efetiva ou placebo de LEDT, de acordo com a randomização prévia; três minutos após o término da aplicação de LEDT foi iniciado o protocolo indutor de fadiga muscular (PIFM); três minutos após o término do PIFM, uma nova amostra sanguínea foi coletada, finalizando o protocolo. Maiores detalhes sobre os procedimentos utilizados são apresentados nas sessões a seguir.

Randomização

A aplicação da LEDT foi definida através de uma randomização em que os sujeitos foram separados em dois grupos (A e B) que determinou a ordem de aplicação das modalidades de LEDT. Para os integrantes do grupo A, na primeira sessão foi realizada a aplicação LEDT efetiva e, na segunda sessão, a aplicação placebo da LEDT. Para os integrantes do grupo B, na primeira sessão foi realizada a aplicação placebo da LEDT e, na segunda sessão, a aplicação de LEDT efetiva. A randomização ficou toda sob responsabilidade de um técnico que também recebeu a incumbência de programar o equipamento de LEDT, pelo qual o mesmo determinava os tipos de aplicação (efetiva ou placebo) para cada atleta, conforme randomização prévia. Este técnico também foi instruído a não comunicar o tipo de tratamento utilizado para o pesquisador responsável pela aplicação da LEDT, para os voluntários e para os pesquisadores responsáveis pela execução do PIFM e pelas coletas e análises sanguíneas.

Período de avaliação

Os procedimentos ocorreram de maneira exatamente igual nas duas sessões de exercício, que ocorreram com intervalo de uma semana entre si, em um mesmo dia da semana (segunda-feira), no mesmo período do dia (entre 18:30h e 21:30h), sendo vetada qualquer atividade física de alta intensidade durante os finais de semana anteriores aos testes. Dentre os cuidados que foram tomados para a obtenção da padronização na execução do protocolo de exercício, cita-se a realização dos exercícios aproximadamente na mesma hora do dia (para controle de ritmo circadiano), além das recomendações aos atletas quanto ao tipo de refeição apropriada para o dia dos procedimentos e intervalo entre a última refeição e o momento da avaliação.

Protocolo de aplicação da LEDT

Em ambas as sessões de exercício (testes), os participantes receberam aplicação da LEDT (efetivo ou placebo) através de um equipamento da marca THOR® (Londres, Reino Unido) com um *cluster* de 34 diodos

emissores de luz (LEDs) de 660nm e 35 LEDs de 850nm também fabricado pela THOR® (Londres, Reino Unido), de acordo com o resultado da randomização. A aplicação efetiva ou placebo da LEDT foi realizada após a série de alongamentos padronizada e três minutos antes do PIFM. Tanto a aplicação efetiva quanto a aplicação placebo da LEDT foram administradas por um dos pesquisadores em ambiente isolado, na presença apenas do voluntário e do pesquisador. Uma proteção ocular (óculos opaco) foi utilizada pelos participantes, de modo que não conseguiam visualizar ou perceber se estavam recebendo aplicação efetiva ou placebo de LEDT, visto que a mesma não provoca qualquer sensação térmica ao voluntário. A terapia foi administrada na musculatura extensora de joelho dos voluntários, os pontos de aplicação foram selecionados da mesma forma que no estudo de Leal Junior *et al.*⁽²³⁾, conforme ilustrado na (figura 1).



Figura 1. Pontos usados na aplicação de LEDT (efetiva ou placebo).

A aplicação efetiva de LEDT foi realizada através do contato direto do *cluster* com a pele, posicionado de forma estacionária, com uma leve pressão, em um ângulo de 90 graus em cada um dos pontos de irradiação. Os parâmetros da LEDT efetiva são os mesmos utilizados por Leal Junior *et al.*⁽²³⁾, e estão resumidos na tabela 1. A aplicação placebo de LEDT foi realizada exatamente da mesma forma que a efetiva, porém com o equipamento no modo placebo (sem irradiação efetiva).

Tabela 1. Parâmetros para LEDT efetiva.

