



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO HUMANO SOB TREINAMENTO FÍSICO DE FORÇA
E FOTOESTIMULADO POR LASER DE BAIXA INTENSIDADE**

CLEBER FERRARESI

SÃO CARLOS
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO HUMANO SOB TREINAMENTO FÍSICO DE FORÇA
E FOTOESTIMULADO POR LASER DE BAIXA INTENSIDADE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração: Biotecnologia

Discente: Cleber Ferraresi

Orientadores: Prof. Dr. Euclides Matheucci Jr.
Prof. Dr. Nivaldo Antônio Parizotto

SÃO CARLOS
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

F374de

Ferraresi, Cleber.

Desempenho e a expressão gênica do músculo esquelético humano sob treinamento físico de força e fotoestimulado por laser de baixa intensidade / Cleber Ferraresi. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
130 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Biotecnologia. 2. Laser de baixa intensidade. 3. Condicionamento físico. 4. Expressão gênica. I. Título.

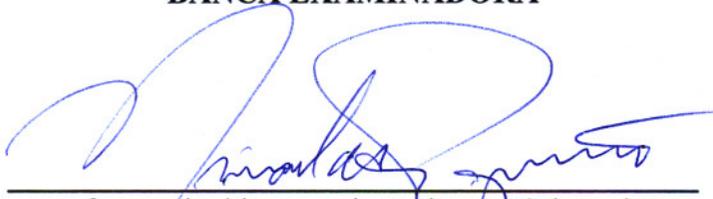
CDD: 660.6 (20^a)

Cleber Ferraresi

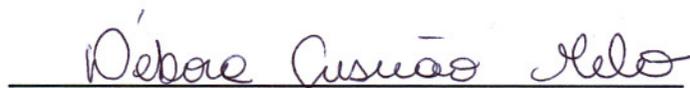
Dissertação de Mestrado submetida
à Coordenação do Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia,
da Universidade Federal de São
Carlos, como requisito parcial para
a obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia

Aprovado em: 27/08/2010

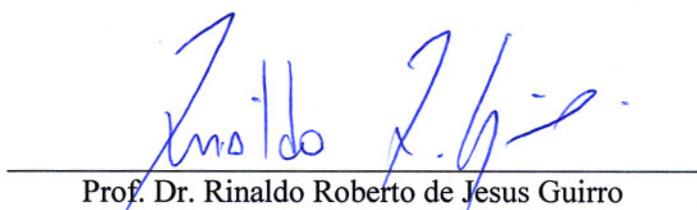
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Nivaldo Antônio Parizotto (Orientador)
(DGE/UFSCar)



Profa. Dra. Débora Gusmão Melo
(DMed/UFSCar)



Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
(USP-Ribeirão Preto)

SUMÁRIO

	PÁGINA
CONTEXTUALIZAÇÃO	01
TEMA DE INTERESSE	09
HISTÓRICO DA COMPOSIÇÃO DA DISSERTAÇÃO	10
ESTUDO I: Especificidade do treinamento: cadeia cinética fechada <i>versus</i> cadeia cinética aberta.	12
Introdução	14
Métodos	16
Resultados	24
Discussão	33
Conclusão	38
ESTUDO II: Efeitos do laser de baixa intensidade (808nm) sobre o treinamento físico de força: uma abordagem fisiológica.	39
Introdução	41
Métodos	43
Resultados	51
Discussão	56
Conclusão	64
ESTUDO III: Modulação do desempenho e da expressão gênica muscular humana pelo laser de baixa intensidade.	65
Introdução	67
Métodos	69
Resultados	81
Discussão	86
Conclusão	94

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
-----------------------------------	----

APÊNDICES

A. Ficha de avaliação	103
B. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.	106
C. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	108
D. Planilha de treinamento	112

ANEXO	114
--------------	-----

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

ESTUDO I:

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) e do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg). 27

Tabela 2 – Matriz de correlações entre a carga do teste de 1 repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e o desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI). 30

Tabela 3 – Resultados da análise de regressão para a carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg). 30

Tabela 4 – Resultados das regressões lineares para as variáveis 1RMleg, MPT.ext., PT.ext., APT.ext., MPT.flex. e PT.flex.. 31

Tabela 5 – Equações de predição das variáveis respostas (preditas) com seus respectivos percentuais explicativos e o intervalo de confiança médio (IC médio). 32

ESTUDO II:

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) e do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) após o programa de treinamento de força. 53

ESTUDO III:

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular no teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg), perimetria e expressão gênica após o programa de treinamento de força.

