



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

**EFEITO AGUDO DA FOTOTERAPIA POR MEIO DE DIODOS
EMISSORES DE LUZ (LED) NA CINÉTICA DO CONSUMO DE
OXIGÊNIO PULMONAR, DESOXIGENAÇÃO MUSCULAR E NA
RESPOSTA DE GLICEMIA E LACTACIDEMIA EM HOMENS
COM DIABETES MELLITUS E SAUDÁVEIS**

CRISTINA DE OLIVEIRA FRANCISCO

Orientadora: Aparecida Maria Catai

São Carlos
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**EFEITO AGUDO DA FOTOTERAPIA POR MEIO DE DIODOS
EMISSORES DE LUZ (LED) NA CINÉTICA DO CONSUMO DE
OXIGÊNIO PULMONAR, DESOXIGENAÇÃO MUSCULAR E NA
RESPOSTA DE GLICEMIA E LACTACIDEMIA EM HOMENS
COM DIABETES MELLITUS E SAUDÁVEIS**

**Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisioterapia,
como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Fisioterapia.**

DISCENTE

Ms. Cristina de Oliveira Francisco

ORIENTADORA

Profa. Dra. Aparecida Maria Catai

Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos

SUPERVISOR DO ESTÁGIO NO EXTERIOR

Prof. Dr. Richard L. Hughson

Departamento de Cinesiologia da Universidade de Waterloo - CA

São Carlos

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F818ea Francisco, Cristina de Oliveira
Efeito agudo da fototerapia por meio de diodos emissores de luz (led) na cinética do consumo de oxigênio pulmonar, desoxigenação muscular e na resposta de glicemia e lactacidemia em homens com diabetes mellitus e saudáveis / Cristina de Oliveira Francisco. -- São Carlos : UFSCar, 2017.
103 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2016.

1. Diabetes mellitus tipo 2. 2. Terapia por luz. 3. Lactato. 4. Cinética. 5. Espectroscopia de luz próxima ao infravermelho. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Cristina de Oliveira Francisco, realizada em 24/06/2016:

Profa. Dra. Aparecida Maria Catai
UFSCar

Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
USP

Prof. Dr. Paulo de Tarso Camillo de Carvalho
UNINOVE

Prof. Dr. Antonio Roberto Zamunér
UFSCar

Profa. Dra. Priscila Cristina de Abreu Sperandio
UNIFIEO

Investigação conduzida no Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular/ Núcleo de Pesquisas em Exercício Físico (NUPEF) do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em colaboração com *Vascular Aging and Space Research Program Laboratory* da *University of Waterloo* - CA.

Projeto desenvolvido com apoio financeiro da CAPES (8 meses de bolsa) e FAPESP (2013/08183-7, bolsa no país; 2015/20512-1, bolsa de estágio de pesquisa no exterior (BEPE); e 2013/07953-3, Auxílio Regular à Pesquisa).

“Não quero ter a terrível limitação de quem vive apenas do que é passível de fazer sentido. Eu não: quero uma verdade inventada”.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

E agora José, quer dizer, e agora Cristina, é o que muitos me perguntam ao saber que mais uma etapa de minha formação está sendo concluída. E agora não sei, mas sei que estou muito melhor preparada do que quando me formei na universidade há 8 anos ou quando terminei o mestrado, há 4 anos. Não estou melhor preparada somente academicamente falando, estou melhor preparada para vida. Escolher esse difícil percurso na academia me ensinou a ter paciência num momento que eu não tinha; me ensinou que o mundo é dos espertos e o céu é dos justos e que de nada adianta sofrer ou tentar mudar isso; e ampliou muito meus horizontes. Obviamente todo esse processo teve a participação de inúmeras pessoas, e espero não esquecer de nenhuma delas nessa singela expressão de gratidão.

Muito obrigada a minha mãe Cleuda, pelo amor e apoio incondicional. A minha irmã Elaine pela presença, alegria e ombro amigo e por ter me presenteado com meus lindos sobrinhos Yasmin e Daniel. Ao meu pai Rubens por mesmo a distância estar orgulhoso de mim.

Agradeço a minha orientadora Aparecida Maria Catai, pela confiança depositada em mim, pelas oportunidades, ensinamentos profissionais e pessoais e pela amizade. Muito Obrigada.

Ao Marcel Akira Serikawa, meu namorado, amigo e companheiro, muito obrigada por me apoiar desde o começo, desde a minha formatura na fisioterapia UFSCar em 2009, obrigada por estar ao meu lado me auxiliando a tornar meus sonhos realidade e por todo companheirismo e apoio.

Obrigada a família Serikawa (Tomoko, Mitsuo, Simoni e Rosana) por me acolherem na sua família e por serem pessoas tão maravilhosas de se ter por perto.

Obrigada também Marcão e Gabriel (Fly), conviver com vocês tem sido uma aula de *stand up comedy* (brincadeira). Obrigada pelas conversas filosóficas dos almoços em família.

Obrigada aos meus amigos da FT05, Juliano, Rodrigo, Thais Aurichio, Silvia Pavão e Vanessa Santos. Muito obrigada pela amizade pessoal. Já obrigada pelas caminhadas, passeios com a Sofia (minha cachorra) e pelos jantares!

Obrigada as amigas Dayana Rosa e Camila Pantoni que tive a oportunidade de conhecê-las melhor durante essa caminhada e que tantas vezes me emprestaram seus ombros para me consolar.

Obrigada Juliana Cristina Milan-Mattos e Amanda Magdalena Ferroli-Fabício por abraçarem esse projeto comigo e torná-lo possível. Tive muita sorte em poder contar com todo o empenho de vocês no desenvolvimento desse projeto. Muito Obrigada.

Obrigada aos colegas do Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular, pela amizade e pelo espírito de equipe. Agradeço em especial o Vinícius, a Camila, a Renata e ao Raphael. Os primeiros por sempre estarem disponíveis a me ajudar em qualquer brecha que eu pudesse coletar. Obrigada por me ajudar na maratona de coletas. Raphael, obrigada pela ajuda na análise de dados, pela paciência e por ser tão solícito. Obrigada Alessandra Fagundes por em seu período como *post doc* no laboratório ter me ajudado na fase inicial. Além de toda ajuda, obrigada pelo seu ombro amigo e por me ensinar tanto com sua experiência de vida.

Obrigada aos professores e alunos que colaboraram com esse projeto (Alberto Porta, Audrey Borghi-Silva, Benedito Galvão Benze, Nivaldo Parizotto, Richard Hughson, Vanderlei Bagnato, Cleber Ferraresi e Thomas Beltrame).

Obrigada ao Thomas pelas discussões e sua enorme contribuição nas dúvidas iniciais com o NIRS e nas análises de cinética, por toda paciência, por não medir

esforços para ajudar. Obrigada também por ter feito a ponte que tornou possível o estágio no exterior.

Obrigada ao professor Richard Hughson por me receber em seu laboratório e me proporcionar a incrível experiência de vivenciar a pesquisa fora do Brasil.

Obrigada ao prof Benê pela paciência, pela troca de experiências, por todo trabalho empregado nas análises estatísticas do meu doutorado e por ser essa pessoa admirável.

Obrigada aos professores do departamento de fisioterapia por todos os ensinamentos desde a minha formação na graduação

Obrigada aos funcionários do PPGFt e da Unidade Saúde Escola pela presteza e ajuda.

Obrigada a Secretaria Municipal da Saúde de São Carlos por permitir a realização da divulgação do projeto de pesquisa nos postos de saúde e no Centro de Especialidades. Obrigada a equipe de enfermagem do CEME pela abertura e presteza. Sem a colaboração de vocês a captação de voluntários teria sido muito mais difícil.

Agradeço todos os voluntários pela inestimável colaboração. Obrigada por doarem o tempo de vocês para nos ajudar. Vocês doaram pra gente muito mais do que retornamos pra vocês. MUITÍSSIMO Obrigada.

Agradeço aos órgãos de fomento Capes e FAPESP pelo auxílio financeiro.

RESUMO

O diabetes mellitus tipo 2 (DM) é responsável por redução significativa na qualidade de vida devido ao seu impacto negativo na capacidade de realização de exercícios físicos. A diminuição do condicionamento cardiopulmonar e os menores valores de consumo de oxigênio pico em testes de exercício têm sido associados com múltiplos fatores envolvidos nas complicações do diabetes. A fototerapia é um recurso que tem sido utilizado devido sua ação nos sistemas biológicos, podendo ser um coadjuvante do exercício na melhora da eficiência do trabalho muscular e aumento da capacidade aeróbia. Por isso, levantou-se a questão de que tal recurso poderia beneficiar populações com DM. Assim, foi proposto um protocolo experimental aleatorizado e duplo-cego visando avaliar o efeito agudo da fototerapia com diodos emissores de luz (LED) nos ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos ao exercício moderado em cicloergômetro, bem como nas concentrações de lactato e glicose sanguíneas pré e pós intervenção e após o exercício físico em homens com DM e saudáveis, com idade entre 45 e 64 anos. A partir deste protocolo dois estudos foram realizados. No *estudo 1* foi avaliado o efeito agudo da fototerapia (LED-150J) em dois grupos: grupo com DM (GDM, n=16) e grupo saudável (GS, n=9). Os grupos foram pareados por idade e índice de massa corpórea. O LED reduziu significativamente as concentrações de glicose no GDM após o exercício em cicloergômetro e não afetou os níveis de lactato e os ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos em ambos os grupos. Nossos resultados sugerem que o LED em combinação com o exercício moderado reduz de forma aguda os níveis de glicose em homens adultos com DM. No *estudo 2* objetivou-se avaliar o efeito agudo de duas diferentes doses de fototerapia. Participaram desse estudo dois grupos de homens com DM: LED-150J (n=16) e LED-300J (n=17). O LED-150J reduziu as concentrações de glicose após o exercício físico e o LED-300J aumentou os níveis de lactato após o protocolo de exercício na fototerapia efetiva em comparação com a fototerapia placebo. Nenhuma das dosagens avaliadas modificou significativamente os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos avaliados. Este estudo mostrou que a fototerapia por meio de LED na dosagem de 300J não causou melhora nos parâmetros estudados enquanto a dosagem de 150J melhorou a glicemia, podendo ser utilizada como recurso adjuvante no controle da hiperglicemia em indivíduos com DM. Como conclusão geral, nossos achados sugerem que a fototerapia associada ao exercício moderado tem potencial terapêutico no controle da glicemia do DM, no entanto, mais estudos são necessários para estabelecer a janela terapêutica e a dose-resposta capaz de modificar de forma aguda os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos, assim como os níveis de lactato.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 2, terapia por luz, exercício físico, cinética, glicose, lactato, espectroscopia de luz próxima ao infravermelho.

ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus (DM) is responsible for quality of life reduction due its negative impact in the physical exercise capacity. The impairment of cardiopulmonary fitness and lower values in oxygen uptake in exercise tests has been associated with factors related with diabetes complications. Phototherapy is a resource largely utilized due its action in biological systems and it may be adjuvant to exercise to improve muscular efficiency and increase aerobic capacity. Thus, the question if this resource may be benefit to populations with DM. Therefore, we proposed a study protocol randomized, double-blind, placebo controlled to evaluate the acute effect of light emitting diode (LED) in cardiorespiratory and hemodynamic adjustments of moderate exercise in cycloergometer, as well as, in lactate and glucose levels pre and post intervention and after exercise in men aged between 45 and 64 years, with DM and health. Then, two studies were performed. In the *study 1* it was evaluated the acute effect of phototherapy (LED-150J) in two groups: DM group (DMG) and health group (HG) (n=16 and n=9, respectively). The groups were paired by age and body mass index. The LED reduced significantly the glucose levels in DMG after exercise and do not affect the lactate levels, cardiorespiratory and hemodynamic adjustments of aerobic exercise in both groups. Our results suggest that LED in combination with moderate exercise decrease acutely the glucose levels in adult subjects with DM. The *study 2* aimed evaluate the acute effect of two different doses of phototherapy. Participated in this study two groups of men with DM: LED-150J (n=16) and LED-300J (n=17). The LED-150J reduced the levels of glucose after exercise. The LED-300J increased the lactate levels after exercise in effective session compared with placebo. Any doses changed the cardiorespiratory and hemodynamic adjustments. This study demonstrated that the phototherapy with LED using the 300J dose did not improved the parameters studied and the 150J dose improved the glycaemia and should be used in combination with other therapies for the hyperglycemia management in individuals with DM. The general conclusion of this thesis is that our findings suggest that phototherapy associated with moderate physical exercise have therapeutic potential to control glycaemia in DM, however, further studies should be conducted investigating the dose window and dose-response capable to change acutely the cardiopulmonary and hemodynamic adjustments and lactate levels.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, fotobiomodulation, physical exercise, kinetic, glucose, lactate, near-infra red spectroscopy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de fluxo do procedimento experimental.....	27
Figura 2. Fluxograma do Procedimento Experimental.....	31
Figura 3. Ilustração da aplicação da manta de diodos emissores de luz (LED).	33
Figura 4. Ilustração do procedimento experimental.	35
Figura 5. Ilustração da aquisição dos dados por meio dos equipamentos Vmax Encore 29c, Finometer PRO e Oxymon durante protocolo de carga constante.	36
Figura 6. Ilustração representativa da análise da cinética do consumo de oxigênio pulmonar, da frequência cardíaca e do débito cardíaco em dados de um indivíduo com diabetes mellitus tipo 2.	39
Figura 7. Ilustração representativa da análise da cinética da desoxihemoglobina (HHb) do vasto lateral em dados de um indivíduo com diabetes mellitus tipo 2.	40
Figura 8. Fluxograma de perdas	47
Figura 9. Concentrações de glicose pré-intervenção (LED-placebo e LED-Efetivo), pós-intervenção e depois do protocolo de exercício. (a) concentrações de glicose no grupo saudável (GS) e (b) no grupo diabético (GDM).	51
Figura 10. Concentrações de lactato pré-intervenção (LED-placebo e LED-Efetivo), pós-intervenção e depois do protocolo de exercício.....	52
Figura 11. Fluxograma de perdas	64
Figura 12. Concentrações de lactato pré-intervenção pós-intervenção e depois do protocolo de exercício nas dosagens de 150J e 300J.....	70
Figura 13. Concentrações de glicose pré-intervenção, pós-intervenção e pós- protocolo de exercício nas dosagens de 150J e 300J.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros da fototerapia	32
Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados	49
Tabela 3. Parâmetros da cinética do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, débito cardíaco e desoxihemoglobina.....	50
Tabela 4. Especificações gerais e específicas da fototerapia.....	65
Tabela 5. Características clínicas e laboratoriais.....	66
Tabela 6. Parâmetros da cinética do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, débito cardíaco e deoxihemoglobina	68
Tabela 7. Comparação da magnitude dos efeitos das terapias entre os grupos	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP: adenosina-trifosfato

bpm: batimentos por minuto

DC: débito cardíaco

DM: diabetes mellitus tipo 2

ECG: eletrocardiograma

FC: frequência cardíaca

GDM: grupo com diabetes mellitus tipo 2

GS: grupo saudável

HbA1c: hemoglobina glicada

HHb: desoxihemoglobina

HOMA-IR: modelo de avaliação de resistência a insulina

IMC: índice de massa corporal

LASER: luz amplificada por meio de emissão de radiação estimulada

LAv: limiar de anaerobiose ventilatório

LED: diodos emissores de luz

MRT: média de tempo de resposta

NIRS: espectrômetro com raios no infra-vermelho próximo

O₂: oxigênio

O₂Hb: oxihemoglobina

PA: pressão arterial

PAD: pressão arterial diastólica

PAS: pressão arterial sistólica

QR: quociente respiratório

TD: tempo de atraso da função

$\dot{V}CO_2$: produção de gás carbônico

$\dot{V}O_{2 \text{ pico}}$: consumo de oxigênio pico

$\dot{V}O_2$: consumo de oxigênio

τ : constante de decaimento exponencial

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	15
2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL	22
2.1. RESUMO.....	23
2.2. INTRODUÇÃO	25
2.3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.3.1. Desenho experimental	26
2.3.2. Sujeitos	28
2.3.3. Caracterização da amostra	29
2.3.4. Protocolo.....	30
2.3.5. Medidas	34
2.3.6. Procedimentos de análise de dados	37
2.4. DISCUSSÃO	40
3. ESTUDO 1	42
3.1 RESUMO.....	43
3.2 INTRODUÇÃO	45
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.3.1 Análise estatística	47
3.4 RESULTADOS	48
3.5 DISCUSSÃO	52
4. ESTUDO 2	58
4.1 RESUMO.....	59
4.2 INTRODUÇÃO	61
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS	62
4.3.1 Protocolo de fototerapia	63
4.3.2 Análise estatística	64
4.4 RESULTADOS	65
4.5 DISCUSSÃO	71
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS	76
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
7. ANEXOS	93
8. APÊNDICES	98

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O diabetes mellitus tipo 2 (DM) é uma doença caracterizada por hiperglicemia. Esta é resultante da produção deficiente de insulina e/ou resposta ineficiente dos tecidos sensíveis a ela sendo responsável por 90 a 95% dos casos de diabetes [1]. Trata-se de um importante problema de saúde pública, devido sua alta frequência na população, suas complicações, elevada mortalidade, altos custos financeiros e sociais envolvidos no seu tratamento e a deterioração significativa da qualidade de vida dos acometidos por ela [2-4].

O DM é sexta causa de morte no mundo, sendo 70% causada por doenças cardiovasculares [5]. A hiperglicemia prolongada ocasiona diversas complicações como a hipertensão arterial, dislipidemia, microangiopatia, macroangiopatia, aterosclerose, neuropatias diversas [5]. Dentre os fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento da DM, a obesidade e a inatividade física surgem como as principais causas do aumento da prevalência do DM, sendo o risco de mortalidade desta população inversamente relacionada aos níveis de atividade física [6].

Dentre as limitações físicas e alterações relacionadas ao DM, temos as respostas alteradas no exercício submáximo, que levam a uma lentificação do aumento do consumo de oxigênio após o início do exercício. Esta resposta indica perturbações na homeostase intracelular durante o exercício, contribuindo para fadiga muscular prematura [7] e redução da tolerância ao exercício [8, 9] sendo o último um preditor independente para mortalidade [10].

A redução significativa do condicionamento cardiopulmonar [11] e os menores valores de consumo de oxigênio pico ($\dot{V}O_{2\text{ pico}}$) em testes de exercício têm sido associados com múltiplos fatores envolvidos nas complicações do diabetes [11], dentre eles: alterações na perfusão cardíaca, menor resposta da frequência cardíaca (FC)

durante exercício submáximo [12], redução do fluxo sanguíneo muscular [13], alterações no transporte de oxigênio em associação a redução na cinética do consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) [9] e anormalidades no metabolismo energético no músculo esquelético [14].

A resistência à insulina e o DM levam à redução da capacidade oxidativa muscular [15, 16] e a disfunções mitocondriais que apresentam redução em seu tamanho e morfologia [17, 18], afetando negativamente o metabolismo energético e piorando a capacidade funcional de indivíduos com DM [18]. Além disso, as maiores concentrações de ácidos graxos livres presentes no DM parecem exercer efeitos deletérios na síntese de adenosina-trifosfato (ATP) da mitocôndria muscular devido à inibição da cadeia transportadora de elétrons [19]. A hiperglicemia prolongada causa uma variedade de alterações patológicas causando dano tecidual envolvendo repetidas mudanças no metabolismo celular, levando ao aumento na produção de espécies reativas do oxigênio que causam lesões oxidativas [20].

Considerando as evidências dos efeitos da fotoestimulação na microcirculação induzindo a melhora na vasodilatação [21-23], aumentando os níveis de oxigênio nos tecidos [23] e sua ação em estimular a cadeia respiratória mitocondrial [24, 25], reduzir o estresse oxidativo e a produção de espécies reativas de oxigênio [26, 27], é possível que a fototerapia possa melhorar a resposta aguda ao exercício em indivíduos com DM.

A fototerapia é um recurso amplamente utilizado devido a capacidade da luz induzir processos fisiológicos celulares [28]. A aplicação de luz como forma de tratamento é realizada por meio de LASER (luz amplificada por meio de emissão de radiação estimulada) de baixa intensidade ou LED (diodos emissores de luz). A principal diferença entre o LASER e o LED é a característica da luz emitida. No LED os feixes de luz não são coerentes e divergem mais do que no LASER em que os feixes

de luz são coerentes. Por esse motivo, com o LED ocorre maior reflexão da luz e menor transmissão de energia através dos tecidos [29, 30]. Assim, terapias com LED exigem maiores dosagens para compensar a reflexão e a divergência da luz [30]. Apesar dessas diferenças, comparações entre a efetividade terapêutica do LASER e do LED não tem mostrado diferenças significativas [29]. Face a essa consideração, a fototerapia por LED tornou-se uma boa alternativa devido ao seu baixo custo e a possibilidade de estimular uma maior área [31].

A indução de efeitos químicos e biológicos por meio da luz é denominada fotoestimulação ou fotobiomodulação e ocorre devido à capacidade das células absorverem a luz através dos fotorreceptores [28, 32]. Dentre os fotorreceptores celulares destacam-se a hemoglobina, a citocromo oxidase e a mioglobina [28]. A fototerapia geralmente utiliza luzes com comprimentos de onda entre 600 a 1000nm (vermelho e infra-vermelho) e com variação de potência entre 1mW a 500mW [28].