Número de diodos: 69 (34 diodos vermelhos e 35 diodos infravermelhos)
Comprimento de onda: 660nm (diodos vermelhos) e 850nm (diodos infravermelhos)
Frequência da LEDT: contínua
Potência de saída: 10mW (diodos vermelhos) e 30mW (diodos infravermelhos)
Tamanho do LED: 0,2cm ² (para ambos – diodos vermelhos e infravermelhos)
Densidade de potência: 0,05W/cm ² (para diodos vermelhos) e 0,15W/cm ² (para diodos infravermelhos)
Energia irradiada: 41,7 Joules em cada ponto (0,3J para cada diodo vermelho e 0,9J para cada diodo infravermelho)
Densidade de energia: 1,5 J/cm ² em cada ponto (para diodos vermelhos) e 4,5J/cm ² em cada ponto (para diodos infravermelhos)
Tempo de tratamento: 30 segundos em cada ponto
Número de pontos de irradiação por músculo: 2
Energia total transmitida por músculo: 83,4 Joules
Modo de aplicação: estacionária em contato com a pele em um ângulo de 90 graus com leve pressão

Protocolo indutor de fadiga muscular (PIFM)

O PIFM adotado (iniciado três minutos após o término da aplicação efetiva ou placebo da LEDT), foi constituído de um teste de Wingate realizado em cicloergômetro com o atleta tendo os pés fixados aos pedais e instruído a pedalar com velocidade máxima durante 30 segundos (com estímulo verbal durante todo o teste), utilizando uma carga de 7,5% de sua massa corporal. Os responsáveis pela aplicação do teste de Wingate desconheciam a modalidade recebida pelos atletas anteriormente ao início do teste (aplicação efetiva ou placebo da LEDT).

Amostras sanguíneas

Previamente a cada coleta sanguínea foi realizada limpeza antisséptica da região ventral do braço dominante do qual um profissional de enfermagem qualificado coletou 10ml de sangue (utilizando luvas, seringas e agulhas descartáveis). Cada atleta foi submetido a duas coletas em cada sessão, uma previamente ao alongamento e à aplicação de LEDT (efetivo ou placebo) e outra exatamente três minutos após o término do PIFM. O material coletado foi transferido para tubos não heparinizados e foi posteriormente centrifugado e congelado para posterior análise do nível de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Como um indicativo de peroxidação de lipídeos foi usada a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante uma reação de aquecimento do ácido, a qual é amplamente adotada como um método bastante sensível de mensuração do estresse oxidativo⁽²⁵⁾. Em suma, as amostras sanguíneas foram misturadas com o ácido tricloroacético a 10% e ao ácido tiobarbitúrico a 0,67% e, então, aquecidas em banho-maria fervente por 15 minutos. As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram determinadas pela absorvância a 535nm. Os resultados foram expressos em nmol/ml.

Análise estatística

As médias dos grupos e seus respectivos desvios padrões foram expressos nos resultados. O teste *t* pareado e bicaudal foi utilizado para verificar se houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de estresse oxidativo pré e pós-exercício para a aplicação efetiva e a aplicação placebo da LEDT. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Participaram deste estudo seis jovens adultos do sexo masculino, saudáveis e atletas de voleibol, os quais se enquadraram dentro dos critérios de inclusão. A idade média dos atletas foi de 18,57 anos ($\pm 0,98$), massa corporal média de 82,03kg ($\pm 3,11$) e estatura média de 188,71cm ($\pm 11,83$).

O desempenho dos atletas no teste de Wingate não revelou diferença estatisticamente significativa na potência pico e na potência média entre a LEDT efetiva ($12,22W \cdot kg^{-1} \pm 0,82$; $9,54W \cdot kg^{-1} \pm 0,60$) e a LEDT placebo ($12,29W \cdot kg^{-1} \pm 0,60$; $9,65W \cdot kg^{-1} \pm 0,42$) ($p > 0,05$). Em relação ao índice de fadiga (uma variável indireta mensurada através da *performance* mínima e máxima atingida durante o teste) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre a LEDT efetiva ($39,64\% \pm 6,36$) e a LEDT placebo ($39,88\% \pm 4,38$).