84

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
ESTUDO I:	
Figura 1 – A) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no dinamômetro isocinético. B) Arco de movimento desenvolvido na avaliação em dinamometria isocinética. C) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos.	22
Figura 2 – A) Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística.	25
Figura 3 – Resultados do desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; MPT.ext.= média dos picos de torque extensor do joelho; MPT.flex.= média dos picos de torque flexor do joelho; PT.ext.= pico de torque extensor do joelho; PT.flex.= pico de torque flexor do joelho; Nm= Newton.metro.	26
ESTUDO II:	
Figura 1 – A) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no dinamômetro isocinético. B) Arco de movimento desenvolvido na avaliação em dinamometria isocinética. C) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos.	50

Figura 2 – Pontos de aplicação do laser de baixa intensidade sobre o músculo quadríceps femoral. B) Mecanismo das lançadeiras de creatina mitocondrial. C) Oxidação de lactato via mitocondrial. 63

Figura 3 – Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) para os três grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística. 54

Figura 4 – Desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) para os três grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; MPT.ext.= média dos picos de torque extensor do joelho; PT.ext.= pico de torque extensor do joelho; *=significância estatística; Nm= Newton.metro. 55

Figura 5 – A) Perimetria da coxa dos três grupos nos momentos pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; Cm= centímetros; * = significância estatística. 56

ESTUDO III:

Figura 1 – Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos. 75

Figura 2 – Pontos de aplicação do laser de baixa intensidade sobre o músculo quadríceps femoral. B) Mecanismo das lançadeiras de creatina mitocondrial. 93

Figura 3 – Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística.

85

Figura 4 – Perimetria da coxa dois grupos nos momentos pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; Cm= centímetros; * = significância estatística.

86

CONTEXTUALIZAÇÃO

1 – Conceituação e Breve Histórico do Laser

A palavra LASER é uma abreviatura do inglês: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* que significa “Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação”. Sua radiação é monocromática, coerente e colimada, podendo essa energia ser propagada em longas distâncias (KITCHEN e BAZIN, 1996; TUNER e HODE, 1999; LOW e REED, 2001). Na década de 1970, os pesquisadores voltaram-se para as possíveis aplicações clínicas atérmicas (baixas potências e energia) do laser sobre os tecidos, baseados em seu efeito fotobioestimulador (MESTER; MESTER e MESTER, 1985). Assim, foi criado o *low intensity laser therapy* (LILT) ou laserterapia de baixa intensidade (LTBI), a qual começou a ser utilizada pela fisioterapia, principalmente para acelerar processos de regeneração de feridas, além de promover uma diminuição de quadros dolorosos e processos inflamatórios (LOW e REED, 2001; WOODRUFF et al., 2004).

Muitos estudos investigaram a interação e a influência das radiações eletromagnéticas, como o laser, e sistemas biológicos, como tecidos, organelas e células isoladas no tratamento de enfermidades, processos inflamatórios e dolorosos, bem como a aceleração da cicatrização e reparação tecidual (BAXTER, 1997; WOODRUFF et al., 2004; FULOP et al., 2009). E nesse contexto, a laserterapia de baixa intensidade parece influenciar positivamente os processos de reparação tecidual, pois promove a proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e de ATP (trifosfato de adenosina) para os processos celulares (FULOP et al., 2009).

Existem ainda outras possibilidades de aplicação da LTBI ainda pouco e/ou recentemente exploradas no âmbito da pesquisa científica, como a regeneração muscular através da ativação, proliferação e diferenciação de células satélites (WEISS e ORON, 1992; SHEFER et al., 2002); expressão gênica relacionada ao metabolismo celular, reparo e síntese

de DNA (ZHANG et al., 2003) e também sobre o desempenho muscular, como na redução da fadiga em músculos de ratos (VIEIRA, 2005; LOPES-MARTINS et al., 2006; VIEIRA et al., 2006), redução da fadiga muscular em humanos (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; VIEIRA, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2009c) e melhora da capacidade aeróbia e/ou o rendimento muscular em humanos (VIEIRA et al., 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009a; LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2009c). No entanto, a literatura científica ainda carece de mais investigações para elucidar completamente os mecanismos de ação desse recurso físico sobre os tecidos biológicos, principalmente aqueles que possam unir os efeitos fisiológicos e gênicos da LTBI ao rendimento muscular.