A fotobiomodulação depende da dosagem terapêutica utilizada que determinará se a luz atingirá o fotorreceptor “alvo” bem como se forneceu energia suficiente para obter os resultados desejados. A determinação da dosagem depende da densidade de energia e do tempo de irradiação e a resposta biológica da fototerapia ocorre de maneira bifásica, ou seja, abaixo da dosagem ideal não ocorrerá a estimulação ou a magnitude da resposta será baixa e acima da dosagem ocorrerá uma inibição da função celular [28]. Apesar de ser conhecida essa dependência da dosagem para atingir a resposta terapêutica desejada, não há um método sistemático disponível para calcular a dosagem da fotoestimulação [30]. Por esse motivo, muitos estudos procuram evidenciar a janela terapêutica dentro da especificidade de cada equipamento LED e/ou LASER e de cada tecido alvo.

Os fotorreceptores quando estimulados pela luz, causam mudanças na permeabilidade da membrana celular e nos mecanismos de transporte que causam mudanças intracelulares no pH e concentração iônica. Os fótons que penetram a membrana celular estimulam enzimas mitocondriais, dentre elas a citocromo oxidase, causando o aumento da produção de ATP de forma aeróbia [30, 33, 34] favorecendo essa via metabólica. A citocromo oxidase é uma proteína da cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria que participa da catalização e redução de mais de 90% do oxigênio absorvido, tendo papel central na regulação do metabolismo energético aeróbico. Hayworth *et al.* [35] e Albuquerque-Pontes *et al.* [36] observaram em modelo experimental animal que uma única aplicação de fototerapia foi capaz de induzir a atividade da molécula citocromo oxidase.

A fotoestimulação também está associada ao aumento da oxigenação tecidual e da atividade morfofuncional mitocondrial [22, 23]. Maegawa *et al.* [22] observaram que a fototerapia em ratos induziu uma potente vasodilatação arteriolar, aumentando agudamente o fluxo sanguíneo em aproximadamente 20%. Baroni *et al.* [37] em um estudo com indivíduos saudáveis verificaram que a aplicação de fototerapia utilizando LED produziu aumento da performance em um protocolo de fadiga do quadríceps, atribuindo seus resultados a vasodilatação arteriolar promovida pela fototerapia, que aumenta o suprimento sanguíneo para o músculo promovendo melhores condições de performance com a utilização do sistema aeróbio e a redução da acumulação de lactato sanguíneo.

Sendo assim, diversos estudos têm apontado efeitos ergogênicos relacionados a fototerapia, dentre eles a redução do estresse oxidativo e produção de espécies reativas de oxigênio [26, 27], estímulo da cadeia respiratória mitocondrial [24, 25], aumento do *clearance* do ácido láctico [38], aumento da microcirculação [21] e prevenção do

desenvolvimento da fadiga muscular e melhora da recuperação da mesma [39-42]. Além dos benefícios de tratamentos em longo prazo, efeitos agudos da fototerapia têm sido demonstrados. A aplicação da fototerapia prévia ao exercício físico melhora agudamente o desempenho muscular [37, 41] e aeróbio [38, 43, 44] em indivíduos saudáveis.

Considerando que o DM causa inúmeras alterações periféricas e sistêmicas, incluindo disfunções na composição muscular [17, 18] que afetam a capacidade funcional e a qualidade de vida dessa população [18], a fototerapia pode ser um recurso terapêutico que pode beneficiar esses indivíduos. Assim, foi proposto um protocolo experimental aleatorizado e duplo-cego que visava avaliar o efeito agudo da fototerapia nos ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos ao exercício moderado, bem como nas concentrações de lactato e glicose sanguíneas pré e pós intervenção e pós exercício. A partir deste, dois estudos foram realizados, o primeiro intitulado ***“Efeito da terapia com diodos emissores de luz (LED) nos níveis de glicose e ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos durante o exercício aeróbio em pacientes com diabetes mellitus: estudo aleatorizado controlado”*** e o segundo intitulado ***“Efeito agudo de duas doses de fototerapia aplicado antes do exercício moderado em pacientes com diabetes mellitus tipo 2”***.

No primeiro estudo foi avaliado o efeito agudo da fototerapia em indivíduos com DM e em saudáveis. A fototerapia foi aplicada bilateralmente nos músculos quadríceps femoral e tríceps sural com a dosagem de 150J por grupamento muscular. Neste estudo, observamos que a fototerapia em combinação com exercício reduziu as concentrações de glicose, contudo as demais variáveis avaliadas (níveis de lactato e velocidade dos ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos) não foram modificadas.

A partir desses resultados, surgiu o questionamento se a dosagem de fototerapia utilizada teria sido insuficiente para modificar as demais variáveis. Ferraresi *et al.* [45] em um estudo publicado recentemente (2015), demonstrou que a fototerapia com LED utilizando dosagens de 210J e 315J aplicadas antes das partidas de vôlei de atletas (sexo masculino, idade média de 25 anos) preveniu o aumento da creatina kinase, que é um marcador de dano muscular. Dessa forma, devido a ausência de estudos utilizando fototerapia para melhorar o desempenho de sujeitos com DM e de estudos utilizando a avaliação das mesmas variáveis da presente investigação, os achados de Ferraresi *et al.* [45] serviram para nortear a escolha da dosagem do nosso estudo seguinte no qual foram avaliados DM sob o efeito agudo da fototerapia com dosagem de 300J comparativamente com as respostas da dosagem de 150J.

O protocolo experimental desta tese foi publicado no periódico *Trials*, o **estudo 1** foi submetido ao periódico *Lasers in Medical Science* e o **estudo 2** será submetido ao periódico *Lasers in Surgery and Medicine*. Estes estão apresentados nas próximas sessões desta tese no formato de manuscrito, traduzidos para a língua portuguesa e com a inclusão de ilustrações.

2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

(Versão em português com inclusão de ilustrações e detalhamento da descrição da triagem, avaliação dos sujeitos e análise de dados)

Título: Avaliação do efeito agudo da fototerapia com diodos emissores de luz (LED) na desoxigenação muscular e cinética da oxigenação pulmonar em pacientes com diabetes mellitus: protocolo experimental de um estudo aleatorizado controlado.

Publicado no periódico *Trials* (London). v.16, p.1 - 6, 2015.

DOI 10.1186/s13063-015-1093-3

2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

“Avaliação do efeito agudo da fototerapia com diodos emissores de luz (LED) na desoxigenação muscular e cinética da oxigenação pulmonar em pacientes com diabetes mellitus: protocolo experimental de um estudo aleatorizado controlado”

2.1. RESUMO

Introdução: O DM é responsável por significativa redução na qualidade de vida devido ao seu impacto negativo na capacidade funcional. A redução do condicionamento cardiorrespiratório nos pacientes com DM tem sido associada a limitações na oxigenação tecidual. A fototerapia tem sido utilizada para tratar diversas desordens devido à interação entre a luz e tecidos biológicos. Este tipo de terapia pode ajudar a melhorar a oxigenação muscular, e conseqüentemente aumentar o condicionamento aeróbio e a capacidade funcional. **Métodos:** Este foi um estudo aleatorizado, duplo cego, placebo controlado com planejamento experimental cruzado (*cross-over*) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e registrado no *ClinicalTrials.gov*. Quatro testes separados foram realizados para avaliar o efeito agudo da fototerapia. Todos os participantes receberam ambas as intervenções em ordem aleatória: terapia com diodos emissores de luz (LED-efetivo) ou placebo, com tempo mínimo de 14 dias de intervalo entre as sessões (tempo de *washout*). Imediatamente após a intervenção, os participantes realizaram um protocolo de exercício físico de carga constante em bicicleta correspondente a 80% do consumo de oxigênio pulmonar ($\dot{V}O_2$) do limiar de anaerobiose ventilatório. O LED-efetivo foi administrado utilizando uma manta com 50 LED (850nm, 75mW por LED e 3J por ponto) antes de cada sessão de exercício. $\dot{V}O_2$ pulmonar, oxigenação muscular, frequência cardíaca e pressão arterial foram mensuradas por meio de um analisador

metabólico, um espectrômetro com raios no infra-vermelho próximo, um eletrocardiógrafo e um sistema de fotopleletismografia, respectivamente. **Discussão:** O objetivo principal desse estudo foi avaliar os efeitos agudos da fototerapia usando LED nas cinéticas do $\dot{V}O_2$, oxigenação muscular e FC durante o exercício físico moderado. Nossa hipótese foi que a fototerapia pode ser benéfica para otimizar a aptidão aeróbia na população diabética.

Registro de ensaio clínico: Registrado no ClinicalTrials.gov sob o número de registro NCT01889784 (registrado em 05 de junho de 2013).

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 2, fototerapia, diodos emissores de luz, consumo de oxigênio, exercício físico, cinética do consumo de oxigênio.

2.2. INTRODUÇÃO

O DM é um problema de saúde de ordem mundial devido sua alta prevalência e as taxas de mortalidade associadas a esta doença [46]. Trata-se de uma doença caracterizada pela hiperglicemia causada por defeitos na secreção de insulina e/ou na ação da insulina. O DM é associado a diversas comorbidades e complicações crônicas que comprometem diversos tecidos, especialmente vasos sanguíneos, coração e nervos [47].

Indivíduos com DM apresentam redução na capacidade aeróbia caracterizada pelo baixo $\dot{V}O_{2 \text{ pico}}$ [9, 11, 48, 49]. Além disso, a análise da cinética do consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) tem sido usada para caracterizar a dinâmica do $\dot{V}O_2$ durante transições para o exercício submáximo [9, 50]. A cinética do $\dot{V}O_2$ nas transições do exercício físico está relacionada com a habilidade do sistema cardiorrespiratório oferecer oxigênio (O_2) e com a capacidade dos músculos exercitados em utilizar este O_2 [9, 50]. Pacientes com DM apresentam um atraso na resposta do $\dot{V}O_2$ após a transição do exercício físico leve para moderado [8, 9] e fadiga muscular prematura [7] em comparação com o grupo saudável. Muitos mecanismos podem explicar o atraso nas respostas, dentre eles redução do fluxo sanguíneo muscular [13] e densidade capilar [15], defeitos na difusão de oxigênio muscular, e menor utilização de oxigênio mitocondrial [9] e menor função mitocondrial [7, 14, 19].

A fototerapia é um recurso amplamente usado devido ao seu efeito nos tecidos biológicos que tem potencial de melhorar a eficiência muscular e condicionamento aeróbio [38, 51-54]. Estudos com animais têm mostrado melhora na função mitocondrial [35, 55], microcirculação, e oxigenação tecidual [22, 23] mediada pela fototerapia. Adicionalmente, estudos com pessoas saudáveis demonstraram melhora na função muscular, na resistência à fadiga, no $\dot{V}O_2$ pulmonar e tolerância ao exercício [38,

53] e redução nas concentrações de lactato e marcadores de dano muscular [38, 41, 42, 56].

Pacientes com DM possuem menor habilidade para entregar o O₂ para o músculo e possivelmente para utilizar O₂ durante o exercício, o que leva a um desbalanço entre o fluxo sanguíneo muscular e o consumo de O₂ pulmonar [57], resultando no atraso da dinâmica do $\dot{V}O_2$. Sendo assim, o objetivo principal deste estudo foi avaliar os efeitos agudos da fototerapia com LED na cinética da oxigenação muscular e cinética do $\dot{V}O_2$ pulmonar em indivíduos com DM durante protocolo de exercício moderado. Nossa hipótese foi que a fototerapia pode promover efeitos terapêuticos como melhora nas respostas das variáveis estudadas após a transição do exercício físico leve para moderado que pode levar a melhora da capacidade funcional.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1. Desenho experimental

Trata-se de um estudo aleatorizado, duplo cego, placebo controlado com planejamento experimental cruzado (*cross-over*) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos (número 13573013.1.0000.5504) e registrado no ClinicalTrials.gov (número NCT01889784). O estudo foi conduzido em concordância com as padronizações em pesquisa com humanos conforme a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Os participantes foram divididos em dois grupos: grupo DM (GDM) e grupo saudável (GS). Após a triagem, os voluntários de ambos os grupos que atingiram os critérios de elegibilidade foram aleatoriamente alocados em dois subgrupos (A e B), como descrito na figura 1A. Quatro testes separados foram conduzidos para avaliar o

efeito agudo da fototerapia. Todos os voluntários receberam ambas as intervenções, LED-efetivo e LED-placebo, com um intervalo mínimo de 14 dias entre as sessões (tempo de *washout*). Os subgrupos determinaram a ordem das intervenções, pois as mesmas foram alternadas entre as sessões (figura 1B). Os voluntários do subgrupo A receberam LED-efetivo na primeira e terceira sessões e o LED-placebo na segunda e quarta sessões. Os voluntários do subgrupo B receberam os tratamentos na ordem inversa. O pesquisador responsável pelo processo de aleatorização preparou a manta de LED (efetivo ou placebo) antes das sessões e não participou da análise de dados.

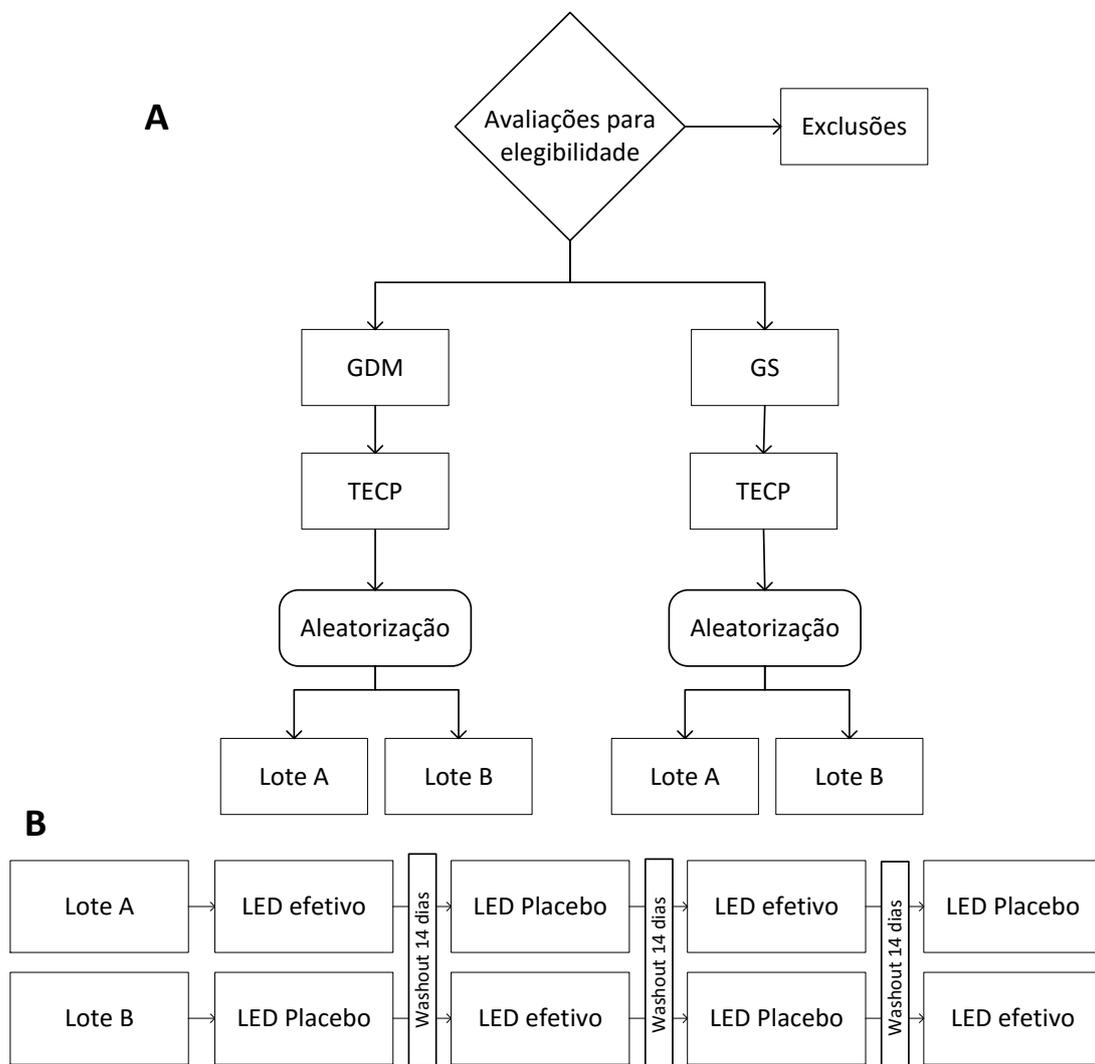


Figura 1. Diagrama de fluxo do procedimento experimental.

DM - Diabetes Mellitus; TECP - Teste de exercício cardiopulmonar; LED – diodos emissores de luz (adaptado de Francisco *et al.* 2015 [58])

2.3.2. Sujeitos

Todos os indivíduos tinham idade entre 40 e 64 anos. O GDM possuía diagnóstico segundo critérios da *American Diabetes Association* [59]. Os grupos foram pareados com relação à idade e índice de massa corporal (IMC). Primeiramente foi realizada a triagem e avaliações do GDM para então avaliar os indivíduos do grupo controle com idades e IMC equivalentes ao do primeiro.

Todos os participantes não possuíam doença coronária manifesta avaliada por meio do eletrocardiograma (ECG) convencional de 12 derivações em repouso e teste de exercício clínico, conduzido por médico cardiologista juntamente com a pesquisadora na Unidade Saúde Escola da Universidade Federal de São Carlos (USE). Os voluntários foram considerados sedentários, apresentando classificação funcional aeróbia considerada muito fraca, fraca ou razoável segundo a *American Heart Association* (AHA) [60].

Os critérios de exclusão foram apresentar IMC superior a 35 kg/m^2 (obesidade grau II e III), neuropatia autonômica (verificada pelo teste autonômico de respiração profunda e lenta – $E/I < 1,07$ e $\Delta IE < 5 \text{ bpm}$; taquicardia de repouso – frequência cardíaca $> 100 \text{ bpm}$; hipotensão ortostática em reação a mudança postural ativa – redução da pressão arterial sistólica $> 30 \text{ mmHg}$ [61]), indivíduos com anemia, fumantes, etilistas, usuários de drogas ilícitas ou medicamentos que interferissem no tempo de ajuste ao exercício, como beta bloqueadores e anti-depressivos; portadores de doenças cardiovasculares, respiratórias, neurológicas ou disfunções osteo-mio-articulares que impedissem a execução dos testes. Indivíduos do grupo controle foram excluídos se apresentassem membros diretos da família com DM.

2.3.3. Caracterização da amostra

Na anamnese os voluntários foram questionados a respeito da presença de doenças e disfunções dentre elas disfunção urinária, gastrointestinal e erétil, bem como a perda de sensibilidade periférica, que poderiam indicar a presença de neuropatias no grupo com DM. Além disso, foi realizada a avaliação de perda de sensibilidade periférica por meio de estesiometria utilizando-se monofilamento de 10 g [62] e a avaliação da presença de doença vascular periférica, realizando o índice tornozelo-braquial de acordo com as orientações da AHA [63].

A hemoglobina glicada (HbA_{1c}), níveis de insulina de jejum, glicose plasmática de jejum e perfil lipídico foram medidos após 10 a 12 horas de jejum utilizando o analisador *ADVIA 1800 Chemistry System (Siemens, Tarrytown, NY, USA)*. O grau de resistência à insulina foi determinado pelo modelo de avaliação de resistência a insulina (*model assessment of insulin resistance - HOMA-IR*), de acordo com a fórmula: $HOMA-IR = \text{insulina plasmática de jejum } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glicose plasmática de jejum (mmol/L)} / 22.5$ [64].

A composição corporal foi avaliada pelo monitor de composição corporal quadripolar (*modelo BC-558, Tanita Corporation of America Inc., Arlington Heights, IL, USA*) que calcula a gordura corporal, porcentagem corporal de água, massa muscular, gordura visceral e massa óssea. Os voluntários foram orientados a não se alimentar ou ingerir líquidos por 4 horas antes do teste e a urinar imediatamente antes do teste.

2.3.4. Protocolo

Após a sessão de triagem, os voluntários retornaram ao laboratório em outros 5 dias (figura 2). Os participantes foram orientados previamente a não praticar atividades físicas intensas e a não ingerir alimentos e bebidas estimulantes (chá, café, chocolate, refrigerante) no dia anterior ao teste. Todos os testes foram realizados no período da manhã, no mesmo horário do dia.

No primeiro dia, o teste de exercício cardiopulmonar incremental em cicloergômetro (Quinton Corival 400, Seattle, WA, USA) foi realizado para determinar o limiar de anaerobiose ventilatório (LAV) e o $\dot{V}O_{2 \text{ pico}}$. Os voluntários foram orientados a manterem a cadência em 60 rotações por minuto (rpm). O incremento de carga do cicloergômetro foram determinados de acordo com a fórmula proposta por Wasserman *et al.* [65]: Incremento de potência (W) = [altura (cm) – (idade (anos) X 20)] – [150 + (6 X peso corporal (kg))]/100. O $\dot{V}O_{2 \text{ pico}}$ foi obtido a partir da média dos últimos 30 segundos de exercício incremental. Foi considerado que o pico do exercício foi alcançado quando o equivalente de trocas gasosas (RER = $\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$) alcançou valores superiores a 1.1 [66]. A identificação do LAV foi realizada por 3 pesquisadores independentes por meio do método de análise visual gráfica [67].