Os resultados relacionados com o estresse oxidativo, mensurados através dos níveis de TBARS, estão demonstrados na figura 2. Na situação LEDT efetiva não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os níveis pré e pós-exercício ($6,98 \pm 0,81$ e $7,02 \pm 0,47$ nmol/ml). Entretanto, a situação LEDT placebo demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,05$) entre os níveis pré e pós-exercício ($7,09 \pm 1,28$ e $8,43 \pm 0,71$ nmol/ml).

Ao considerar-se a variação das concentrações de TBARS nas análises pré e pós-exercício, observa-se diferença estatisticamente significativa ($p = 0,02$) entre a LEDT efetiva ($1,34 \pm 1,29\text{nmol/ml}$) e a LEDT placebo ($0,06 \pm 0,53\text{nmol/ml}$), conforme ilustrado na figura 3.

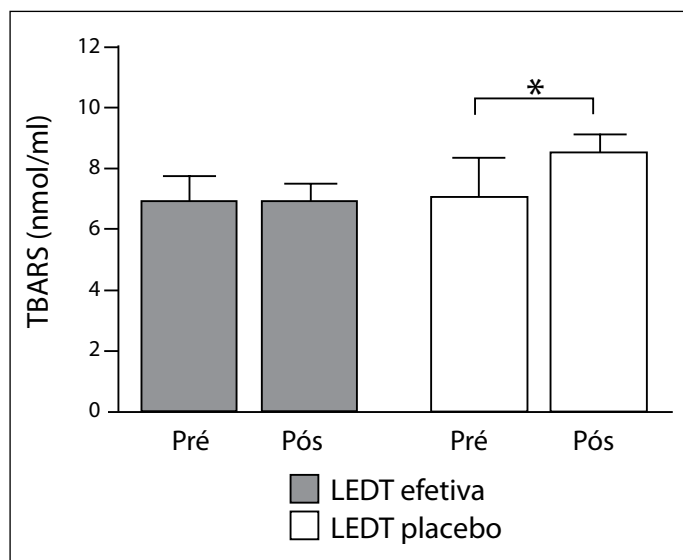


Figura 2. Comparação dos níveis de TBARS antes (PRE) e após (POS) o exercício nas situações LEDT efetiva e LEDT placebo (* $p = 0,05$).

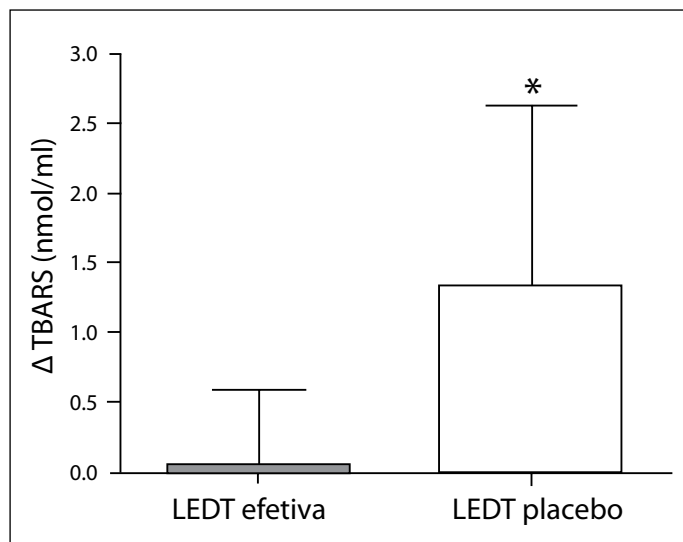


Figura 3. Comparação da variação nos níveis de TBARS nas situações LEDT efetiva e LEDT placebo (* $p = 0,02$).

DISCUSSÃO

Neste estudo preliminar, avaliamos o efeito da LEDT aplicada previamente ao exercício de alta intensidade realizado em cicloergômetro sobre a variação na concentração de TBARS. Apesar de apresentar algumas limitações que serão abordadas posteriormente, nosso trabalho encontrou resultados positivos em relação à LEDT como uma modalidade de prevenção do estresse oxidativo induzido por exercício. Tal especulação é embasada no aumento nos níveis de TBARS na situação em que os atletas receberam aplicação placebo da LEDT, contrapondo-se ao equilíbrio observado na situação na qual os atletas receberam aplicação efetiva da LEDT.