2 – Efeitos do Laser sobre o Metabolismo Celular (via mitocondrial)

A laserterapia de baixa intensidade tem uma íntima relação com o metabolismo celular por modular a atividade das mitocôndrias celulares, pois promove eventos fotoquímicos e fotofísicos que resultam em mudanças estruturais e metabólicas dessa organela, influenciando os diversos processos celulares (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005).

As modificações estruturais e metabólicas concentram-se no surgimento de mitocôndrias gigantes, principalmente pela fusão das cristas mitocondriais de mitocôndrias menores (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005), aumento da expressão e atividade de sua maquinaria enzimática, como a Citrato Sintase, NADH desidrogenase (KARU, 1999; MANTEIFEL e KARU, 2005; VIEIRA, 2005) e atividade do complexo IV da cadeia transportadora de elétrons (C.T.E.), especificamente da enzima citocromo c-oxidase (BAKEEVA et al., 1993; KARU, 1999; MANTEIFEL e KARU, 2005). Outra importante modificação metabólica refere-se ao maior fluxo de elétrons pela C.T.E. que,

conseqüentemente, conduz ao maior transporte de prótons (H^+) para fora da matriz mitocondrial (espaço intermembranas) e à uma diferença eletroquímica entre a matriz mitocondrial e o espaço intermembranas dessa organela (WILDEN e KARTHEIN, 1998; VLADIMIROV; OSIPOV e KLEBANOV, 2004).

O resultado dos eventos fotoquímicos e fotofísicos desencadeados pela LTBI nas mitocôndrias celulares é a maior síntese de ATP de forma aeróbia, ou seja, via C.T.E. e fosforilação oxidativa (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005) alterando, então, a bioenergética celular e viabilizando os diversos processos celulares pelo favorecimento da via metabólica aeróbia.

A ação do laser sobre a bioenergética baseia-se na interação de sua energia eletromagnética com fotorreceptores biológicos (cromóforos) que fazem parte de vias bioquímicas celulares. No complexo IV da C.T.E. existem dois citocromos (a e a_3) e dois íons (Cu_A e Cu_B) como exemplo desses cromóforos (KARU, 1999; KARU; PYATIBRAT e AFANASYEVA, 2004). Esses cromóforos respondem a uma faixa de luz específica (infravermelho próximo) e, após a conversão da energia eletromagnética em energia bioquímica, há mudança no potencial de óxido-redução dessas moléculas (KARU, 1999). O resultado final desse processo é o maior fluxo no transporte de elétrons que, conseqüentemente, leva ao aumento da síntese de ATP (MANTEIFEL e KARU, 2005; KARU, 2008).

3 – Efeitos do Laser sobre o Metabolismo Celular (via células satélites)

As células satélites foram primeiramente descritas como mioblastos adormecidos, localizados entre a lâmina basal e o sarcolema da fibra muscular, representando uma população de células inativas em músculos adultos e maduros (MAURO, 1961). Elas são consideradas células de reserva, pois, apesar de não sofrerem total desenvolvimento embrionário, são capazes de retomar esse programa de miogênese em resposta a uma lesão muscular (MAURO, 1961), como as microlesões decorrentes do treinamento de força (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007). Essas microlesões podem estimular a proliferação nuclear das células satélites e atraí-las ao sítio de lesão por mecanismos quimiotáticos, ativando células mononucleadas inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) e mecanismos moleculares da diferenciação celular (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004).

Nesse processo de proliferação e diferenciação, as células satélites já diferenciadas podem ser incorporadas as fibras musculares lesadas como novos mionúcleos e, dessa forma, conferem maior suporte genético para a expressão de novas proteínas contráteis e melhora do domínio mionuclear (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007; PETRELLA et al., 2008). Ou ainda podem ser ativadas e formarem mioblastos que, seqüencialmente, se fundem para a formação de miotubos que originarão novas miofibrilas (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004), contribuindo para a otimização do processo de hipertrofia do músculo esquelético (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007; PETRELLA et al., 2008). E, nesse contexto, a LTBI parece modular o metabolismo dessas células por interferir no seu ciclo celular, conduzindo a sua maior proliferação (BEN-DOV et al., 1999; SHEFER et al., 2002) e também diferenciação, originando mioblastos e/ou a fusão de mioblastos para a formação de miotubos (WEISS e ORON, 1992).