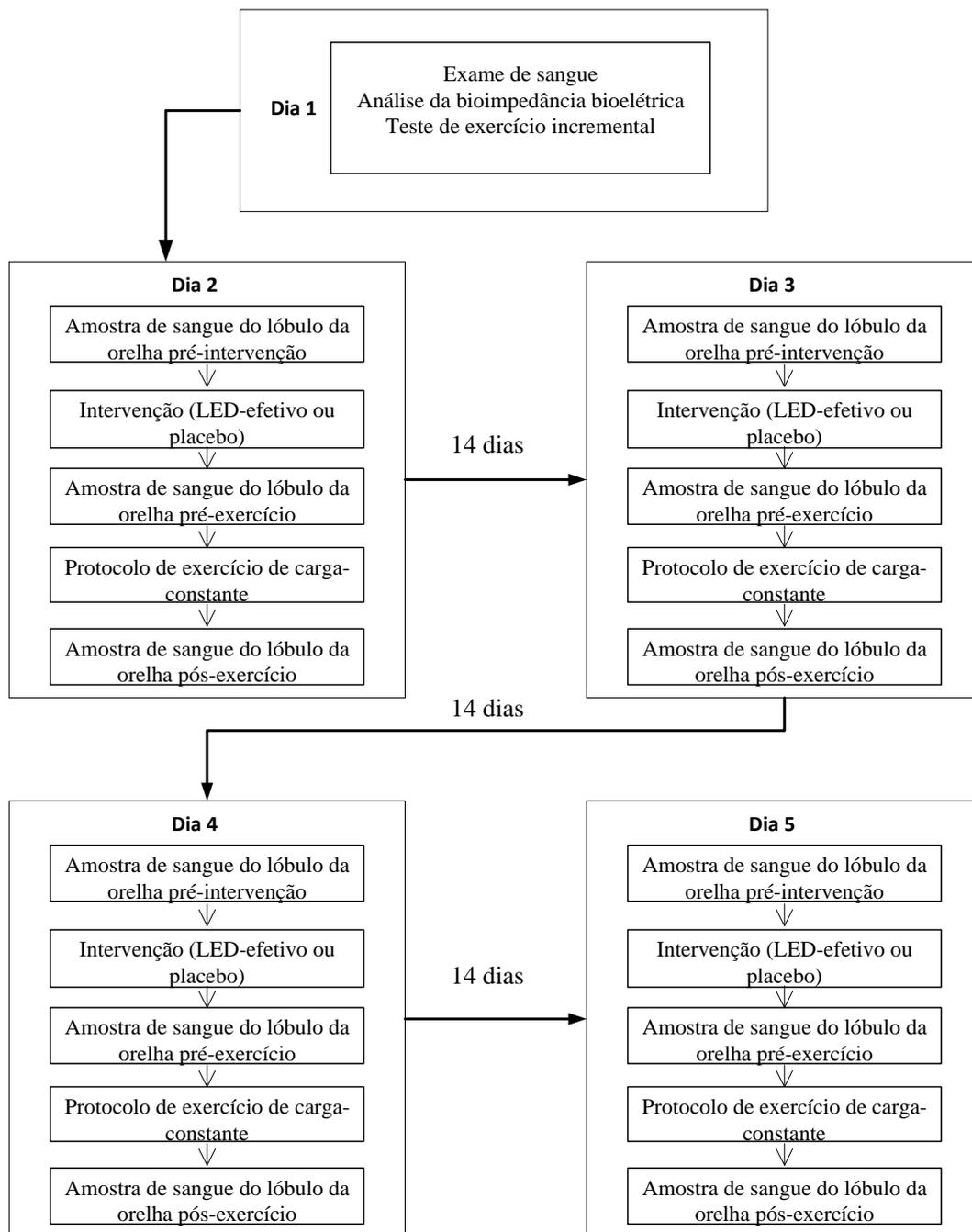


Figura 2. Fluxograma do Procedimento Experimental.

LED – diodos emissores de luz (adaptado de Francisco *et al.* 2015 [58])

Após este teste, foi realizada a aleatorização utilizando envelopes opacos. Os voluntários retornaram ao laboratório quatro vezes para receber a aplicação de fototerapia (LED-efetivo ou placebo) de acordo com a aleatorização (figura 1). Imediatamente após a intervenção os voluntários realizaram o protocolo de carga

constante correspondente a 80% do $\dot{V}O_2$ do LAV. A intervenção foi realizada utilizando uma manta de LED (50 GaAIA LEDs, 850nm, 75mW por LED, e 3J por ponto) (tabela 1) antes de cada sessão de exercício (figura 3 A). Os locais de irradiação foram determinados como os grupos musculares mais recrutados durante o exercício em cicloergômetro (quadríceps femoral e tríceps sural). Assim, a aplicação da fototerapia foi realizada de modo contínuo pela técnica de contato, por 40 segundos, totalizando a dosagem de 150 J sobre todo o ventre do músculo quadríceps femoral e tríceps sural, bilateralmente (figura 3 B e C). A sessão placebo seguiu os mesmos procedimentos, contudo, a manta LED estava desligada embora o visor do tempo funcionasse normalmente. Destaca-se que o protocolo foi duplo-cego, pois o voluntário e o pesquisador que posteriormente realizou a análise dos dados não sabiam a ordem das intervenções com fototerapia.

Tabela 1. Parâmetros da fototerapia

Número de LED	50
Comprimento de onda	850 ± 20nm
Frequência	Saída contínua
Potência de saída	75 mW por LED
Tamanho da saída de luz	0.2 cm ²
Densidade de potência	375 mW/cm ²
Densidade de energia por LED	15 J/cm ²
Energia por LED	3J
Total de energia por grupo muscular	150J
Tempo de tratamento por grupo muscular	40s
Numero de locais de irradiação	2
Total de energia entregue por membro inferior	300J

O protocolo de carga constante foi precedido por um aquecimento com duração de 3 minutos em carga livre. A seguir houve o acréscimo da potência pré-estabelecida correspondente a 80% do $\dot{V}O_2$ do LAV e a duração do exercício foi de 6 minutos. Por fim, houve um desaquecimento em carga livre durante 6 minutos. Durante todo

protocolo de exercício os voluntários mantiveram a cadência de aproximadamente 60 rpm.



Figura 3. Ilustração da aplicação da manta de diodos emissores de luz (LED).
A, manta de LED; B, aplicação no quadríceps; C, aplicação no tríceps sural.

2.3.5. Medidas

O $\dot{V}O_2$, produção de gás carbônico (VCO_2) e a ventilação por minuto (VE) foram medidos respiração a respiração usando um analisador metabólico (Vmax29c, Sensor Medics, Yorba Linda, CA, USA) (figura 4F) previamente calibrado a cada sessão.

O traçado eletrocardiográfico foi continuamente monitorado nas derivações MC5, antes, durante e após o teste por meio de uma interface entre um bioamplificador para sinais de eletrocardiograma (ECG) (*BioAmp Power Lab- Ad Instruments, Castle Hill, NSW, Austrália*) e um sistema de aquisição de sinais biológicos (*Power Lab 8/30 - Ad Instruments, Castle Hill, NSW, Australia*). A pressão arterial de pulso, frequência cardíaca e débito cardíaco foram registrados continuamente durante todo o teste, batimento a batimento, por meio do equipamento Finometer PRO (*Finapres Medical Systems, Amsterdam, Netherlands*) (figura 4G). O sensor inflável para o dedo do Finometer PRO foi acoplado ao dedo médio da mão esquerda (figura 4E). Para correção das variações da pressão hidrostática relacionadas ao coração, foi feita correção de altura de acordo com as recomendações do fabricante [68].

Para avaliar a oxigenação do vasto lateral foi utilizado o espectrômetro com raios no infra-vermelho próximo (NIRS) (*Oxymon System, Artinis Medical Systems, Nijmegen, Netherlands*) (Figura 4H). O NIRS forneceu dados das variações nas concentrações de oxihemoglobina (O_2Hb) e desoxihemoglobina (HHb). O optodo do NIRS (que contém o gerador e detector de luz) foi fixado firmemente por meio de fita adesiva na porção distal do ventre do músculo vasto lateral direito (aproximadamente 15 cm acima da borda proximal da patela). Para evitar artefatos no sinal devido a movimentações e influências da luz ambiente, o optodo foi coberto com um tensor de neoprene preto (figura 4C). Para avaliar a penetração do NIRS foi avaliada a espessura

da camada de tecido adiposo do local de colocação do optodo [69] utilizando um aparelho de ultrassonografia (M-Turbo Ultrasound System, Fujifilm SonoSite, Bothell, WA, USA).

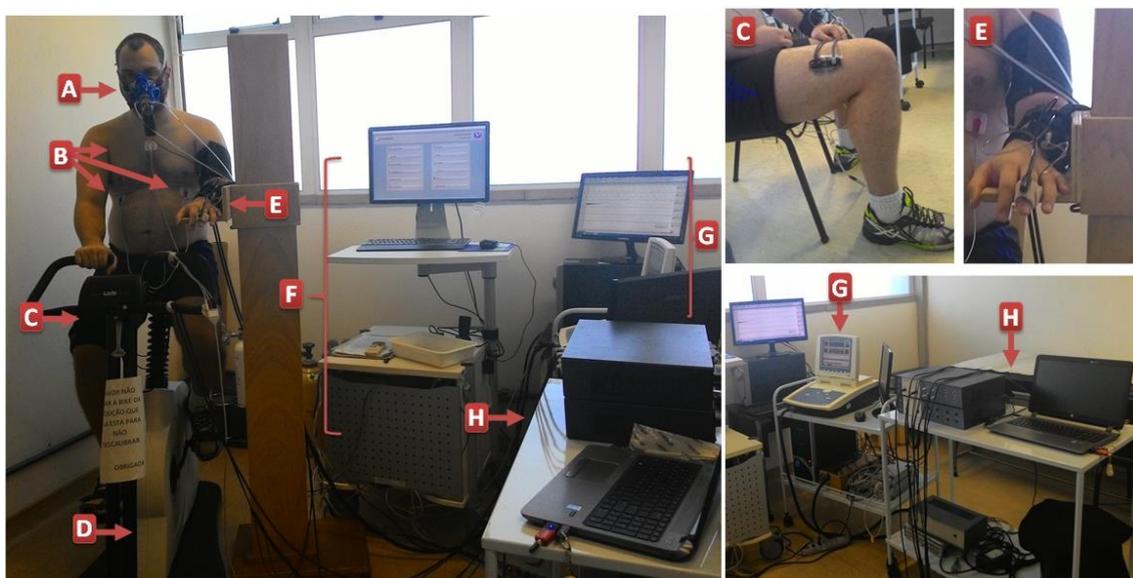


Figura 4. Ilustração do procedimento experimental.

A, máscara para análise de gases; B, eletrodos para monitorização cardíaca; C, optodo vasto lateral; D, cicloergômetro de frenagem eletromagnética (*Corival V3, Lodi BV, Groninger, Netherlands*), E, sensor inflável para o dedo; F, sistema computadorizado de análise ergoespirométrica (*Vmax29c, Sensor Medics, Yorba Linda, CA, USA*); G, pletismografia de pulso (*Finometer PRO, Finapres Medical Systems, Amsterdam, Netherlands*) H: espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) (*Oxymon System, Artinis Medical Systems, Netherlands*).

A figura 5 ilustra a aquisição dos dados realizados nos testes de carga constante.

A partir destes foram realizados os ajustes de tempo, sincronizando todos os dados para processamento das cinéticas.

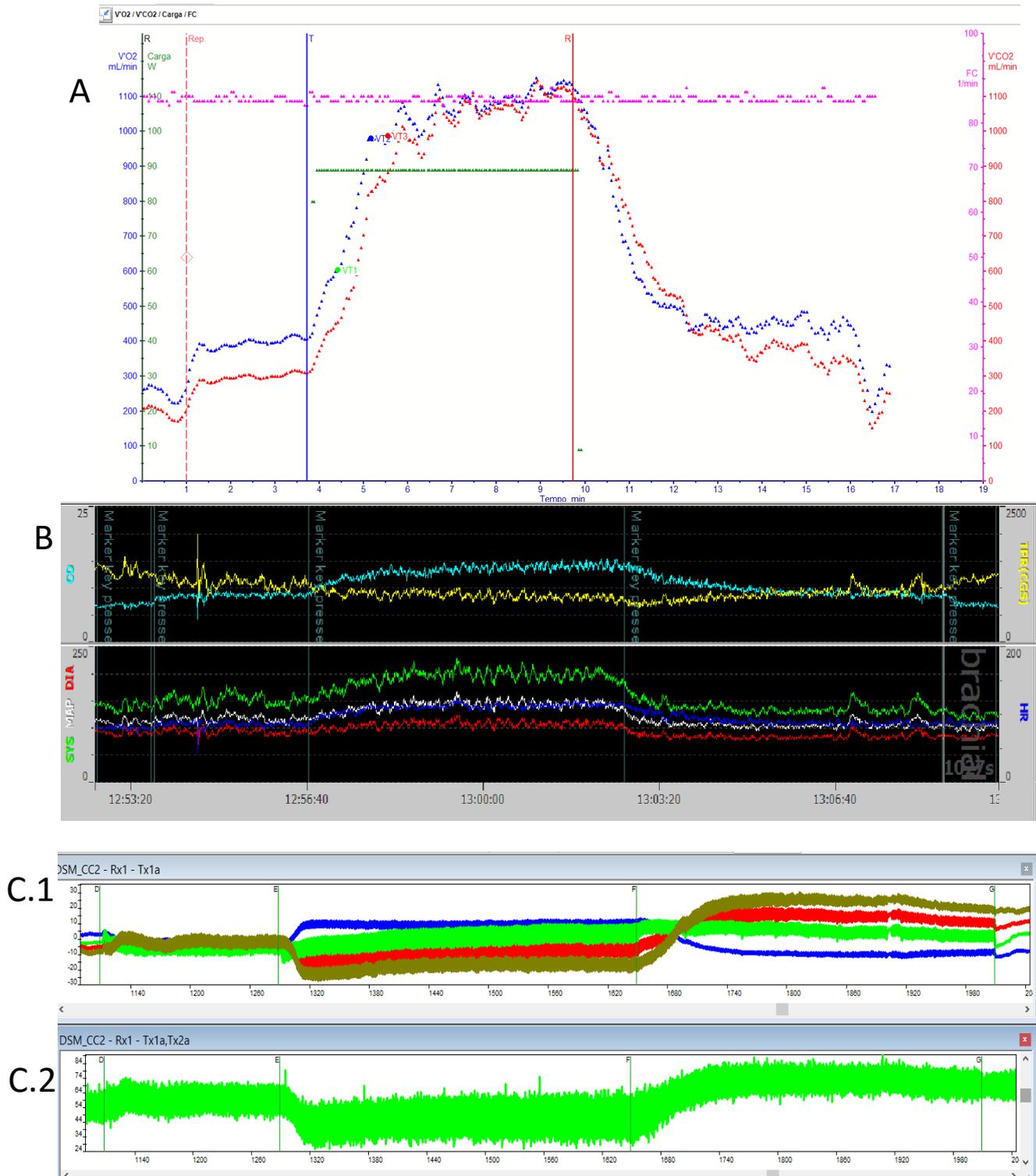


Figura 5. Ilustração da aquisição dos dados por meio dos equipamentos Vmax Encore 29c (A), Finometer PRO (B) e Oxymon (C) durante protocolo de carga constante.

(A) VO2 (em azul) e VCO2 (em vermelho). (B) SYS, pressão arterial sistólica (em verde); DIA, pressão arterial diastólica (em vermelho); HR, frequência cardíaca (em azul escuro). (C.1) Oxihemoglobina (em vermelho), desoxihemoglobina (em azul), hemoglobina total (em verde) e diferença entre as hemoglobinas em bege) (C.2) índice de saturação tecidual (em verde)

Amostras de sangue foram coletadas antes e após a intervenção com fototerapia e após o protocolo de carga constante por meio da punção do lóbulo da orelha utilizando lancetas estéreis para análise das concentrações de glicose e lactato. As amostras foram processadas por meio de um analisador de glicose e lactato (*YSI 2300 STAT PLUS – Yellow Springs Instruments - Yellow Springs, OH, USA*) previamente calibrado de acordo com as instruções do fabricante.

2.3.6. Procedimentos de análise de dados

Os dados de $\dot{V}O_2$, HHb, FC e DC obtidos nos testes de carga constante foram submetidos às análises tradicionais da cinética no domínio do tempo como descrito em outros estudos [9, 70-72].

A análise da cinética é uma ferramenta utilizada para avaliar a dinâmica dos ajustes durante a transição do exercício, fornecendo principalmente informações sobre a velocidade de ajuste das variáveis avaliadas [73]. Essa metodologia indica a eficiência da resposta cardiorrespiratória e hemodinâmica para certa carga de trabalho aplicada [73, 74].

No presente estudo avaliou-se a transição do exercício leve para o exercício moderado. Nesse tipo de protocolo as variáveis cardiovasculares e hemodinâmicas apresentam uma fase não estável (transição exercício leve para exercício moderado) e uma fase em que as respostas tendem a estabilizar (fase de estado-estável ou de equilíbrio) [50, 75].

No início do exercício ocorre a fase 1, denominada fase cardiodinâmica, em que há o aumento do débito cardíaco e do fluxo sanguíneo no pulmão e na musculatura periférica recrutada [76, 77], mas isso não reflete o consumo de oxigênio muscular devido a um atraso atribuído ao tempo que o metabolismo oxidativo intracelular

demora para se ajustar às novas necessidades metabólicas impostas pelo exercício [78, 79]. Nesse período de transição, a ativação da respiração mitocondrial na musculatura recrutada pelo exercício físico não aumenta imediatamente e ocorre uma queda da pressão de oxigênio na microvasculatura desses grupamentos musculares [80, 81]. Além disso, a distribuição do fluxo sanguíneo pode contribuir para as limitações no transporte de oxigênio para o músculo [82]. Após a fase de transição, há aumento do $\dot{V}O_2$ (fase 2), consequente à cardioaceleração e à contração da musculatura ativa, o que gera aumento do retorno venoso. Em seguida, ocorre a fase 3 que é caracterizada pelo estado de equilíbrio em que as trocas gasosas pulmonares estão iguais as celulares [75].

Todas as variáveis utilizadas para as análises foram interpoladas segundo a segunda e seus gráficos foram plotados para análise visual da qualidade do sinal. Os sinais com alta relação sinal-ruído que impossibilitariam a adequada modelagem dos dados foram excluídos da análise. Os dados obtidos em duas repetições do protocolo de carga constante, referente a cada uma das condições experimentais (LED-efetivo e placebo), foram tempo-alinhados e então foram feitas curvas médias dos dados.

As curvas de $\dot{V}O_2$, FC e DC foram submetidos às análises tradicionais da cinética utilizando-se o software *SigmaPlot 11.0*. Foram utilizados para a modelagem das respostas os 60 segundos finais na intensidade leve para determinação da linha de base e os 360 segundos após a transição para a intensidade moderada. Os 20 primeiros segundos após a transição foram apagados para remover o efeito do aumento inicial do retorno venoso pelo bombeamento muscular (componente cardiodinâmico) [83]. A análise da cinética foi realizada utilizando o seguinte modelo monoexponencial:

$$f(t) = a_0 + a (1 - e^{-(t-TD)/\tau})$$

Nesta função 'f(t)' representa $\dot{V}O_2$, FC ou DC em qualquer momento (t); 'a₀' é o valor da linha de base correspondente ao valor médio no último minuto antes do início de

carga correspondente a 80% do limiar de anaerobiose ventilatório; ‘a’ é a magnitude do estado estável após a linha de base; ‘ τ ’ é a constante de decaimento exponencial, isto é, o tempo necessário para alcançar 63% da amplitude; e ‘TD’ é o tempo de atraso da função ou *time delay*. A média de tempo de resposta (MTR) foi calculada somando-se o τ e o TD [84, 85]. A figura 5 ilustra a análise da cinética do $\dot{V}O_2$, FC e DC.