Resultados positivos da fototerapia sobre o estresse oxidativo já foram relatados em estudos em que a LBP foi aplicada no músculo de ratos submetidos a trauma mecânico^(17,18). Fillipin *et al.*⁽¹⁷⁾, utilizando laser de arseneto de gálio (904nm, 45mW e 5J/cm²), encontraram

uma redução das anormalidades histológicas e na resposta inflamatória, além de aumento na concentração de colágeno no grupo irradiado com LBP. Os autores também observaram efeitos significativos da LBP na redução do estresse oxidativo, representado pelo decréscimo dos níveis de TBARS em relação ao grupo que não recebeu laser. Além disso, foi observado um aumento na atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD), um importante agente antioxidante.

Rizzi *et al.*⁽¹⁸⁾ reforçam as constatações anteriormente citadas em um estudo utilizando parâmetros semelhantes de LBP sobre o trauma mecânico em músculos de ratos. Os autores observaram uma diminuição considerável das anormalidades histológicas, resposta inflamatória e nos níveis de TBARS, além do efeito bloqueador na expressão da síntese de óxido nítrico (iNos) e na ativação do fator nuclear Kb (NF-kB). Os autores concluíram que a LBP reduz a resposta inflamatória induzida por trauma sendo capaz de bloquear os efeitos negativos da liberação das EROs.

Apesar das evidências na literatura já terem apontado o efeito positivo da fototerapia sobre a prevenção do estresse oxidativo, enfatizamos que este é o primeiro estudo analisando os efeitos da LEDT sendo aplicada previamente ao exercício em atletas objetivando prevenir a peroxidação lipídica induzida por este tipo de atividade. Assim, embora nossos achados não possam ser confrontados com a literatura, estes podem ser considerados como o primeiro passo para estudos nesta área inovadora do conhecimento.

Considerando-se que esta pesquisa foi conduzida como um estudo preliminar, algumas limitações devem ser apontadas, sendo a primeira em relação ao tamanho amostral. O número limitado de participantes não permite maiores constatações sobre os resultados, dificultando o emprego de uma análise estatística mais adequada. Além disso, acreditamos que atletas possam não constituir a melhor população para análise de estresse oxidativo, uma vez que a prática sistemática de exercícios físicos, especialmente de natureza aeróbia, aumenta a capacidade antioxidante do indivíduo e, conseqüentemente, inibe a instalação do fenômeno conhecido como estresse oxidativo^(26,27). Deste modo, estudos envolvendo indivíduos não treinados ou sedentários, provavelmente promovam incrementos mais significativos no estresse oxidativo em relação aos nossos achados, como os observados por Chang *et al.*⁽²⁸⁾, que também utilizaram TBARS como parâmetro de análise.

A segunda limitação inclui o protocolo de exercício utilizado no estudo. O teste de Wingate possui característica predominantemente anaeróbia, sendo um teste de potência máxima e de curta duração de tempo⁽²⁹⁾. Em exercícios predominantemente aeróbios, o aumento no aporte de oxigênio para a mitocôndria proporciona um aumento na produção de EROs⁽³⁰⁾. Embora exercícios predominantemente anaeróbios sejam realizados com uma participação limitada de oxigênio, a produção excessiva de EROs também é observada⁽³¹⁾, provavelmente por outros mecanismos tais como a ativação da xantina oxidase, da acidose e oxidação de catecolaminas⁽³²⁾. No entanto, visto que a literatura apresenta resultados controversos, entendemos que exercícios de longa duração são mais apropriados quando o objetivo é a indução ao estresse oxidativo, especialmente em indivíduos treinados.

Além disso, sendo a análise do estresse oxidativo em humanos um procedimento complexo, somado ao fato de não existir um marcador biológico considerado *gold standard*, enfatizamos a importância da utilização de mais de uma análise bioquímica para determinar o estresse oxidativo⁽³³⁾. Sugerimos a observação do comportamento de enzimas antioxidantes – tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPX) e glutatona redutase (GR) – que devem ser feitas conjuntamente com TBARS. Tal observação parece apropriada,

visto que muitos pesquisadores acreditam que a fototerapia aumenta a atividade enzimática antioxidante através de um processo fotoquímico que acelera a eliminação de EROs^(17,34). Portanto, a explicação para os nossos achados pode estar relacionada ao efeito estimulatório da fototerapia sobre a ação de enzimas antioxidantes.

Por fim, afirma-se que, embora limitações metodológicas do presente estudo inviabilizem conclusões mais concretas, nossos resultados demonstram um efeito protetor da LEDT sobre o estresse oxidativo

induzido por exercício, sendo o primeiro estudo a realizar tal verificação em atletas. Instiga-se que mais estudos na área sejam desenvolvidos, já que a LEDT surge como um possível e inovador agente antioxidante e não farmacológico, podendo vir a ser um método preventivo ao estresse oxidativo.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Alessio H.M. Exercise-induce oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:218-24.
2. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford, 1999.
3. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsock J, Sasvari M, et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med* 1999;27:69-74.
4. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicol* 2003;189:41-54.
5. Astrand PO, Rodhal K, Dahl HA, Strömme SB. *Textbook of work physiology. Physiological basis of exercise*. 4th ed. Champaign: Human Kinetics, 2003.
6. Jenkins RR, Goldfarb A. Introduction: oxidant stress, aging and exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:210-2.
7. Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE, Trappel AL. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* 1978;45:927-32.
8. Davies KJA, Quintanilha AT, Brook GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982;107:1198-205.
9. Essig DA, Nosek TM. Muscle fatigue and induction of stress protein genes: A dual function of reactive oxygen species. *Can J Appl Physiol* 1997;22:409-28.
10. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:1576-81.
11. Brotto MA, Nosek TM. Hydrogen peroxide disrupts Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle fibres. *J Appl Physiol* 1996;81:731-7.
12. Barclay JK, Hansel M. Free radicals may contribute to oxidative skeletal muscle fatigue. *Can J Physiol Pharmacol* 1991;69:279-84.
13. Kuipers H. Training and overtraining: an introduction. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30:1137-9.
14. Itoh H, Ohkuwa T, Yamazaki Y, Shimoda T, Wakayama A, Tamura S, et al. Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. *Int J Sports Med* 2000;21:369-74.
15. Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998;77:498-502.
16. Xu X, Zhao X, Liu TC, Pan H. Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomed Laser Surg* 2008;26:197-202.
17. Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, et al. Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med* 2005;37:293-300.
18. Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Corrêa DS, Moreira AJ, Zettler CG, Fillipin LI, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med* 2006;38:704-13.
19. Lopes-Martins RA, Marcos RL, Leonardo PS, Prianti AC Jr, Muscará MN, Aimbire F, et al. Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J Appl Physiol* 2006;101:283-8.
20. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, et al. Effect of 655-nm low-level laser therapy (LLLT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg* 2008;26:419-24.
21. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Vanin AA, Baroni BM, Grosselli D, De Marchi T, et al. Effect of 830 nm low-level laser therapy (LLLT) in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci* 2009;24:425-31.
22. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Frigo L, De Marchi T, Rossi RP, de Godoi V, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to post-exercise recovery. *J Orthop Sports Phys Ther* 2010;40:524-32.
23. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Rossi RP, Grosselli D, et al. Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. *Photomed Laser Surg* 2009;27:617-23.
24. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, de Godoi V, et al. Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers Surg Med* 2009;41:572-7.
25. Wills ED. Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem J* 1966;99:667-76.
26. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31:987-97.
27. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:283-92.
28. Chang CK, Tseng HF, Hsuuw YD, Chan WH, Shieh LC. Higher LDL oxidation at rest and after a Rugby game in weekend warriors. *Ann Nutr Metab* 2002;46:103-7.
29. Inbar O, Bar-Or O, Skinner JS. *The Wingate anaerobic test*. Champaign, IL: Human Kinetics, 1996.
30. Sjodin B, Westing YH, Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med* 1990;10:236-54.
31. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Rad Biol Med* 2001;31:745-53.
32. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;117:159-63.
33. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000;72:637S-46S.
34. Yang ZF, Yang JG, Gao GH, Hu ZR, Chen HX, Qian HW. Mechanism of bio-effects of low intensity laser radiation. *Acta Laser Biology Sinica* 2002;11:388-94.