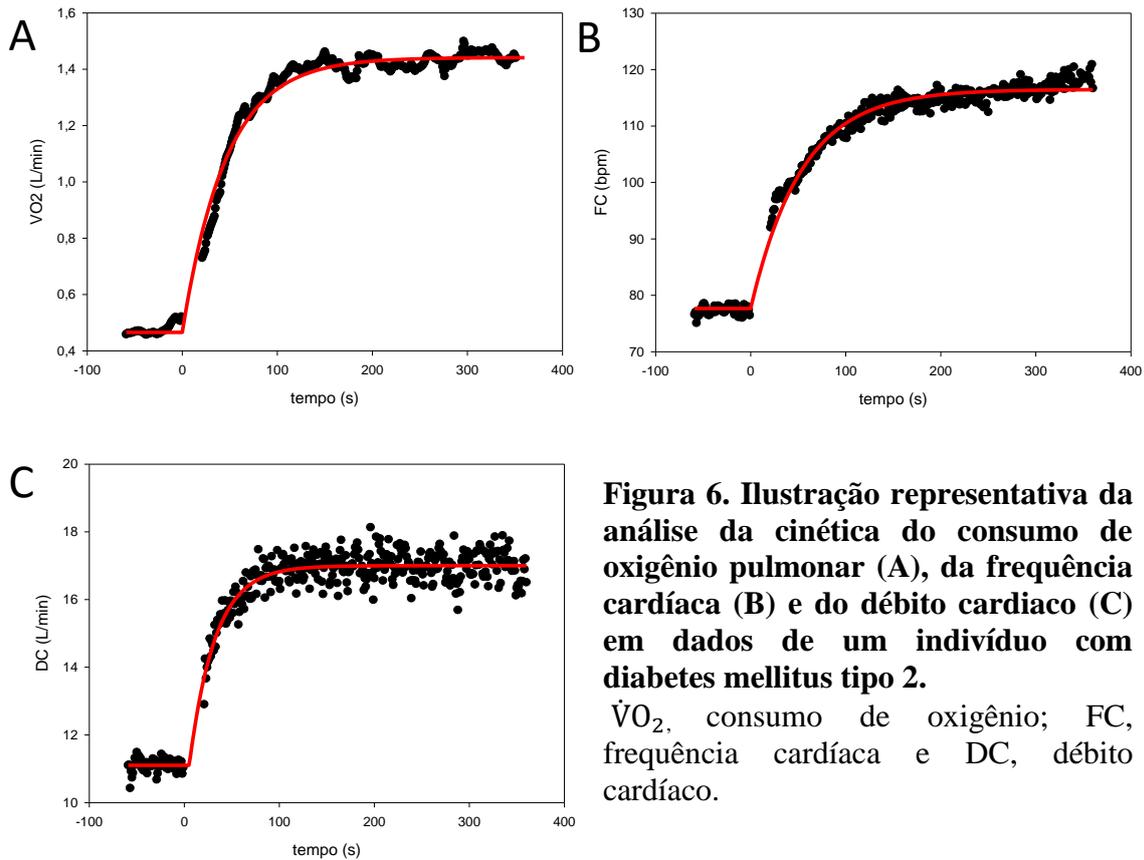


Figura 6. Ilustração representativa da análise da cinética do consumo de oxigênio pulmonar (A), da frequência cardíaca (B) e do débito cardíaco (C) em dados de um indivíduo com diabetes mellitus tipo 2.

$\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; FC, frequência cardíaca e DC, débito cardíaco.

Para avaliar a cinética dos ajustes da HHb utilizou-se o método descrito por Murias *et al.* (2011) [86] em que utiliza-se a mesma função monoexponencial descrita acima, contudo a curva da HHb foi plotada a partir do incremento exponencial do sinal, associado as mudanças do volume de sangue capilar. A exclusão da primeira porção dos dados ocorreu para retirar a influência dos dados não associados à dinâmica do $\dot{V}O_2$ pulmonar, visto que a fase cardiodinâmica (fase I) da resposta refere-se ao bombeamento de sangue pela contração muscular, caracterizado pela redução da HHb

seguida pelo rápido incremento exponencial em consequência da dinâmica do $\dot{V}O_2$ [86, 87]. Os dados foram normalizados pela porcentagem da resposta e foi obtida a curva média resultante dos dados dos dois testes realizados na mesma condição experimental. A figura 6 ilustra a análise da cinética da HHb.

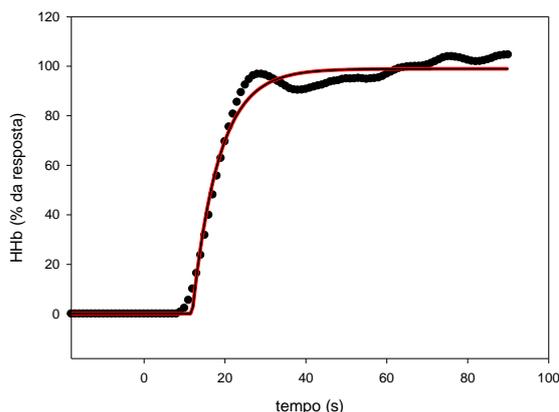


Figura 7. Ilustração representativa da análise da cinética da desoxihemoglobina (HHb) do vasto lateral em dados de um indivíduo com diabetes mellitus tipo 2.

2.4. DISCUSSÃO

O efeito crônico da fototerapia tem sido amplamente estudado, mostrando resultados promissores relacionados ao aumento do $\dot{V}O_{2 \text{ pico}}$, redução da fadiga e concentrações de lactato [38, 41, 42, 56]. Esta ferramenta terapêutica geralmente é estudada em indivíduos saudáveis [38, 41, 53, 54, 56]; contudo, os efeitos agudos da fototerapia ainda são desconhecidos em indivíduos com DM e seu impacto na dinâmica do $\dot{V}O_2$ pulmonar, HHb e glicose ainda precisam ser esclarecidos.

Os efeitos do tratamento com LED pode ser benéfico para indivíduos com DM visto que a intolerância ao exercício nesta população reduz a qualidade de vida e ainda aumenta o risco cardiovascular. Assim, a proposta desse ensaio clínico aleatorizado é avaliar os efeitos agudos do LED na dinâmica das variáveis cardiovasculares, hemodinâmicas e metabólicas em sujeitos com DM e saudáveis. Os resultados irão

elucidar os efeitos da fototerapia por meio de LED e poderão dar suporte para o uso dessa terapia em indivíduos com DM.

3. ESTUDO 1

(Versão em português com inclusão de ilustrações)

Título: Efeito da terapia com diodos emissores de luz (LED) nos níveis de glicose e ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos durante o exercício aeróbio em pacientes com diabetes mellitus: estudo aleatorizado controlado.

Submetido ao periódico *Lasers in Medical Science*

3. ESTUDO 1

“Efeito da terapia com diodos emissores de luz (LED) nos níveis de glicose e ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos durante o exercício aeróbio em pacientes com diabetes mellitus: estudo aleatorizado controlado”

3.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo da terapia com LED nas concentrações de glicose antes e depois do exercício físico, bem como, na dinâmica do $\dot{V}O_2$, HHb, FC e DC durante o exercício dinâmico moderado em cicloergômetro em pacientes com DM e saudáveis. Os grupos DM e saudável (GDM n=16 e GS, n=9, respectivamente) foram pareados pela idade e IMC. Quatro testes separados foram realizados e todos os participantes receberam as intervenções (LED ou placebo) em ordem aleatória com pelo menos 14 dias de intervalo entre as sessões. A intervenção foi aplicada na pele com uma manta flexível com LED (50 GaAIAs LEDs, 850nm, 75mW por LED) bilateralmente nos músculos quadríceps femoral e no tríceps sural por 40 s em cada grupo muscular irradiado. Após a intervenção, um exercício moderado foi realizado. As concentrações de lactato e glicose foram medidas antes e imediatamente após o LED/placebo e após o exercício. O $\dot{V}O_2$, HHb, FC e DC foram medidos durante o exercício para posterior análise. O LED reduziu significativamente as concentrações de glicose no GDM após o exercício, comparado com os valores antes e após a intervenção (p=0,009 e p=0,035; respectivamente) e não afetou os níveis de lactato e os ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos ao exercício aeróbico em ambos os grupos. Como conclusão, o LED em combinação com o exercício moderado reduz de forma aguda os níveis de glicose em homens adultos com DM. Nossos resultados

mostram o potencial terapêutico da fototerapia com LED em combinação com exercício aeróbico no controle glicêmico em indivíduos com DM.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 2, fototerapia, diodos emissores de luz, exercício físico, cinética, desoxigenação muscular, consumo de oxigênio pulmonar.

3.2 INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus tipo 2 (DM) é uma doença metabólica caracterizada pela hiperglicemia resultante de defeitos na ação de insulina, sendo a forma mais comum do diabetes, atingindo cerca de 90-95% dos casos [1, 47]. O DM é associado com inúmeras complicações em longo prazo, dentre elas disfunções em nervos, coração e vasos sanguíneos. Como consequência, o DM está associado à alta incidência de hipertensão arterial, doenças cardiovasculares ateroscleróticas e doença vascular periférica [1, 47].

O controle glicêmico no DM é realizado por meio de dieta, medicações e exercício físico, sendo estes fatores chave na prevenção das complicações em longo prazo [5, 88, 89]. Os benefícios do exercício físico regular na prevenção ou redução das complicações do DM são bem documentados [5, 90]. Contudo, a aderência dos pacientes com DM em programas de exercício é reduzida [91, 92]. A baixa tolerância ao exercício físico [8, 9, 93] e a fadiga muscular prematura [7, 93] são apontados como as principais razões para a aderência reduzida nessa população [92].

Devido a estimulação ou inibição de algumas funções químicas em nível celular, muitos estudos têm mostrado que a fototerapia por meio de laser de baixa intensidade ou utilizando LED poderia agudamente melhorar a tolerância ao exercício [38, 43, 94] e a função muscular com aumento da resistência e redução da fadiga [32] em indivíduos saudáveis.

A utilização da fototerapia prévia ao exercício físico previne lesões do tecido muscular induzidas pelo exercício e aceleram a recuperação do mesmo [32], além de aumentar a potência aeróbia, avaliada por meio do $\dot{V}O_2$ pico [43, 95], e o fluxo sanguíneo local [23]. Por esse motivo, sua utilização poderia ser útil para melhorar a função

muscular e capacidade ao exercício físico em pessoas com DM [96], podendo ter efeitos positivos na capacidade funcional e qualidade de vida [58].

Sendo assim, para verificar o potencial ergogênico da fototerapia com LED em indivíduos com DM, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos agudos dessa terapia nas concentrações de glicose e nos ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos durante a transição do exercício físico de intensidade leve para moderada em indivíduos com DM e saudáveis. Nossa hipótese é que a fototerapia será capaz de modificar as concentrações de glicose e melhorar os ajustes de $\dot{V}O_2$, FC, DC e HHb durante a transição do exercício físico leve para moderado.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Participaram do estudo vinte e cinco sujeitos, dezesseis no GDM e nove no GS. A figura 8 ilustra o fluxograma de perdas do presente estudo em que foram avaliados para elegibilidade 409 voluntários. Os medicamentos utilizados pelos participantes do estudo para o tratamento do DM eram a metformina, glicazida e/ou insulina. Além dos medicamentos para controle glicêmico, sete voluntários (43,7% da amostra) faziam uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina para o tratamento de hipertensão arterial, quatro voluntários (25% da amostra) usavam sinvastatina para controle da dislipidemia e dois voluntários (12,5% da amostra) utilizavam ciprofibrato para controle de hipertrigliceridemia.

O desenho do estudo bem como o procedimento experimental utilizado estão descritos no tópico 2 dessa tese.

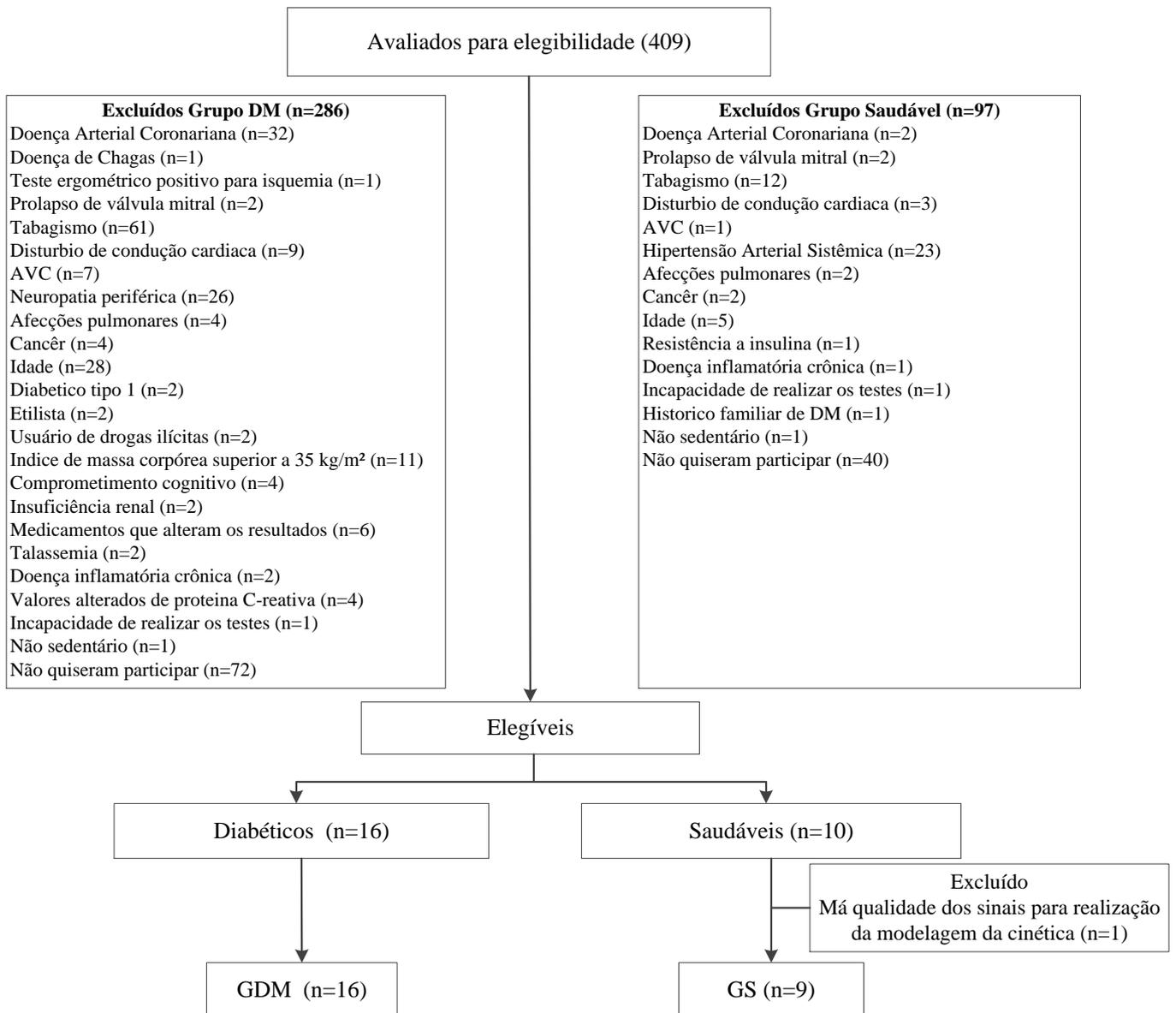


Figura 8. Fluxograma de perdas

3.3.1 Análise estatística

Os dados foram expressos como mediana e os valores mínimos e máximos. As comparações entre os grupos (GDM e GS) foram realizadas utilizando o teste de *Mann-Whitney*. As comparações intra-grupos entre as intervenções LED-efetivo e LED-placebo foram realizadas utilizando o teste de *Wilcoxon*.

As comparações intra-grupo entre as medidas dos níveis de lactato e glicose foram realizadas utilizando *ANOVA* one-way de medidas repetidas. Quando a condição

de esfericidade testada pelo teste de *Mauchly* foi satisfeita, as comparações múltiplas foram realizadas por meio do teste F, do contrário, foi utilizado o traço de *Hotteling*. Em ambos os casos, o *post hoc* de *Bonferroni* foi utilizado.

Foi adotado nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* SPSS 17.0 (*IBM Company, USA*).

3.4 RESULTADOS

A tabela 2 mostra as características clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo. Os grupos apresentaram idade, massa corpórea, IMC e porcentagem de gordura corporal semelhantes. Com relação às variáveis cardiovasculares em repouso e no teste de esforço cardiopulmonar, não houve diferenças estatísticas nos valores de pressão arterial sistólica e diastólica de repouso, FC de repouso, $\dot{V}O_2$ pico e carga de trabalho pico. Como esperado, os testes laboratoriais apresentaram diferenças entre os grupos, sendo que o GDM apresentou maiores valores na hemoglobina glicada, insulina basal, glicose basal e HOMA.

Como mostrado pelos valores da MRT (tabela 3), o grupo DM apresentou ajustes mais lentos de $\dot{V}O_2$ e de FC que o grupo saudável, independente da intervenção.

Em relação aos níveis de glicose, o GS apresentou redução significativa após o exercício comparada às concentrações obtidas imediatamente após a intervenção placebo ($p < 0.05$) (figura 9A). Na sessão de LED-efetivo não foram observadas diferenças nas comparações entre as medidas realizadas ao longo da sessão (medidas pré- intervenção, pós-intervenção e pós-exercício) (figura 9A). No GDM, LED-efetivo reduziu os níveis de glicose imediatamente após a intervenção e após o exercício, contudo somente as comparações com os valores pós-exercício foram significativas (figura 9B). Não foram encontradas diferenças nas comparações entre as medidas

realizadas ao longo da sessão placebo. Em ambos os grupos, não foram verificadas diferenças nas comparações dos níveis de glicose entre as sessões de LED placebo v.s. efetivo (figura 7).

Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados

	GS	GDM
N	9	16
Idade (anos)	51 (45 - 61)	55 (46 - 64)
Duração do Diabetes (anos)	-	8 (2 - 20)
Massa Corporal (Kg)	78,7 (73 - 100,8)	85,1 (73,3 - 94,4)
Porcentagem de gordura (%)	25,9 (19,7 - 26,9)	25,5 (21,7 - 33,5)
IMC (kg/m²)	27,6 (25,4 - 32,6)	29,1 (24,2 - 32)
FC de repouso (bpm)	74 (52 - 94)	74 (64 - 109)
PAS de repouso (mmHg)	141 (105 - 149)	136 (115 - 191)
PAD de repouso (mmHg)	79 (60 - 88)	76 (60 - 94)
VO₂ pico (mL·kg⁻¹·min⁻¹)	21,8 (19,8 - 31,8)	19,8 (13,3 - 31,4)
Carga de trabalho pico (W)	154 (130 - 227)	134 (77 - 185)
HbA_{1c} (%)	5,2 (4,5 - 5,6)	7,5 (5,0 - 10,4) ^a
Insulina basal, µU/ml	7,8 (5,5 - 15,4)	13,1 (7,0 - 71,6) ^a
Glicose basal, mg/dl	108 (87 - 121)	144 (77 - 302) ^a
HOMA, %	2,1 (1,3 - 3,3)	3,7 (2,3 - 53,4) ^a

GS, grupo saudável; GDM, grupo diabético, IMC, índice de massa corpórea; FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; VO₂, consumo de oxigênio; HbA_{1c}, hemoglobina glicada; HOMA, avaliação de resistência a insulina.

^a p<0,05; Nível de significância de 5% utilizando o teste de *Mann-Whitney*.

Tabela 3. Parâmetros da cinética do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, débito cardíaco e desoxihemoglobina

	GS		GDM	
	LED-placebo	LED-efetivo	LED-placebo	LED-efetivo
Linha de base $\dot{V}O_2$ (l/min)	0,44 (0,36 - 0,56)	0,44 (0,38 - 0,57)	0,45 (0,43 - 0,56)	0,48 (0,42 - 0,55)
Amplitude $\dot{V}O_2$ (l/min)	0,48 (0,39 - 0,82)	0,54 (0,41 - 0,85)	0,48 (0,27 - 0,98)	0,47 (0,29 - 1,00)
MTR $\dot{V}O_2$ (s)	38,4 (29,1 - 47,4)	37,4 (26,4 - 56,8)	47,4 (32,9 - 66,9) ^a	49,4 (36,0 - 63,6) ^b
Linha de base FC, bpm	75 (57 - 93)	73 (58 - 87)	75 (66 - 106)	80 (59 - 96)
Amplitude FC, bpm	23 (12 - 27)	22 (14 - 27)	18 (13 - 39)	18 (12 - 39)
FC MTR (s)	31,1 (12,1 - 67,5)	27,4 (4,0 - 51,4)	45,4 (25,5 - 67,7) ^a	41,3 (23,9 - 64,2) ^b
DC MTR (s)	34,3 (21,1 - 48,8)	34,7 (29,7 - 52,0)	47,5 (18,8 - 74,8)	43,4 (24,0 - 63,9)
MTR [HHb] (s)	19,8 (18,0 - 26,0)	21,0 (17,1 - 24,2)	22,1 (15,4 - 27,0)	22,1 (15,1 - 25,8)

Os dados estão apresentados em medianas e valores mínimos e máximos. GS, grupo saudável; GDM, grupo diabético; $\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; MTR média do tempo de resposta; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; HHb desoxihemoglobina. ^a P<0.05 LED-placebo no GS vs LED-placebo no GDM utilizando o teste de *Mann-Whitney*; ^b P<0.05 LED-efetivo no GS vs LED-efetivo no GDM utilizando teste de *Mann-Whitney*.

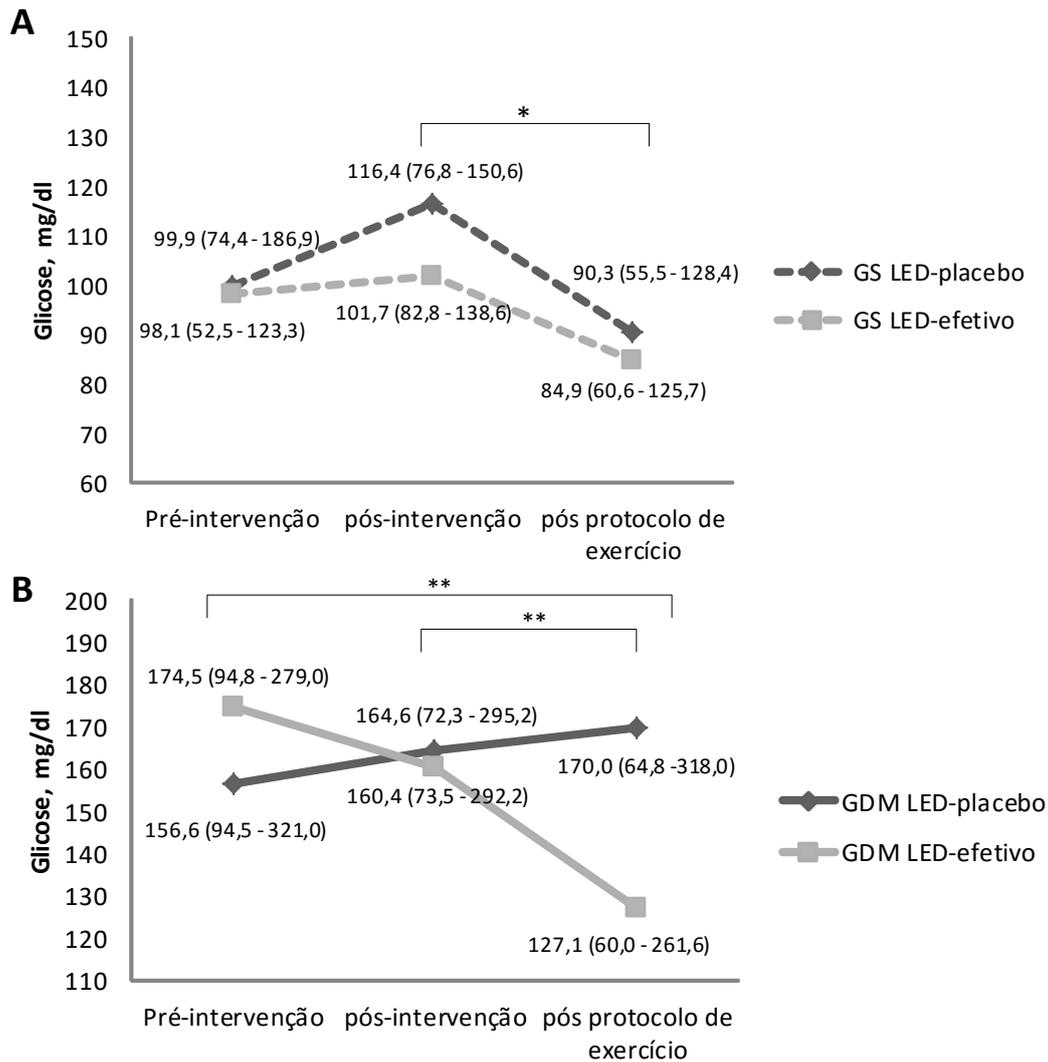


Figura 9. Concentrações de glicose pré-intervenção (LED-placebo e LED-Efetivo), pós-intervenção e depois do protocolo de exercício. (a) concentrações de glicose no grupo saudável (GS) e (b) no grupo diabético (GDM).

* $P < 0,05$ nas comparações na intervenção LED-placebo utilizando ANOVA de medidas repetidas; ** $P < 0,05$ nas comparações na intervenção LED-efetivo utilizando ANOVA de medidas repetidas.

A comparação dos níveis de lactato no GS não mostrou diferenças nas comparações entre as sessões ou ao longo das sessões para as intervenções LED-efetivo ou placebo (figura 10A). No GDM as concentrações de lactato após intervenção foram menores que as concentrações pré intervenção, tanto no LED-efetivo quanto no placebo. Ainda no GDM, não foram observadas outras diferenças nas comparações entre as medidas realizadas ao longo da sessão ou entre as sessões (figura 10B).

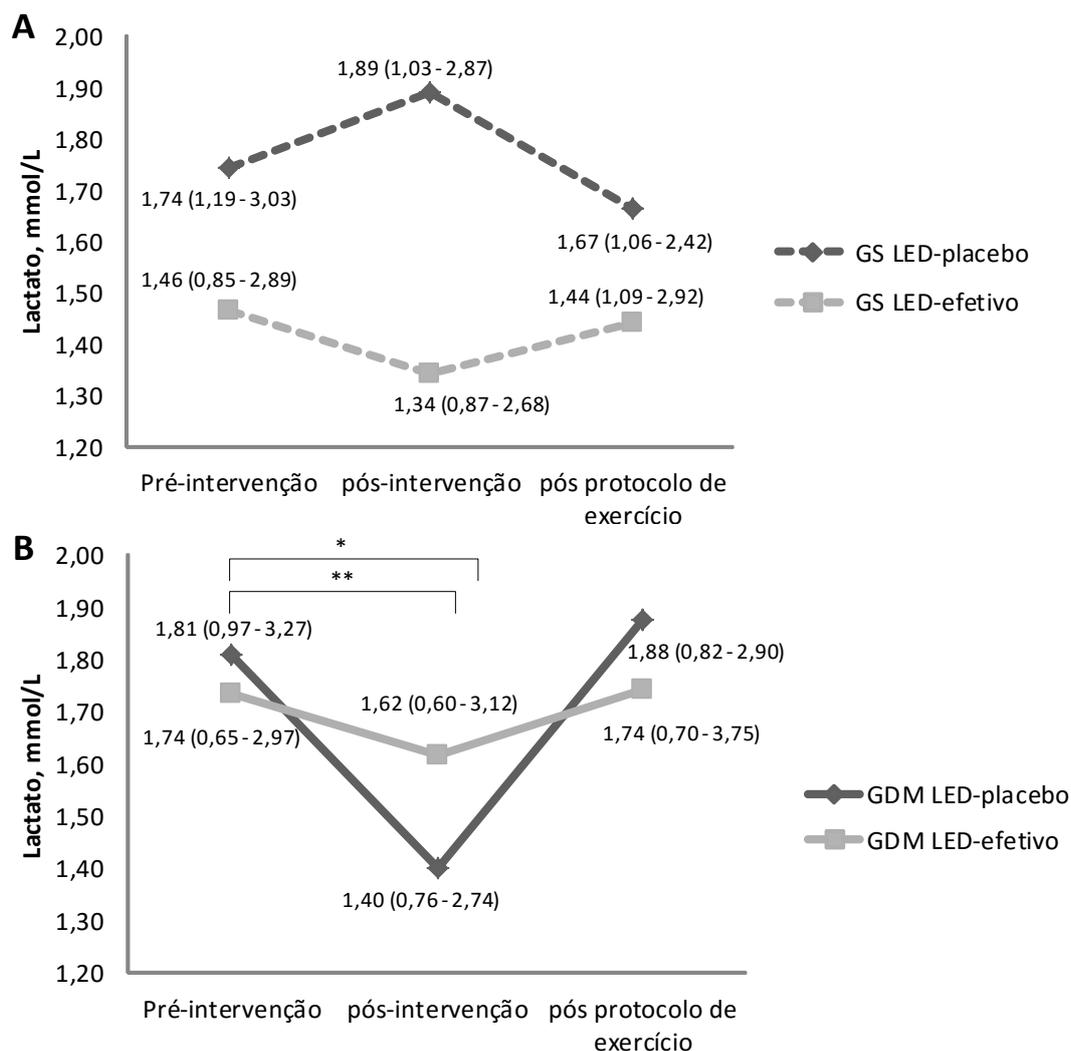


Figura 10. Concentrações de lactato pré-intervenção (LED-placebo e LED-Efetivo), pós-intervenção e depois do protocolo de exercício. (A) concentrações de glicose no grupo saudável (HS) e (B) no grupo diabético.

* $P < 0,05$ nas comparações na intervenção LED-placebos utilizando ANOVA de medidas repetidas; ** $P < 0,05$ nas comparações na intervenção LED-efetivo utilizando ANOVA de medidas repetidas

3.5 DISCUSSÃO

A fototerapia por meio de LASER de baixa intensidade e LED tem sido explorada em medicina do esporte com o intuito de melhorar a recuperação muscular, capacidade de exercício e desempenho físico. Novas abordagens estão surgindo a respeito do potencial terapêutico dessas fontes de luz em doenças em que ocorre o

comprometimento muscular e/ou intolerância ao exercício [44, 58, 96]. Segundo nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a avaliar o efeito da fototerapia nos níveis de glicose, bem como nos ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos de indivíduos com DM e saudáveis.

O principal achado do presente estudo foi que o tratamento com LED reduziu significativamente os níveis de glicose no GDM sem causar efeitos na dinâmica cardiorrespiratória. O DM é caracterizado por hiperglicemia [1] sendo que o controle glicêmico é um elemento chave para reduzir as complicações e melhorar a qualidade de vida desta população. Em nosso estudo, o LED associado ao exercício físico moderado reduziu significativamente os níveis de glicose.

Alguns estudos têm mostrado em diabéticos o efeito de uma única sessão de exercício físico moderado na redução das concentrações de glicose, atribuindo esses efeitos a redução da produção de glicose hepática, melhora da sensibilidade à insulina e aumento da expressão da proteína GLUT-4, que é um carreador de glicose independente da insulina [90, 97, 98]. Contudo esses efeitos têm sido observados em sessões de exercício com duração prolongada (30 a 70 min) [97, 98]. No presente estudo, o GDM apresentou redução dos níveis glicêmicos após o exercício físico moderado de curta duração somente na sessão em que os voluntários receberam previamente a fototerapia. Assim, a fototerapia parece ter influenciado a homeostase da glicose, contudo nossos dados não permitem determinar qual a via metabólica responsável por esses resultados.

Com relação aos níveis de glicose no GS, foi observada a redução da concentração após o exercício comparada com a concentração somente após a intervenção placebo. Apesar de no GS não ter havido diferenças nas comparações entre as sessões, a magnitude das variações das concentrações de glicose após a intervenção placebo foram maiores que na intervenção efetiva. Uma possível explicação é que o

LED-efetivo possa reduzir as oscilações dos níveis de glicose, concordando com a hipótese acima mencionada de que a fototerapia possivelmente atue em mecanismos associados à homeostase da glicose.

Sene-Fiorese *et al.* [99] observaram em mulheres obesas que a fototerapia com equipamento utilizando 16 LASERS com comprimento de onda de 808nm e dosagem de energia de 768J por local irradiado aplicada após protocolo de exercício aeróbio, com frequência de 3x/semana durante 20 semanas, reduziu o HOMA e a insulina basal no grupo tratado em comparação com o placebo. Nesse estudo os valores de glicose não foram afetados pela fototerapia, contudo as participantes apresentavam valores de glicose sanguínea de jejum dentro dos limites considerados normais (abaixo de 100 mg/dl). Apesar das inúmeras diferenças em relação ao desenho experimental e população avaliada, o estudo de Sene-Fiorese *et al.* [99] indica que a fototerapia reduz a inflexibilidade metabólica, e talvez o mecanismo de ação para redução da glicose observada em nosso estudo esteja associado à melhora da resistência a insulina, contudo investigações são necessárias para determinar os mecanismos envolvidos com a ação da fototerapia na homeostase da glicose.

Apesar do GDM utilizar fármacos para o tratamento da hiperglicemia, nossos resultados são consistentes visto o desenho experimental do estudo em que todos os voluntários realizaram ambas as intervenções (LED-efetivo e placebo); além disso, as medicações não foram alteradas ao longo da participação no estudo; e a ordem das intervenções foram aleatorizadas.

Considerando os níveis de lactato, uma revisão sistemática recente de Leal Junior *et al.* (2015) [32], a respeito do efeito da fototerapia no desempenho físico e em marcadores metabólicos, mostrou que dos 6 estudos inclusos avaliando o lactato sanguíneo em protocolos com saudáveis 3 estudos [41, 42, 56] mostravam reduções

significativas das concentrações de lactato quando comparado ao placebo. Os fatores associados à ineficácia da fototerapia em reduzir o lactato foram a pequena área irradiada (4 pontos no bíceps ou 2 pontos no quadríceps) e baixas doses de energia (20J no bíceps ou 83,4J no músculo reto femoral) [32, 39, 40, 100] . O nosso estudo também não encontrou modificações nos níveis de lactato, embora tenha utilizado uma grande área de irradiação e maior dosagem (manta com 50 LEDs e dosagem de 150J por grupo muscular).

Por outro lado, os estudos disponíveis na literatura utilizam protocolos de exercício de alta intensidade [32, 38-40, 54, 100] que causam um grande aumento na produção de lactato. No presente estudo foi realizado um protocolo de exercício moderado e os níveis de lactato não aumentaram significativamente em comparação a linha de base. Assim, é possível que a ausência de efeito nas concentrações de lactato sanguíneo seja decorrente da intensidade de exercício realizada, uma vez que os níveis de lactato não se modificaram significativamente após o exercício físico. Adicionalmente, no GDM os níveis de lactato reduziram significativamente após ambas as intervenções (efetivo e placebo) e por esse motivo não parece ser devido ao efeito da fototerapia.

A respeito da resposta ao exercício físico, o GDM apresentou ajustes mais lentos da dinâmica do $\dot{V}O_2$ e FC comparados ao GS, independente da intervenção. Esses resultados estão concordantes com estudos prévios [9, 57, 101-103]. O LED-efetivo não alterou agudamente os parâmetros da cinética do $\dot{V}O_2$, FC e DC. Estudos anteriores utilizando fototerapia prévia ao teste de exercício cardiopulmonar com indivíduos saudáveis não encontraram nenhuma diferença no $\dot{V}O_2$ ou nas respostas cardiovasculares (FC e pressão arterial) no limiar de anaerobiose [38, 43] em concordância com nossos achados que foram avaliados os ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos usando

um protocolo de exercício moderado. Por outro lado, esses estudos mostraram melhora no $\dot{V}O_2$ pico após a fototerapia [38, 43, 44], indicando que nos estudos citados os parâmetros cardiopulmonares foram afetados pela fototerapia somente em altas intensidades de exercício.

Os melhores parâmetros a serem utilizados em aparelhos de fototerapia com LASER ou LED, para induzir a melhora do desempenho no exercício físico em indivíduos com DM, ainda permanece desconhecido. Recentemente, Leal Junior *et al.* [32] mostraram em uma revisão sistemática que os resultados positivos e consistentes em indivíduos saudáveis foram obtidos utilizando fototerapia com um amplo comprimento de onda (640 - 850 nm), doses de 0,3 a 41,7J por ponto de luz e potência de saída de 10 a 200mW por ponto de luz. Nosso estudo utilizou parâmetros dentro das faixas descritas e não encontrou modificações em relação ao desempenho no exercício físico, em ambos os grupos. Contudo, este é o primeiro estudo a avaliar os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos durante exercício físico moderado. Embora os estudos disponíveis que avaliaram efeito agudo da fototerapia em parâmetros cardiovasculares bem como nos níveis de lactato tenham utilizado protocolos de exercício físico de alta-intensidade, visto as reduções no desempenho físico dos indivíduos com diabetes, estes possuem dificuldade de realizar e manter altas intensidades de exercício. Assim, pesquisas com intensidade de exercício moderada possibilitam a aplicação e a utilização destes protocolos dentro da realidade clínica desses indivíduos. Por outro lado, mais estudos investigando diferentes parâmetros e intensidades de exercício em pessoas saudáveis e com DM precisam ser conduzidos para fornecer melhor subsídio teórico para o uso da fototerapia.

Concluimos que a fototerapia com LED em combinação com exercício físico moderado reduz agudamente os níveis de glicose em homens adultos com DM e não

afeta os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos no exercício aeróbico. Nossos resultados mostram, pela primeira vez, o potencial terapêutico da fototerapia associado a outras estratégias terapêuticas, como o exercício físico, no controle da hiperglicemia no DM. Este resultado pode ampliar as opções terapêuticas no tratamento do DM.

4. ESTUDO 2

(Versão em português)

Título: Efeito agudo de duas doses de fototerapia aplicadas antes do exercício moderado na cinética de parâmetros cardiorrespiratórios e hemodinâmicos e em marcadores metabólicos em pacientes com diabetes mellitus tipo 2

A ser submetido ao periódico *Lasers in Surgery and Medicine*

4. ESTUDO 2

“Efeito agudo de duas doses de fototerapia aplicadas antes do exercício moderado na cinética de parâmetros cardiorrespiratórios e hemodinâmicos e em marcadores metabólicos em pacientes com diabetes mellitus tipo 2”

4.1 RESUMO

Introdução e Objetivo: A fototerapia é um recurso terapêutico com diversas ações ergogênicas no tecido muscular e na tolerância ao exercício físico. A maioria dos estudos disponíveis na literatura avaliaram indivíduos saudáveis, contudo a fototerapia pode ser um recurso benéfico para indivíduos com doenças como o DM. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo de duas diferentes doses de fototerapia nos ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos, bem como nas concentrações de glicose e lactato, em pacientes com DM.

Desenho experimental/ Materiais e Métodos: Participaram desse estudo homens com DM com idade entre 45 e 64 anos. Avaliou-se o efeito agudo da fototerapia com LED nas dosagens de 150J (LED-150J) (n=16) e 300J (LED-300J) (n=17). Para cada dosagem, quatro testes separados foram realizados alternando as sessões efetivas e placebos em ordem aleatória, com pelo menos 14 dias de intervalo entre as sessões. A intervenção foi aplicada em contato direto na pele com uma manta flexível com 50 LEDs (GaAIAs LEDs, 850nm, 75mW por LED) bilateralmente nos músculos quadríceps femoral e no tríceps sural por 40s por grupo muscular no LED-150J e por 80s por grupo muscular no LED-300J. Após a intervenção, um protocolo de exercício físico moderado em bicicleta foi realizado. As concentrações de lactato e glicose foram medidas antes e imediatamente após o LED/placebo e após o exercício. Durante o

exercício foram medidos o $\dot{V}O_2$, HHb, FC e DC e esses dados foram submetidos a análise da cinética para avaliação da dinâmica dos ajustes ao exercício físico.

Resultados: O LED-150J reduziu as concentrações de glicose após o exercício físico em comparação com os níveis pré e pós intervenção (P=0,009 e P=0,035 respectivamente). O LED-300J aumentou os níveis de lactato após o protocolo de exercício na fototerapia efetiva em comparação com a fototerapia placebo (P=0,008). Nenhuma das dosagens avaliadas modificou significativamente os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos avaliados.

Conclusão: A fototerapia por meio de LED na dosagem de 300J não causou melhora nos parâmetros estudados e a dosagem de 150J pode ser utilizada como recurso adjuvante no controle da hiperglicemia em indivíduos com DM. Estudos são necessários para verificar se existe uma dose-resposta ideal capaz de modificar os ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos, assim como os níveis de lactato.

Palavras-chave: bioestimulação; diodos emissores de luz; fototerapia; diabetes mellitus; glicose; lactato.

4.2 INTRODUÇÃO

A fototerapia é um recurso amplamente utilizado devido sua ação nos sistemas biológicos sendo utilizada para induzir mudanças bioquímicas nos tecidos por meio do uso da luz, denominado fotobiomodulação [28]. Os mecanismos envolvidos com a fotobiomodulação sugerem que sua aplicação pode reduzir o estresse oxidativo e a produção de espécies reativas de oxigênio [26, 27], estimular a cadeia respiratória mitocondrial [24, 25], bem como o aumentar a microcirculação [21].

Dentre os principais usos terapêuticos da fotobiomodulação destacam-se o controle e redução de processos inflamatórios e dolorosos, cicatrização e reparo tecidual [28, 104]. Além disso, estudos têm mostrado efeitos agudos da fototerapia na função muscular, com aumento da resistência muscular, atraso do desenvolvimento da fadiga muscular e redução no tempo de recuperação da mesma [39-41], redução das concentrações sanguíneas de lactato [38, 41, 56] e aumento da tolerância ao exercício [38, 43, 44]. Esses recentes achados têm aumentado o interesse em verificar o potencial terapêutico da luz no desempenho físico [31, 39, 41, 56], bem como verificar seu efeito em doenças que reduzem a capacidade funcional e a capacidade oxidativa muscular como o DM, obesidade e doença pulmonar obstrutiva crônica [44, 58, 96, 99].

Em relação ao DM, diversas complicações periféricas e sistêmicas são associadas à doença, dentre elas alterações musculares como: redução da densidade capilar no músculo esquelético [15], disfunção mitocondrial [7, 14, 19] e alterações na hemodinâmica microvascular que causam uma desarmonia entre o fluxo de sangue e o aumento do $\dot{V}O_2$ [105, 106]. Em última instância, essa cascata de eventos afeta a capacidade do indivíduo com DM sustentar a atividade física, resultando em limitada tolerância ao exercício [57].

Estratégias de tratamento com foco na redução do estresse oxidativo [107, 108], melhora da função mitocondrial e redução da fadiga muscular são importantes objetivos em indivíduos com DM [109] visto que a redução da capacidade funcional está diretamente associada com a mortalidade por doenças cardiovasculares. Sendo assim, a fototerapia poderia beneficiar indivíduos com DM quando utilizada em combinação com outras terapias (dieta, medicações e exercício físico). Contudo, não é de nosso conhecimento que haja estudos disponíveis na literatura mostrando esses efeitos em indivíduos com DM sendo que somente poucas investigações com sujeitos saudáveis avaliaram os efeitos da fototerapia nas respostas cardiopulmonares [38, 43, 44, 110], que refletem diretamente a capacidade funcional.

Visto que evidências dos efeitos da fototerapia são necessárias para dar suporte ao seu uso em indivíduos com DM, a proposta desse estudo foi avaliar o efeito agudo de duas diferentes doses de fototerapia nos ajustes cardiopulmonares, hemodinâmicos e metabólicos em pacientes com DM. Nossa hipótese é que a fototerapia tenha capacidade de melhorar os ajustes de $\dot{V}O_2$, FC, DC e HHb durante a transição do exercício físico leve para moderado e as concentrações de glicose e lactato, com a magnitude das respostas dependentes da dosagem aplicada.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento experimental foi realizado conforme descrito no item 2 dessa tese. Duas dosagens de fototerapia foram testadas separadamente 150 J (LED-150J) e 300J (LED-300J). O estudo foi conduzido utilizando o mesmo protocolo experimental descrito no item 2.3.1. As coletas experimentais do LED-300J ocorreram após a finalização das avaliações referentes ao LED-150-J e ambas foram compostas pelas mesmas avaliações (teste cardiopulmonar e quatro testes de exercício físico em carga

constante com intensidade moderada, com as intervenções LED-efetivo e LED-placebo aleatorizadas conforme a figura 1 e intervalo mínimo de 14 dias entre as sessões).

A figura 11 ilustra o fluxograma de perdas deste estudo. Foram avaliados para elegibilidade 309 indivíduos com DM e destes 24 foram inclusos. Os critérios de inclusão e exclusão foram os mesmos anteriormente mencionados (item 2.3.2). A amostra de cada uma das dosagens foi de 16 sujeitos no LED-150 e 17 sujeitos no LED-300J. Embora 10 indivíduos tenham participado de ambas dosagens, o objetivo do presente estudo foi avaliar efeito agudo da fototerapia, sendo assim o protocolo experimental possuía um período de *washout* e adicionalmente houve um período de pelo menos 3 meses entre o fim da participação no protocolo experimental de 150J e o início das avaliações de 300J para os voluntários em comum a ambas as dosagens. Assim, acreditamos que as sessões não foram influenciadas por efeitos residuais da fototerapia.

4.3.1 Protocolo de fototerapia

A aplicação de fototerapia (LED-efetivo ou placebo) em ambas as dosagens seguiu a mesma metodologia de aleatorização descrita no item 2.3.1. Os parâmetros utilizados em cada uma das dosagens estão descritos na tabela 4.

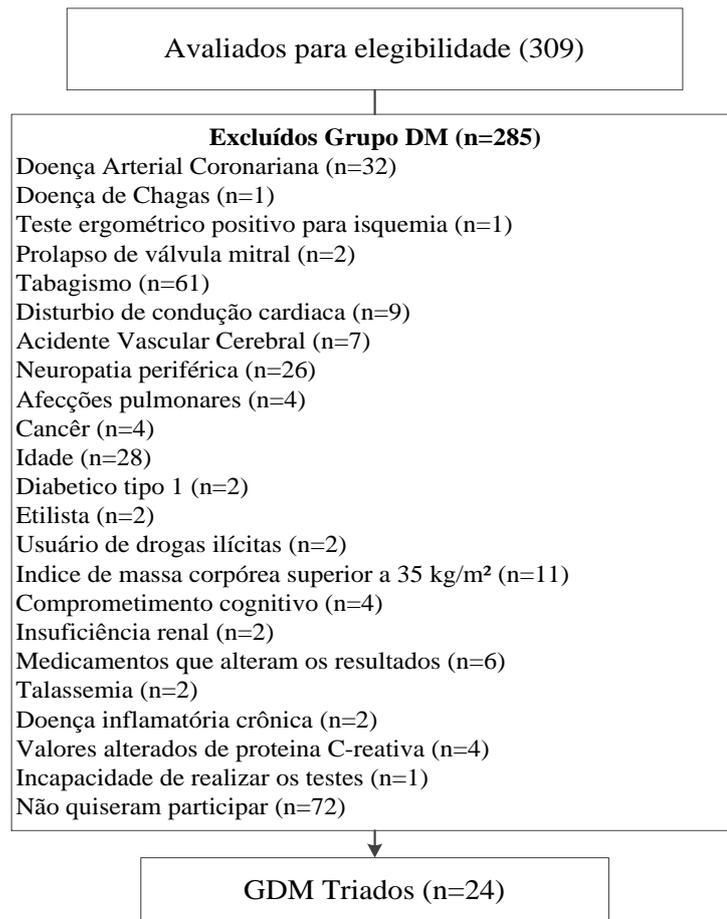


Figura 11. Fluxograma de perdas

4.3.2 Análise estatística

Os dados foram expressos como média e desvio padrão. As comparações entre os grupos (LED-150J e LED-300J) foram realizadas utilizando o teste de *Mann-Whitney* e para as comparações entre variáveis categóricas foi utilizado teste exato de Fisher. As comparações intra-grupos entre as intervenções LED-efetivo e LED-placebo de cada uma das dosagens foram realizadas utilizando o teste de *Wilcoxon*.

As comparações intra-grupo entre os níveis de lactato e glicose foram realizadas utilizando *ANOVA one-way* de medidas repetidas. Quando a condição de esfericidade testada pelo teste de *Mauchly* foi satisfeita, as comparações múltiplas foram realizadas

por meio do teste F, do contrário, foi utilizado o traço de *Hotteling*. Em ambos os casos, o *post hoc* de *Bonferroni* foi utilizado.

Foi adotado nível de significância de 5% ($P < 0.05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* SPSS 17.0 (*IBM Company, USA*).

Tabela 4. Especificações gerais e específicas da fototerapia

Parâmetros gerais		
Número de LED	50	
Comprimento de onda (nm)	850 ± 20	
Frequência de saída	Contínua	
Potência de saída por LED (mW)	75	
Tamanho por LED (cm ²)	0,2	
Densidade de potência (mW/cm ²)	375	
Número de locais de irradiação	4 (quadríceps femoral e tríceps sural, bilateralmente)	
Modo de aplicação	Técnica de contato	
Parâmetros específicos		
	LED-150J	LED-300J
Densidade de energia por diodo (J/cm ²)	15	30
Energia por LED (J)	3	6
Total de energia por grupo muscular (J)	150	300
Tempo de tratamento por grupo muscular (s)	40	80
Energia total entregue por membro inferior (J)	300	600

4.4 RESULTADOS

A tabela 5 mostra as características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados.

Os dados referentes a caracterização dos grupos foram semelhantes.

Tabela 5. Características clínicas e laboratoriais

	LEDT- 150J (n=16)	LEDT - 300J (n=17)	P
Idade (anos)	55,1 ± 5,4	55,7 ± 6,7	0,625
Duração do Diabetes (anos)	9,7 ± 6,4	9,5 ± 5,7	0,914
Massa Corporal (kg)	84,2 ± 7,7	82,5 ± 6,6	0,397
Porcentagem de gordura (%)	28,6 ± 2,3	28,5 ± 2,0	0,719
IMC (kg/m²)	26,5 ± 3,5	25,3 ± 3,9	0,318
Índice tornozelo-braquial	1,2 ± 0,13	1,2 ± 0,13	0,502
FC de repouso (bpm)	76 ± 11	75 ± 10	0,739
PAS de repouso (mmHg)	141 ± 21,7	135 ± 18	0,495
PAD de repouso (mmHg)	77 ± 9,8	74 ± 8	0,604
VO₂ pico (mL·kg⁻¹·min⁻¹)	20,5 ± 4,9	20,1 ± 3,0	0,971
Carga de trabalho pico (W)	136 ± 33	133 ± 28	0,857
EXAMES LABORATORIAIS			
HbA_{1c} (%)	7,9 ± 1,5	8,2 ± 1,5	0,651
Insulina basal, µU/ml	17,5 ± 15,4	11,6 ± 3,8	0,122
Glicose basal, mg/dl	166,6 ± 69,2	155,1 ± 61,4	0,943
HOMA, %,	8,4 ± 12,5	4,4 ± 2,4	0,624
Colesterol total (mg/dL)	203,8 ± 58,2	198,2 ± 57,1	0,665
HDL colesterol (mg/dL)	38,5 ± 6,7	36,9 ± 6,5	0,348
LDL colesterol (mg/dL)	118,2 ± 42,1	127,5 ± 53,1	0,797
Triglicérides (mg/dL)	219,7 ± 133,9	190,4 ± 98,9	0,505
MEDICAMENTOS (N, (%))			
Insulina	5 (31,25%)	5 (29,4%)	1,000
Hipoglicemiante oral (metformina, glibenclamida, glicazida, inibidor de DPP-4),	14 (87,5%)	15 (88,2%)	1,000
Antihipertensivo (hidroclorotiazida, antagonista de angiotensina II, inibidor de ECA)	7 (43,7%)	8 (47,1%)	1,000
Hipocolesterolêmico (ciprofibrato, sinvastatina, rosuvastatina cálcica)	6 (37,5%)	10 (58,8%)	0,303
Anticoagulante (ácido acetilsalicílico)	1 (6,25%)	2 (11,8%)	1,000
Protetor Gástrico	2 (12,5%)	2 (11,8%)	1,000
Tratamento de hipotireoidismo (levotiroxina)	3 (18,75%)	2 (11,8%)	0,656

IMC, índice de massa corpórea; FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; VO₂, consumo de oxigênio; HbA_{1c}, hemoglobina glicada; HOMA, avaliação de resistência a insulina. p<0,05 utilizando o teste de *Mann-Whitney* ou teste exato de *Fisher*

Os resultados das cinéticas do $\dot{V}O_2$, FC, DC e HHb estão descritos na tabela 6. As comparações entre a fototerapia na dosagem de 150 J e o respectivo placebo não revelaram efeitos da intervenção nos parâmetros cardiorrespiratórios ($\dot{V}O_2$, FC e DC) ou hemodinâmicos (HHb). A fototerapia com dosagem de 300J também não modificou significativamente nenhum dos ajustes cardiopulmonares e hemodinâmicos avaliados.

As comparações entre a magnitude dos efeitos entre as terapias LED-150J e LED-300J estão descritas na tabela 7. Não houve diferenças significativas entre a magnitude dos efeitos das duas dosagens para nenhuma das variáveis avaliadas (dinâmica do $\dot{V}O_2$, FC, DC e HHb e concentrações de glicose e lactato).

Tabela 6. Parâmetros da cinética do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, débito cardíaco e deoxihemoglobina

	LED-150J		P	LED-300J		P
	EFETIVO	PLACEBO		EFETIVO	PLACEBO	
Linha de base $\dot{V}O_2$ (l/min)	0,48 ± 0,04	0,47 ± 0,04	0,234	0,47 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,943
Amplitude $\dot{V}O_2$ (l/min)	0,50 ± 0,20	0,49 ± 0,18	0,756	0,53 ± 0,24	0,54 ± 0,23	0,093
$\tau\dot{V}O_2$ (s)	45,4 ± 10,2	40,7 ± 13,0	0,098	45,2 ± 12,0	44,7 ± 11,5	0,723
$\dot{V}O_2$ TD (s)	5,6 ± 6,0	8,9 ± 7,8	0,215	7,6 ± 7,4	8,5 ± 5,3	0,723
MTR $\dot{V}O_2$ (s)	51,0 ± 8,7	49,6 ± 8,3	0,255	52,8 ± 7,4	53,2 ± 8,7	0,795
Linha de base FC, bpm	73 ± 9	77 ± 10	0,776	79 ± 10	78 ± 12	0,480
Amplitude FC, bpm	20 ± 8	20 ± 8	0,460	20 ± 9	20 ± 8	0,756
τFC (s)	41 ± 13	43 ± 9	0,191	43,6 ± 15,7	47,7 ± 13,9	0,352
FC TD (s)	2,0 ± 3,6	2,9 ± 6,0	0,460	4,1 ± 4,8	3,1 ± 5,0	0,255
FC MTR (s)	42,7 ± 11,8	46,1 ± 12,0	0,173	47,7 ± 14,1	50,9 ± 13,4	0,278
τDC (s)	41,0 ± 14,7	40,8 ± 15,2	0,975	44,6 ± 13,1	49,7 ± 11,0	0,109
DC TD (s)	4,5 ± 5,1	4,4 ± 5,4	0,638	4,4 ± 5,6	2,5 ± 5,4	0,140
DC MTR (s)	45,6 ± 12,2	45,1 ± 14,1	0,826	49,0 ± 11,1	52,2 ± 13,1	0,300
τ[HHb] (s)	7,6 ± 3,1	7,7 ± 3,6	0,807	6,7 ± 2,9	7,2 ± 3,1	0,191
HHb TD (s)	13,9 ± 3,4	14,5 ± 3,5	0,116	14,3 ± 2,4	14,6 ± 2,4	1,000
MTR [HHb] (s)	21,5 ± 3,8	22,2 ± 3,6	0,249	21,0 ± 3,1	21,8 ± 3,7	0,233

Os dados estão apresentados em medianas e valores mínimos e máximos. $\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; τ , constante de crescimento exponencial de tempo; TD, tempo de atraso; MTR média do tempo de resposta; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; HHb deoxihemoglobina. P<0.05 utilizando teste de *Wilcoxon*.

Tabela 7. Comparação da magnitude dos efeitos das terapias entre os grupos

	Δ (Placebo-Fototerapia)		P
	LED-150J	LED-300J	
Linha de base $\dot{V}O_2$ (l/min)	-0,01 \pm 0,04	0,01 \pm 0,05	0,349
Amplitude $\dot{V}O_2$ (l/min)	-0,01 \pm 0,05	-0,02 \pm 0,05	0,313
$\tau\dot{V}O_2$ (s)	-4,68 \pm 10,75	0,53 \pm 9,20	0,171
$\dot{V}O_2$TD (s)	3,31 \pm 8,83	0,89 \pm 6,86	0,331
MTR $\dot{V}O_2$ (s)	-1,36 \pm 4,47	-0,35 \pm 5,90	0,666
Linha de base FC, bpm	0,81 \pm 4,52	0,89 \pm 4,52	0,527
Amplitude FC, bpm	-0,19 \pm 2,35	-0,44 \pm 2,84	0,906
τHR (s)	2,49 \pm 7,27	-4,13 \pm 14,16	0,144
HR TD (s)	0,94 \pm 6,90	0,92 \pm 5,01	0,477
FC MTR (s)	3,44 \pm 8,32	-3,20 \pm 11,57	0,105
τCO (s)	-0,26 \pm 11,29	-5,01 \pm 14,44	0,251
CO TD (s)	-0,17 \pm 6,61	2,26 \pm 5,45	0,613
DC MTR (s)	-0,42 \pm 8,90	-2,74 \pm 12,80	0,520
τ[HHb] (s)	0,12 \pm 3,22	-0,46 \pm 1,53	0,504
HHb TD (s)	0,52 \pm 1,16	-0,27 \pm 2,41	0,394
MTR [HHb] (s)	0,65 \pm 2,94	-0,74 \pm 2,08	0,093
Glicose pré-intervenção	7,82 \pm 56,67	-21,14 \pm 61,46	0,165
Glicose pós-intervenção	20,29 \pm 84,62	-2,87 \pm 63,51	0,394
Glicose pós-exercício	18,79 \pm 61,87	-14,51 \pm 45,09	0,153
Lactato pré-intervenção	0,03 \pm 0,63	-0,41 \pm 0,68	0,081
Lactato pós-intervenção	-0,04 \pm 0,75	-0,14 \pm 0,56	0,901
Lactato pós-exercício	-0,04 \pm 0,64	-0,32 \pm 0,36	0,108

Δ , valores de delta (placebo – fototerapia), $\dot{V}O_2$, consumo de oxigênio; τ , constante de crescimento exponencial de tempo; TD, tempo de atraso; MTR média do tempo de resposta; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; HHb deoxihemoglobina. $P < 0.05$ utilizando teste de *Mann-Whitney*.

As concentrações de lactato nas três medições realizadas durante as sessões de tratamento estão mostradas na figura 12. No LEDT-150J, as comparações das concentrações de lactato pré-intervenção e pós-intervenção mostraram redução dos níveis nas intervenções efetiva (1,81 \pm 0,64 vs 1,59 \pm 0,68 mmol/L; $P=0,030$) e placebo (1,83 \pm 0,67 vs. 1,55 \pm 0,61 mmol/L; $P=0,015$). No 300J, a concentração de lactato pós-intervenção LED-efetivo aumentou após o exercício (1,91 \pm 0,82 vs. 2,48 \pm 0,83 mmol/L, $P=0,050$) e na sessão placebo-300J as concentrações de lactato após o

exercício foram maiores ($2,16 \pm 0,68$ mmol/L) que as concentrações pré e pós-intervenção ($1,74 \pm 0,57$ mmol/L; $P=0,022$ e $1,77 \pm 0,77$ mmol/L; $P=0,023$ respectivamente). Adicionalmente, as comparações entre as sessões placebo e efetivo do 300J mostraram que os níveis de lactato pré-intervenção e após o exercício foram superiores no efetivo em comparação com o placebo ($1,74 \pm 0,57$ vs. $2,15 \pm 0,90$ mmol/L; $P=0,031$ e $2,48 \pm 0,83$ vs. $2,16 \pm 0,68$ mmol/L; $P=0,005$, respectivamente).

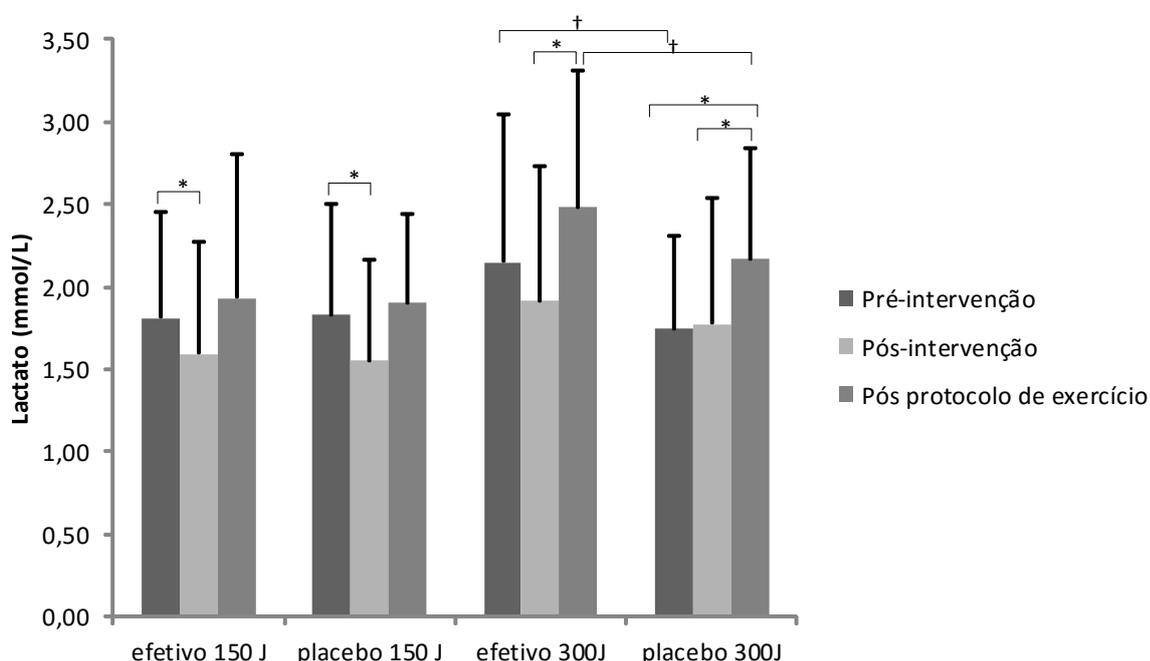


Figura 12. Concentrações de lactato pré-intervenção pós-intervenção e depois do protocolo de exercício nas dosagens de 150J e 300J.

* $P<0,05$ utilizando ANOVA *one-way* de medidas repetidas. † $P<0,05$ utilizando teste de Wilcoxon.

A figura 13 mostra as concentrações de glicose ao longo das medições realizadas nas sessões de fototerapia. O LED-efetivo na dosagem de 150J reduziu os níveis de glicose após o exercício ($141,4 \pm 56,3$ mg/dl) em comparação com os níveis pré e pós intervenção ($174,5 \pm 60,0$ mg/dl; $P=0,009$ e $166,7 \pm 64,7$ mg/dl; $P=0,035$;

respectivamente). Na sessão placebo-150J, bem como nas sessões com dosagem de 300J (fototerapia e placebo) não houve diferenças entre as medições.

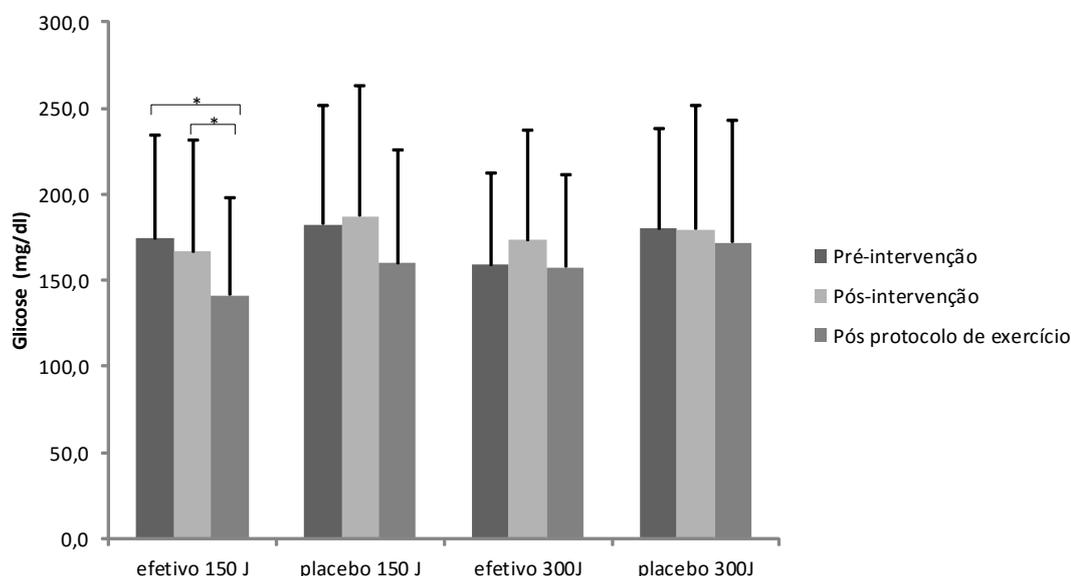


Figura 13. Concentrações de glicose pré-intervenção, pós-intervenção e pós-protocolo de exercício nas dosagens de 150J e 300J.

* $P < 0.05$ utilizando ANOVA *one-way* de medidas repetidas

4.5 DISCUSSÃO

O efeito da fototerapia é dependente da dosagem aplicada, sendo que o estabelecimento da dosagem ideal é um grande desafio na prática clínica. A utilização de dosagens baixas podem não atingir o estímulo mínimo a nível celular, por outro lado uma dosagem excessiva pode causar a inibição da função celular [28, 30]. O presente estudo testou duas dosagens de fototerapia aplicadas com LED em indivíduos com DM. Nossos principais achados foram: a fototerapia com dosagem de 150J reduziu as concentrações de glicose após o exercício físico enquanto na dosagem de 300J houve um maior aumento dos níveis de lactato após o protocolo de exercício na fototerapia efetiva em comparação com a fototerapia placebo.

O uso de LED para aplicação da fototerapia tem sido uma boa alternativa para a fotoestimulação de grandes áreas [31] sendo que no presente estudo o mesmo equipamento foi utilizado para ambas as terapias aplicadas, sendo modificado o tempo total de aplicação e conseqüentemente a dosagem. Apesar de estudos mostrarem vários benefícios da utilização da fototerapia, até o presente momento não existe um método sistemático para determinar a dosagem ideal para o seu uso [30], ou seja, a escolha das dosagens ocorre de forma empírica, baseada nos estudos disponíveis na literatura e na experiência clínica do terapeuta. Além disso, a presença de lesões musculoesqueléticas ou doenças que alterem a estrutura muscular podem exigir parâmetros diferentes dos utilizados em músculos saudáveis [30].

No presente estudo foi realizada a análise da cinética do $\dot{V}O_2$, FC, DC e HHb com intuito de avaliar a velocidade dos ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos na transição do exercício físico leve para moderado. Esses ajustes mostram a habilidade de rapidamente aumentar a entrega de oxigênio nos tecidos na transição para o exercício moderado a fim de manter a homeostase celular [65, 73]. Não é de nosso conhecimento que existam outros estudos disponíveis na literatura que utilizaram a mesma metodologia para avaliar o efeito agudo da fototerapia, i.é, que utilizou a análise da cinética das respostas cardiorrespiratórias, hemodinâmicas e metabólicas em exercício físico moderado de carga constante.

Com relação aos resultados desses ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos, nenhuma das dosagens testadas no nosso estudo afetaram essas variáveis, em concordância com estudos prévios que mostraram não haver diferenças em variáveis cardiorrespiratórias e hemodinâmicas ($\dot{V}O_2$, FC e PA) no limiar de anaerbiose [38, 43, 94], ou seja, na intensidade moderada durante protocolo incremental. Por outro lado, alguns estudos verificaram aumento do $\dot{V}O_{2\text{ pico}}$ associado à fototerapia [38, 43, 94,

110]. Sendo assim, no presente estudo não é possível determinar se a ausência de respostas ocorreu devido à dosagem utilizada ou devido a esses ajustes serem alterados pela fototerapia somente em altas intensidades de exercício. Por outro lado, devido as limitações na capacidade funcional presentes em indivíduos com DM, é possível que eles não conseguissem completar o protocolo de alta intensidade. Além disso, altas intensidades não são comumente utilizadas na reabilitação e prevenção de complicações nessa população [5, 90].

Não é de nosso conhecimento que outro estudo tenha avaliado o efeito agudo da fototerapia nos níveis de glicose sanguínea em sujeitos com DM. Embora o exercício físico por si só tenha efeitos agudos na homeostase da glicose em indivíduos com DM [90, 97, 98], as reduções dos níveis glicêmicos têm sido mostrados em sessões de intensidade moderada com duração prolongada (30 a 70 min) [97, 98]. No presente estudo, não foram observadas mudanças na glicemia após o exercício em comparação com os valores da linha de base (pré-intervenção) ou níveis após a intervenção nas sessões placebos de ambas as dosagens de fototerapia avaliadas, mostrando que a sessão de exercício físico de curta-duração em intensidade moderada não forneceu estímulo suficiente para mudanças glicêmicas. Por outro lado, verificamos que a fototerapia na dosagem de 150J em combinação com exercício físico moderado reduziu as concentrações de glicose e esses efeitos foram dependentes da dosagem, visto que a fototerapia com 300J não modificou as concentrações da glicose sanguínea. Assim, considerando a característica bifásica de dose resposta [28, 30], a fototerapia com dosagem de 150J parece ter influenciado a homeostase da glicose, e talvez a dosagem de 300 J estivesse acima do ideal, não causando os mesmos efeitos benéficos.

Sene-Fiorese *et al.* [99] verificaram em mulheres obesas que a fototerapia (manta com 16 LASERS de 808nm, energia de 768J por local irradiado, bilateralmente

em quadríceps, glúteos, isquitibiais e abdomen) combinada com exercício físico aeróbio por 20 semanas auxiliou na redução da insulina basal e do HOMA que indicam uma melhora da sensibilidade à insulina. Embora os efeitos desse estudo tenham sido em longo prazo e em outra população, seus achados, assim como os nossos, indicam que a fototerapia em combinação com exercício pode ser benéfica no controle glicêmico, e talvez o mecanismo responsável pela melhora dos níveis glicêmicos esteja associado a melhora da sensibilidade à insulina. Ainda no estudo de Sene-Fiorese *et al.* [99], os valores de glicose não foram afetados pela fototerapia, contudo as participantes apresentavam valores de glicose sanguínea de jejum dentro dos limites considerados normais (abaixo de 100 mg/dl), e a resistência a insulina precede a elevação da glicose sanguínea e o desenvolvimento do DM [1].

É importante salientar que os sujeitos de nosso estudo estavam sob tratamento medicamentoso, incluindo fármacos para o controle glicêmico. Apesar disso, visto que no desenho experimental proposto os voluntários eram controle deles mesmos para cada uma das dosagens, i.é., o mesmo indivíduo participou das intervenções efetivas e placebos para a mesma dosagem, consideramos que a influência dessa terapia farmacológica nos resultados foi minimizada. Além disso, os medicamentos em utilização e suas respectivas dosagens não foram alterados ao longo do estudo.

Quanto às concentrações de lactato, na dosagem de 150J houve reduções na concentração imediatamente após ambas as intervenções (efetiva e placebo), e por esse motivo os resultados não parecem estar relacionados à fotobiomodulação. Já na fototerapia com dosagem de 300J houve um aumento das concentrações de lactato pós-exercício em ambas as intervenções, sendo que os valores de lactato foram maiores na sessão efetiva. Por outro lado, a lactacidemia diferiu significativamente dos valores da linha de base somente no placebo do 300J, sendo assim, embora os valores pós-

intervenção do LED-300J efetivo tenha sido superior ao LED-300J placebo, a magnitude de variação em relação à linha de base foi significativamente maior somente no placebo na dosagem de 300J.

Os estudos que avaliam os efeitos agudos da fototerapia nas concentrações de lactato geralmente utilizam protocolos de exercício físico de alta intensidade [32, 38-40, 54, 100] que causam um grande aumento na produção de lactato. No entanto no presente estudo foi realizado um protocolo de exercício moderado que não causa grandes elevações na lactacidemia. Assim, no presente estudo, nenhuma das dosagens avaliadas de fototerapia influenciou os níveis de lactato, possivelmente devido a intensidade de exercício realizada não ter se modificado significativamente após o exercício físico. Por outro lado, não sabemos o motivo de no LED-300J placebo os valores de lactato terem se elevado significativamente em comparação a linha de base, visto que foi utilizado o mesmo protocolo de exercício físico das demais situações avaliadas.

Embora o presente estudo tenha avaliado apenas duas dosagens de fototerapia, este é pioneiro em verificar os efeitos da fototerapia na aptidão física e em marcadores metabólicos de indivíduos com DM. Assim, concluímos que a fototerapia por meio de LED na dosagem de 300J não causou melhora nos parâmetros estudados e a dosagem de 150J pode ser utilizada como recurso adjuvante no controle da hiperglicemia em indivíduos com DM. É possível que a fototerapia possa auxiliar na melhora da capacidade funcional, nos ajustes cardiopulmonares, hemodinâmicos e metabólicos no DM em doses diferentes da testada no presente estudo, por isso são necessárias mais investigações.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos nos estudos que compõem essa tese, concluímos que a fototerapia aplicada com LED com dosagem de 150 J foi capaz de agudamente reduzir a glicemia em combinação a exercício de intensidade moderada, confirmando nossa hipótese do potencial terapêutico dessa modalidade de fotobiomodulação. Não é de nosso conhecimento que hajam estudos disponíveis na literatura avaliando os efeitos agudos da fototerapia em indivíduos com DM ou em ajustes cardiorrespiratórios e hemodinâmicos. Dessa forma, esse estudo abre a perspectiva de estudos futuros verificarem os efeitos agudos e de longo prazo de outras dosagens de fototerapia para estabelecer qual a melhor dose-resposta bem como outros efeitos que a fototerapia poderia trazer para essa população.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33 Suppl 1:S62-9
2. Peres DS, Franco LJ, dos Santos MA. [Eating behavior among type 2 diabetes women]. *Rev Saude Publica* 2006;40(2):310-7
3. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;87(1):4-14
4. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;94(3):311-21
5. Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertoni AG, Blumenthal RS, et al. Exercise training for type 2 diabetes mellitus: impact on cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2009;119(25):3244-62
6. Church TS, Cheng YJ, Earnest CP, Barlow CE, Gibbons LW, Priest EL, et al. Exercise capacity and body composition as predictors of mortality among men with diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(1):83-8
7. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, Blamire AM, Buckingham RE, Styles P, et al. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation* 2003;107(24):3040-6
8. Regensteiner JG, Sippel J, McFarling ET, Wolfel EE, Hiatt WR. Effects of non-insulin-dependent diabetes on oxygen consumption during treadmill exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(6):875-81

9. Regensteiner JG, Bauer TA, Reusch JE, Brandenburg SL, Sippel JM, Vogelsong AM, et al. Abnormal oxygen uptake kinetic responses in women with type II diabetes mellitus. *J Appl Physiol* 1998;85(1):310-7
10. Wei M, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN. Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 2000;132(8):605-11
11. Seyoum B, Estacio RO, Berhanu P, Schrier RW. Exercise capacity is a predictor of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & vascular disease research : official journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease* 2006;3(3):197-201
12. Niranjana V, McBrayer DG, Ramirez LC, Raskin P, Hsia CC. Glycemic control and cardiopulmonary function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *The American journal of medicine* 1997;103(6):504-13
13. Kingwell BA, Formosa M, Muhlmann M, Bradley SJ, McConell GK. Type 2 diabetic individuals have impaired leg blood flow responses to exercise: role of endothelium-dependent vasodilation. *Diabetes Care* 2003;26(3):899-904
14. Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Matsushima S, Inoue N, Ohta Y, et al. Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(3):H1069-77
15. He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes* 2001;50(4):817-23

16. Simoneau JA, Veerkamp JH, Turcotte LP, Kelley DE. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J* 1999;13(14):2051-60
17. Phielix E, Mensink M. Type 2 diabetes mellitus and skeletal muscle metabolic function. *Physiol Behav* 2008;94(2):252-8
18. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(10):2944-50
19. Dumas JF, Simard G, Flamment M, Ducluzeau PH, Ritz P. Is skeletal muscle mitochondrial dysfunction a cause or an indirect consequence of insulin resistance in humans? *Diabetes Metab* 2009;35(3):159-67
20. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Schoen FJ. *Robbins: Patologia Estrutural e Funcional*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan; 1996.
21. Tullberg M, Alstergren PJ, Ernberg MM. Effects of low-power laser exposure on masseter muscle pain and microcirculation. *Pain* 2003;105(1-2):89-96
22. Maegawa Y, Itoh T, Hosokawa T, Yaegashi K, Nishi M. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg Med* 2000;27(5):427-37
23. Ihsan FR. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed Laser Surg* 2005;23(3):289-94
24. Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med* 1995;16(4):331-42
25. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med* 2006;36(9):781-96
26. Ferraresi C, Hamblin MR, Parizotto NA. Low-level laser (light) therapy (LLLT) on muscle tissue: performance, fatigue and repair benefited by the power light. *Photon Lasers Med* 2012;1(4):267-86

27. Avni D, Levkovitz S, Maltz L, Oron U. Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. *Photomed Laser Surg* 2005;23(3):273-7
28. Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose-response : a publication of International Hormesis Society* 2009;7(4):358-83
29. Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc)* 2004;69(1):81-90
30. Borsa PA, Larkin KA, True JM. Does phototherapy enhance skeletal muscle contractile function and postexercise recovery? A systematic review. *Journal of athletic training* 2013;48(1):57-67
31. Paolillo FR, Milan JC, Aniceto IV, Barreto SG, Rebelatto JR, Borghi-Silva A, et al. Effects of infrared-LED illumination applied during high-intensity treadmill training in postmenopausal women. *Photomed Laser Surg* 2011;29(9):639-45
32. Leal-Junior EC, Vanin AA, Miranda EF, de Carvalho Pde T, Dal Corso S, Bjordal JM. 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* 2015;30(2):925-39
33. Bakeeva LE, Manteifel VM, Rodichev EB, Karu TI. [Formation of gigantic mitochondria in human blood lymphocytes under the effect of an He-Ne laser]. *Mol Biol (Mosk)* 1993;27(3):608-17
34. Manteifel VM, Karu TI. [Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in subsequent generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light]. *Izv Akad Nauk Ser Biol* 2005;(6):672-83

35. Hayworth CR, Rojas JC, Padilla E, Holmes GM, Sheridan EC, Gonzalez-Lima F. In vivo low-level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. *Photochem Photobiol* 2010;86(3):673-80
36. Albuquerque-Pontes GM, Vieira RP, Tomazoni SS, Caires CO, Nemeth V, Vanin AA, et al. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths, and application intervals of low-level laser therapy on cytochrome c oxidase activity in intact skeletal muscle of rats. *Lasers Med Sci* 2015;30(1):59-66
37. Baroni BM, Leal Junior EC, Geremia JM, Diefenthaler F, Vaz MA. Effect of light-emitting diodes therapy (LEDT) on knee extensor muscle fatigue. *Photomed Laser Surg* 2010;28(5):653-8
38. De Marchi T, Leal Junior EC, Bortoli C, Tomazoni SS, Lopes-Martins RA, 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* 2012;27(1):231-6
39. 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 in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci* 2009;24(3):425-31
40. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, et al. Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg* 2008;26(5):419-24
41. 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(8):572-7

42. 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 postexercise recovery. *J Orthop Sports Phys Ther* 2010;40(8):524-32
43. da Silva Alves MA, Pinfildi CE, Neto LN, Lourenco RP, de Azevedo PH, Dourado VZ. Acute effects of low-level laser therapy on physiologic and electromyographic responses to the cardiopulmonary exercise testing in healthy untrained adults. *Lasers Med Sci* 2014;29(6):1945-51
44. Miranda EF, Leal-Junior EC, Marchetti PH, Dal Corso S. Acute effects of light emitting diodes therapy (LEDT) in muscle function during isometric exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease: preliminary results of a randomized controlled trial. *Lasers Med Sci* 2014;29(1):359-65
45. Ferraresi C, Dos Santos RV, Marques G, Zangrande M, Leonaldo R, Hamblin MR, et al. Light-emitting diode therapy (LEDT) before matches prevents increase in creatine kinase with a light dose response in volleyball players. *Lasers Med Sci* 2015;30(4):1281-7
46. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27(5):1047-53
47. Expert Committee on the D, Classification of Diabetes M. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26 Suppl 1:S5-20
48. Nadeau KJ, Zeitler PS, Bauer TA, Brown MS, Dorosz JL, Draznin B, et al. Insulin resistance in adolescents with type 2 diabetes is associated with impaired exercise capacity. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(10):3687-95

49. Francisco CO, Catai AM, Moura-Tonello SC, Lopes SL, Benze BG, Del Vale AM, et al. Cardiorespiratory fitness, pulmonary function and C-reactive protein levels in nonsmoking individuals with diabetes. *Braz J Med Biol Res* 2014;47(5):426-31
50. Hughson RL. Oxygen uptake kinetics: historical perspective and future directions. *Appl Physiol Nutr Metab* 2009;34(5):840-50
51. Halsberghe MJE. Estudo de indicadores de taxa de metabolismo Aeróbio e Anaeróbio em musculatura de ratos em resposta a radiação com laser de baixa intensidade. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2003.
52. Vieira WHB. Efeitos do laser de baixa intensidade em 780nm sobre a performance muscular aeróbia de ratos em treinamento físico em esteira. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2005.
53. Ferraresi C, de Brito Oliveira T, de Oliveira Zafalon L, de Menezes Reiff RB, Baldissera V, de Andrade Perez SE, et al. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers Med Sci* 2011;26(3):349-58
54. Ferraresi C, Beltrame T, Fabrizzi F, Nascimento ES, Karsten M, Francisco CO, et al. Muscular pre-conditioning using light-emitting diode therapy (LEDT) for high-intensity exercise: a randomized double-blind placebo-controlled trial with a single elite runner. *Physiotherapy theory and practice* 2015:1-8
55. Ferraresi C, Kaippert B, Avci P, Huang YY, de Sousa MV, Bagnato VS, et al. Low-level Laser (Light) Therapy Increases Mitochondrial Membrane Potential and ATP Synthesis in C2C12 Myotubes with a Peak Response at 3-6 h. *Photochem Photobiol* 2015;91(2):411-6
56. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Taufer D, Manfro DS, et al. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci* 2009;24(6):857-63

57. Bauer TA, Reusch JE, Levi M, Regensteiner JG. Skeletal muscle deoxygenation after the onset of moderate exercise suggests slowed microvascular blood flow kinetics in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007;30(11):2880-5
58. Francisco Cde O, Beltrame T, Ferraresi C, Parizotto NA, Bagnato VS, Borghi Silva A, et al. Evaluation of acute effect of light-emitting diode (LED) phototherapy on muscle deoxygenation and pulmonary oxygen uptake kinetics in patients with diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2015;16:572
59. Association AD. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:5-20
60. Association AH. Exercise testing and training of apparently health individuals: A handbook for physiicians. 1972. p. 5.
61. O'Brien IA, O'Hare P, Corrall RJ. Heart rate variability in healthy subjects: effect of age and the derivation of normal ranges for tests of autonomic function. *Br Heart J* 1986;55(4):348-54
62. de Moura-Tonello SC, Porta A, Marchi A, de Almeida Fagundes A, Francisco Cde O, Rehder-Santos P, et al. Cardiovascular Variability Analysis and Baroreflex Estimation in Patients with Type 2 Diabetes in Absence of Any Manifest Neuropathy. *PLoS One* 2016;11(3):e0148903
63. Aboyans V, Criqui MH, Abraham P, Allison MA, Creager MA, Diehm C, et al. Measurement and interpretation of the ankle-brachial index: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2012;126(24):2890-909
64. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412-9

65. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Stringer WW, Whipp BJ. Principles of exercise testing and interpretation. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
66. Balady GJ, Arena R, Sietsema K, Myers J, Coke L, Fletcher GF, et al. Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010;122(2):191-225
67. Catai AM, Chacon-Mikahil MP, Martinelli FS, Forti VA, Silva E, Golfetti R, et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. *Braz J Med Biol Res* 2002;35(6):741-52
68. FMS. User's Guide. Amsterdam: Finapres Medical Systems BV; 2005.
69. Ferrari M, Muthalib M, Quaresima V. The use of near-infrared spectroscopy in understanding skeletal muscle physiology: recent developments. *Philosophical transactions Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences* 2011;369(1955):4577-90
70. Wilkerson DP, Poole DC, Jones AM, Fulford J, Mawson DM, Ball CI, et al. Older type 2 diabetic males do not exhibit abnormal pulmonary oxygen uptake and muscle oxygen utilization dynamics during submaximal cycling exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;300(3):R685-92
71. Spencer MD, Murias JM, Kowalchuk JM, Paterson DH. Effect of moderate-intensity work rate increment on phase II $\tau\dot{V}O_2$, functional gain and $\Delta[HHb]$. *Eur J Appl Physiol* 2013;113(3):545-57
72. Spencer MD, Murias JM, Kowalchuk JM, Paterson DH. Pulmonary O_2 uptake and muscle deoxygenation kinetics are slowed in the upper compared with lower region

of the moderate-intensity exercise domain in older men. *Eur J Appl Physiol* 2011;111(9):2139-48

73. Jones AM, Poole DC. *Oxygen Uptake Kinetics in Sport, Exercise and Medicine*. Oxon: Routledge; 2005.

74. Hughson RL. Exploring cardiorespiratory control mechanisms through gas exchange dynamics. *Med Sci Sports Exerc* 1990;22(1):72-9

75. Whipp BJ. The slow component of O₂ uptake kinetics during heavy exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26(11):1319-26

76. Weissman ML, Jones PW, Oren A, Lamarra N, Whipp BJ, Wasserman K. Cardiac output increase and gas exchange at start of exercise. *J Appl Physiol* 1982;52(1):236-44

77. Whipp BJ. Dynamics of pulmonary gas exchange. *Circulation* 1987;76(6 Pt 2):VI18-28

78. Grassi B. Skeletal muscle VO₂ on-kinetics: set by O₂ delivery or by O₂ utilization? New insights into an old issue. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(1):108-16

79. Grassi B. Regulation of oxygen consumption at exercise onset: is it really controversial? *Exerc Sport Sci Rev* 2001;29(3):134-8

80. Behnke BJ, Kindig CA, Musch TI, Koga S, Poole DC. Dynamics of microvascular oxygen pressure across the rest-exercise transition in rat skeletal muscle. *Respir Physiol* 2001;126(1):53-63

81. Hogan MC. Fall in intracellular PO₂ at the onset of contractions in *Xenopus* single skeletal muscle fibers. *J Appl Physiol* 2001;90(5):1871-6

82. Richardson RS, Haseler LJ, Nygren AT, Bluml S, Frank LR. Local perfusion and metabolic demand during exercise: a noninvasive MRI method of assessment. *J Appl Physiol* 2001;91(4):1845-53

83. Murias JM, Spencer MD, Kowalchuk JM, Paterson DH. Influence of phase I duration on phase II VO₂ kinetics parameter estimates in older and young adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011;301(1):R218-24
84. Wilcox SL, Broxterman RM, Barstow TJ. Constructing quasi-linear VO₂ responses from nonlinear parameters. *Journal of applied physiology* 2016;120(2):121-9
85. Barstow TJ, Lamarra N, Whipp BJ. Modulation of muscle and pulmonary O₂ uptakes by circulatory dynamics during exercise. *Journal of applied physiology* 1990;68(3):979-89
86. Murias JM, Spencer MD, Kowalchuk JM, Paterson DH. Muscle deoxygenation to VO₂ relationship differs in young subjects with varying tauVO₂. *Eur J Appl Physiol* 2011;111(12):3107-18
87. DeLorey DS, Kowalchuk JM, Paterson DH. Relationship between pulmonary O₂ uptake kinetics and muscle deoxygenation during moderate-intensity exercise. *J Appl Physiol* 2003;95(1):113-20
88. Ray KK, Seshasai SR, Wijesuriya S, Sivakumaran R, Nethercott S, Preiss D, et al. Effect of intensive control of glucose on cardiovascular outcomes and death in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet* 2009;373(9677):1765-72
89. Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C, White RD. Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006;29(6):1433-8
90. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care* 2010;33(12):2692-6

91. Morrato EH, Hill JO, Wyatt HR, Ghushchyan V, Sullivan PW. Physical activity in U.S. adults with diabetes and at risk for developing diabetes, 2003. *Diabetes Care* 2007;30(2):203-9
92. Thomas N, Alder E, Leese GP. Barriers to physical activity in patients with diabetes. *Postgraduate medical journal* 2004;80(943):287-91
93. Regensteiner JG. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular exercise performance. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 2004;5(3):269-76
94. Miranda EF, Vanin AA, Tomazoni SS, Grandinetti VD, de Paiva PR, Machado CD, et al. Using Pre-Exercise Photobiomodulation Therapy Combining Super-Pulsed Lasers and Light-Emitting Diodes to Improve Performance in Progressive Cardiopulmonary Exercise Tests. *Journal of athletic training* 2016;
95. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health physics* 1989;56(5):691-704
96. Gomes CA, Leal-Junior EC, Biasotto-Gonzalez DA, El-Hage Y, Politti F, Gonzalez Tde O, et al. Efficacy of pre-exercise low-level laser therapy on isokinetic muscle performance in individuals with type 2 diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2014;15:116
97. Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus the chronic response to exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(6 Suppl):S438-45; discussion S52-3
98. Henriksen EJ. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *Journal of applied physiology* 2002;93(2):788-96
99. Sene-Fiorese M, Duarte FO, de Aquino Junior AE, Campos RM, Masquio DC, Tock L, et al. The potential of phototherapy to reduce body fat, insulin resistance and

"metabolic inflexibility" related to obesity in women undergoing weight loss treatment.

Lasers Surg Med 2015;47(8):634-42

100. 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(4):617-23

101. O'Connor E, Green S, Kiely C, O'Shea D, Egana M. Differential effects of age and type 2 diabetes on dynamic vs. peak response of pulmonary oxygen uptake during exercise. *Journal of applied physiology* 2015;118(8):1031-9

102. O'Connor E, Kiely C, O'Shea D, Green S, Egana M. Similar level of impairment in exercise performance and oxygen uptake kinetics in middle-aged men and women with type 2 diabetes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012;303(1):R70-6

103. Mac Ananey O, Malone J, Warmington S, O'Shea D, Green S, Egana M. Cardiac output is not related to the slowed O₂ uptake kinetics in type 2 diabetes. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43(6):935-42

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

105. Padilla DJ, McDonough P, Behnke BJ, Kano Y, Hageman KS, Musch TI, et al. Effects of Type II diabetes on capillary hemodynamics in skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(5):H2439-44

106. Kindig CA, Sexton WL, Fedde MR, Poole DC. Skeletal muscle microcirculatory structure and hemodynamics in diabetes. *Respir Physiol* 1998;111(2):163-75

107. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003;26(5):1589-96

108. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 2004;53 Suppl 1:S110-8
109. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006;212(2):167-78
110. Perini JL, Scotta Hentschke V, Sonza A, Dal Lago P. Long-term low-level laser therapy promotes an increase in maximal oxygen uptake and exercise performance in a dose-dependent manner in Wistar rats. *Lasers Med Sci* 2016;31(2):241-8

7. ANEXOS

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS/UFSCAR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito agudo da fototerapia por meio de diodos emissores de luz (LEDs) na cinética do consumo de oxigênio muscular e pulmonar em pacientes com diabetes mellitus

Pesquisador: Aparecida Maria Catai

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 13573013.1.0000.5504

Instituição Proponente: Universidade Federal de São Carlos/UFSCar

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 256.076

Data da Relatoria: 14/05/2013

Apresentação do Projeto:

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é responsável por redução significativa na qualidade de vida devido ao seu impacto negativo na capacidade de realização de exercícios físicos. A diminuição do condicionamento cardiopulmonar e os menores valores de consumo de oxigênio pico (VO_{2pico}) em testes de exercício têm sido associados com múltiplos fatores envolvidos nas complicações do diabetes. A fototerapia é um recurso amplamente

utilizado devido sua ação nos sistemas biológicos, podendo ser um coadjuvante do exercício na melhora da eficiência do trabalho muscular e aumento da capacidade aeróbia.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito agudo da fototerapia por meio do LED na cinética de consumo do oxigênio muscular e pulmonar, bem como na cinética da FC e PA em indivíduos com DM para avaliar os ajustes cardiovasculares sistêmicos envolvidos com a aplicação da fotoestimulação e seu potencial terapêutico na melhora da tolerância ao exercício físico.

Objetivo Secundário:

Comparar os efeitos da fototerapia em indivíduos com DM com indivíduos saudáveis, com intuito de verificar se as respostas a fototerapia ocorrerão da mesma maneira em ambos os grupos.

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

UF: SP

Telefone: (16)3351-9683

Município: SAO CARLOS

CEP: 13.565-905

E-mail: cephumanos@ufscar.br

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos que podem haver com a participação são cansaço, falta de ar, fadiga muscular, boca seca durante a avaliação. Em qualquer situação de desconforto para o voluntário, haverá uma equipe de profissionais presentes pronta para auxiliar, e a avaliação será interrompida até que o voluntário esteja apto a prosseguir com os testes.

Benefícios:

Os benefícios que podem advir com a participação na pesquisa são os voluntários conhecerem detalhadamente seu estado de saúde no que se refere à função cardio-respiratória. Esta pesquisa proporcionará dados de relevância clínica sobre o potencial terapêutico de diodos emissores de luz no Diabetes Mellitus.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A justificativa da pesquisa está embasada no fato de que estratégias de tratamento com foco no aumento da capacidade de exercício físico em indivíduos com DM são de grande importância pois a intolerância ao esforço reduz significativamente a qualidade de vida e estão relacionadas ao aumento do risco cardiovascular dessa população. Assim, o presente estudo pode ajudar a elucidar os mecanismos envolvidos com a aplicação de fototerapia e a expandir o potencial terapêutico desse importante recurso. Trata-se de uma pesquisa para obter o título de doutor pelo Programa de fisioterapia/UFSCar

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

FR de acordo;

TCLE claro e objetivo, dando as devidas seguranças ao sujeito de pesquisa;

Protocolo de pesquisa embasado teoricamente e detalhado;

Declara valor financeiro destinado ao traslado dos sujeitos de pesquisa até o laboratório onde serão realizados os testes;

Cronograma e detalhamento financeiro de acordo.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto de acordo com a Resolução 196/96.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

UF: SP

Município: SAO CARLOS

Telefone: (16)3351-9683

CEP: 13.565-905

E-mail: cephumanos@ufscar.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS/UFSCAR



Considerações Finais a critério do CEP:

SAO CARLOS, 25 de Abril de 2013

Assinador por:

**Maria Isabel Ruiz Beretta
(Coordenador)**

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

CEP: 13.565-905

UF: SP

Município: SAO CARLOS

Telefone: (16)3351-9683

E-mail: cephumanos@ufscar.br

ANEXO B – PARECER DA COMISSÃO DE PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIDADE SAÚDE ESCOLA (USE)



Universidade Federal de São Carlos

Unidade Saúde Escola (USE)

Rodovia Washington Luis, km 235 – CP 676

13565-905 – São Carlos – SP

Fone (16) 3351.8645 – e-mail: use@power.ufscar.br



São Carlos, 25 de agosto de 2014.

Parecer da Comissão de Pesquisa e Extensão da USE

Projeto: (x) Doutorado () Mestrado () Outro: _____

Título do Projeto: Efeito agudo de fototerapia por meio de diodos emissores de luz (LEDs) na cinética do consumo de oxigênio muscular e pulmonar em homens com diabetes mellitus e saudáveis

Proponente: Cristina Oliveira Francisco

Instituição de Origem: DFisio / UFSCar

Orientadora: Aparecida Maria Catai

Considerando que os documentos enviados a esta comissão contém as informações necessárias para análise do projeto de pesquisa, esta comissão é FAVORÁVEL à sua realização com a condição.

Condições:

1. Entregar e cumprir o Termo de Compromisso de Pesquisa na USE e os documentos relacionados ao Projeto.
2. Entregar ANTES do início da pesquisa o parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade.
3. Comunicar por escrito a Secretária de Apoio Acadêmico (email: apoioacademico@ufscar.br), toda alteração de projeto relacionado a USE, principalmente quando estiver relacionado a prazo, pesquisadores e sujeitos de pesquisa.
4. Encaminhar ao FINAL da pesquisa os resultados dos dados coletados na USE.

Comissão de Pesquisa e Extensão – USE
Parecerista

8. APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia
Via Washington Luís, Km 235 Caixa Postal 676
13565-905 – São Carlos – SP – Brasil
[Tel:\(016\)3351-8448](tel:(016)3351-8448) / Fax: (016)3361-2081
e-mail: ppg-cr@power.ufscar.br



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO DE PARTICIPAÇÃO NO PROJETO DE PESQUISA:

“Avaliação do efeito agudo da fototerapia por meio de diodos emissores de luz (LEDs) na cinética do consumo de oxigênio muscular e pulmonar em pacientes com diabetes mellitus”

RESPONSÁVEIS PELO PROJETO

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Aparecida Maria Catai.

Orientanda: Cristina de Oliveira Francisco

LOCAL DO DESENVOLVIMENTO DO PROJETO: Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico (NUPEF) - Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Eu, _____, _____ anos de idade, portador do RG n. _____, residente à Rua (Av):

_____, n. _____, Bairro: _____, Cidade de: _____, Estado:

_____, fui convidado a participar voluntariamente do projeto de pesquisa “Avaliação do efeito agudo da fototerapia por meio de diodos emissores de luz (LEDs) na cinética do consumo de oxigênio muscular e pulmonar em pacientes com diabetes mellitus”.

A pesquisa tem por finalidade avaliar e correlacionar a influência do diabetes sobre o coração, a capacidade de fazer exercício e a inflamação.

A sua participação na pesquisa constará em coleta de sangue para ver como estão os níveis de colesterol, as células do sangue (hemograma), a quantidade de glicose no sangue e a concentração da proteína c-reativa (que é uma substância liberada pelo organismo quando há uma reação inflamatória), teste de exercício cardiopulmonar em bicicleta para avaliar a sua capacidade de fazer exercício, teste de carga constante com aplicação de fototerapia por diodos emissores de luz para verificar se esse equipamento ajuda na melhora da capacidade de fazer exercício e coleta de sangue no lóbulo da orelha antes e depois do exercício de carga constante para verificar se o exercício modifica as concentrações de lactato e glicose no sangue.

Antes de iniciar os testes, você receberá várias instruções e será acompanhado por uma equipe treinada que estará alerta a qualquer alteração que possa sugerir a interrupção da avaliação.

Os benefícios que podem haver com a sua participação são conhecer detalhadamente como estão funcionando o seu coração e como está sua capacidade de fazer exercício, como está o nível do seu colesterol, a quantidade de açúcar no sangue, como estão as células do sangue (hemograma). Além disso, os resultados podem contribuir para o melhor controle da diabetes na sua vida, para orientar sobre a quantidade de atividade física que poderá realizar e que auxiliará a melhorar a sua qualidade de vida e a descoberta dos potenciais terapêuticos da fototerapia no exercício poderá beneficiar pessoas com diabetes bem como pessoas saudáveis. Os riscos que

pode haver com a participação são cansaço, falta de ar, fadiga muscular, boca seca durante a avaliação. Em qualquer situação de desconforto para o voluntário, haverá uma equipe de profissionais presentes pronta para auxiliar, e a avaliação será interrompida até que o voluntário esteja apto a prosseguir com os testes. As informações obtidas durante as avaliações e os exames de sangue serão mantidas em sigilo. Além disso, essas informações não poderão ser consultadas por pessoas não ligadas ao estudo sem a sua autorização expressa por escrito. As informações serão usadas, exclusivamente, para fins científicos, sem que você precise ser identificado.

Você tem a garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos e benefícios e de outras situações relacionadas a pesquisa. Além disso, os pesquisadores responsáveis se comprometem a fornecer todos os resultados de suas avaliações, de exames de sangue e informações atualizadas sobre o estudo.

Você poderá desistir de participar desta pesquisa, a qualquer momento e se isso acontecer, não haverá nenhum prejuízo.

O presente termo será emitido em duas vias, sendo que uma delas ficará em posse dos pesquisadores e outra será entregue para você, assim poderá se comunicar com os pesquisadores responsáveis pela pesquisa, a qualquer momento, nos telefones abaixo.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, cujo endereço e telefone estão apresentados neste termo.

São Carlos, ____ de _____ de ____.

Assinatura do voluntário

Responsáveis:

Prof.^a Dr.^a Aparecida Maria Catai
Chefe do Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico
e do Lab. de Fisioterapia Cardiovascular/UFSCar
telefone do Laboratório: (16) 3351-8705

Ms. Cristina de Oliveira Francisco
Doutoranda do programa de pós-graduação
em fisioterapia da UFSCAR
CREFITO-3/128049-F

E-MAILS PARA CONTATOS:

Prof.^a Dr.^a Aparecida Maria Catai: mcatai@power.ufscar.br
Ft. Sílvia Cristina Garcia de Moura: cristinaft05@gmail.com

LABORATÓRIO DE FISIOTERAPIA CARDIOVASCULAR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (NUPEF) – Departamento de Fisioterapia: Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP - Brasil. Telefone (16) 33518705.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DA UFSCAR (Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos): Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP - Brasil. Telefone (16) 3351- 8110 ou (16) 3351 8109. Endereço eletrônico: cephumanos@power.ufscar.br

STUDY PROTOCOL

Open Access



Evaluation of acute effect of light-emitting diode (LED) phototherapy on muscle deoxygenation and pulmonary oxygen uptake kinetics in patients with diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial

Cristina de Oliveira Francisco¹, Thomas Beltrame², Cleber Ferraresi³, Nivaldo Antonio Parizotto¹, Vanderlei Salvador Bagnato⁴, Audrey Borghi Silva¹, Benedito Galvão Benze⁵, Alberto Porta^{6,7} and Aparecida Maria Catai^{1*}

Abstract

Background: Type 2 diabetes mellitus (DM) is responsible for a significant reduction in the quality of life due to its negative impact on functional capacity. Cardiopulmonary fitness impairment in DM patients has been associated with limited tissue oxygenation. Phototherapy is widely utilized to treat several disorders due to expected light-tissue interaction. This type of therapy may help to improve muscular oxygenation, thereby increasing aerobic fitness and functional capacity.

Methods/Design: This study is a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial approved by the Ethics Committee of the Federal University of São Carlos and registered at ClinicalTrials.gov. Four separate tests will be performed to evaluate the acute effect of phototherapy. All participants will receive both interventions in random order: light-emitting diode therapy (LEDT) and placebo, with a minimum 14-day interval between sessions (washout period). Immediately after the intervention, participants will perform moderate constant workload cycling exercise corresponding to 80 % of the pulmonary oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) during the gas exchange threshold (GET). LEDT will be administered with a multidiode cluster probe (50 GaAlAs LEDs, 850 nm, 75 mW each diode, and 3 J per point) before each exercise session. Pulmonary oxygen uptake, muscle oxygenation, heart rate, and arterial pressure will be measured using a computerized metabolic cart, a near-infrared spectrometer, an electrocardiogram, and a photoplethysmography system, respectively.

Discussion: The main objective of this study is to evaluate the acute effects of muscular pre-conditioning using LED phototherapy on pulmonary oxygen uptake, muscle oxygenation, heart rate, and arterial pressure dynamics during dynamic moderate exercise. We hypothesize that phototherapy may be beneficial to optimize aerobic fitness in the DM population. Data will be published after the study is completed.

(Continued on next page)

* Correspondence: mcatai@ufscar.br

¹Department of Physiotherapy, Federal University of São Carlos, Rod. Washington Luís, km 235, 13.565-905 São Carlos, São Paulo, Brazil
Full list of author information is available at the end of the article



© 2015 Francisco et al. **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Lasers in Medical Science

Effect of light-emitting diode therapy (LEDT) in glucose levels, cardiopulmonary and hemodynamic adjustments during aerobic exercise in patients with diabetes mellitus: randomized controlled trial

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	LIMS-D-16-00280	
Full Title:	Effect of light-emitting diode therapy (LEDT) in glucose levels, cardiopulmonary and hemodynamic adjustments during aerobic exercise in patients with diabetes mellitus: randomized controlled trial	
Article Type:	Original Article	
Keywords:	type 2 diabetes mellitus; phototherapy; light-emitting diode; physical exercise; kinetics	
Corresponding Author:	Aparecida Maria Catai, PhD Federal University of São Carlos - UFSCar São Carlos, BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Federal University of São Carlos - UFSCar	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Cristina de Oliveira Francisco, Master Degree	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Cristina de Oliveira Francisco, Master Degree	
	Thomas Beltrame, Master Degree	
	Richard L Hughson, PhD	
	Juliana Cristina Millan-Mattos, Master Degree	
	Amanda Magdalena Ferroli-Fabricao, Bachelor in Physiotherapy	
	Benedito Galvão Benze, PhD	
	Cleber Ferraresi, PhD	
	Nivaldo Antônio Parizotto, PhD	
	Vanderlei Salvador Bagnato, PhD	
	Audrey Borghi-Silva, PhD	
	Alberto Porta, PhD	
Aparecida Maria Catai, PhD		
Order of Authors Secondary Information:		
Funding Information:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2013/08183-7)	miss Cristina de Oliveira Francisco
	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2015/20512-1)	miss Cristina de Oliveira Francisco
	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2013/07953-3)	Mrs. Aparecida Maria Catai
Abstract:	The aim of this study was to evaluate the acute effects of light-emitting diode therapy (LEDT) on glucose levels before and after exercise, as well as oxygen uptake, muscle oxygenation, heart rate and cardiac output dynamics during moderate exercise	

	<p>transition in patients with type 2 diabetes mellitus (DM). The DM and health groups (DMG, n=16 and HG, n=9, respectively) were paired by age and BMI. Four separate tests were performed and all participants received the intervention (LEDT or placebo) in random order separated by at least 14 days. LEDT was applied on the skin from a flexible light-emitting diode array (50 GaAIAs LEDs, 850nm, 75mW per diode) bilaterally on the quadriceps femoris and triceps surae muscles for 40s at each site of irradiation. After the intervention, a moderate cycling exercise was performed. Lactate and glucose levels were measured before and immediately after the LEDT/placebo and after the exercise. Oxygen uptake, deoxyhemoglobin, heart rate and cardiac output were also measured during the exercise for further analysis. The LEDT significantly decreased the glucose levels in DMG after the exercise compared with values before and after intervention ($p=0.009$ and $p=0.035$, respectively) and it did not affect the cardiopulmonary and hemodynamic adjustments in aerobic exercise and lactate levels in both groups. In conclusion, the LEDT in combination with moderate exercise acutely decreases the glucose levels in adult men with DM. Our results demonstrated a potential therapeutic effect of LEDT in combination with aerobic exercise in the management of the glycaemia in DM subjects.</p>
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------