Dessa maneira, alguns autores investigaram a possível interação da LTBI com as células satélites. Nos estudos com o músculo gastrocnêmio de ratos após processo de lesão muscular e laserterapia de baixa intensidade, foram encontradas a formação de novas fibrilas musculares que preencheram o *gap* e devolveram as características contráteis ao sítio da lesão (ROTH e ORON, 1985; WEISS e ORON, 1992). Segundo a hipótese dos autores, houve maior proliferação e diferenciação das células satélites em mioblastos e/ou a fusão de mioblastos para formação de miotubos (ROTH e ORON, 1985; WEISS e ORON, 1992).

Bibikova e Oron (1994) observaram a regeneração de gastrocnêmios de anfíbios por meio da fotoestimulação laser, a qual promoveu uma maior maturação das miofibrilas jovens, quando comparadas àquelas que não foram fotoestimuladas. Avaliaram também a resposta celular frente à densidade de energia, comprimento de onda e o tipo de laser utilizado, verificando alteração no grau de proliferação e atividade enzimática com doses entre $0.05\text{J}/\text{cm}^2$ a $42\text{J}/\text{cm}^2$. Os autores sugerem que os lasers de HeNe (632nm) e GaAs (904nm) podem melhorar a regeneração do músculo esquelético em humanos frente a lesões, onde a regeneração é limitada e geralmente resultaria em tecido cicatricial no local da lesão.

Mais recentemente, no estudo de Shefer et. al (2002) com culturas de fibras musculares (*in vitro*) fotoestimuladas por laser (632nm), foi encontrado um aumento no número e ativação de células satélites ao redor dessas fibras musculares imediatamente após a fotoestimulação, aumentando, assim, sua proliferação. Foi demonstrado também, através de reagentes e anticorpos para BAX (molécula marcadora da morte celular) e Bcl-2 (proteína presente na sobrevivência celular), que a irradiação laser foi eficiente para aumentar os níveis de Bcl-2, enquanto não se identificou a BAX, sugerindo uma ação anti-apoptótica do laser nessas células musculares, além de uma atividade mitótica e angiogênica.

4 – Laserterapia de Baixa Intensidade e Atividade Física

A interação da laserterapia de baixa intensidade (LTBI) com os tecidos biológicos suscitou a curiosidade de muitos pesquisadores que, atualmente, estão explorando os efeitos desse recurso físico na melhoria do desempenho muscular humano em atividades físicas (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2008b; VIEIRA et al., 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2009c).

Inicialmente, os estudos concentraram-se na investigação da fadiga muscular em animais de experimentação (VIEIRA, 2005; LOPES-MARTINS et al., 2006; VIEIRA et al., 2006; SUSSAI et al., 2010) e os resultados obtidos foram animadores para a posterior aplicação em seres humanos. Assim, recentes trabalhos procuraram encontrar a efetividade dessa terapia sobre o desempenho muscular em seres humanos, pois é uma linha de pesquisa inovadora (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2008a; LEAL JUNIOR et al., 2008b; VIEIRA, 2008; VIEIRA et al., 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009a; LEAL JUNIOR et al., 2009c).

A LTBI parece relacionar-se intimamente com as mitocôndrias celulares, proporcionando aumento e fusão das mesmas e modificando seu metabolismo energético através da maquinaria enzimática (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005), conduzindo para a maior disponibilidade energética e realização das atividades celulares. Dessa forma, o treinamento de *endurance* ou de baixa intensidade, que é caracterizado por recrutar fibras oxidativas (fibras do tipo I), melhorar a cinética do ácido láctico, proporcionar maior densidade mitocondrial e de enzimas oxidativas para metabolizar ácidos graxos (COFFEY e HAWLEY, 2007; HAWLEY, 2009), seria possivelmente otimizado pela ação da LTBI, pois reduziria a fadiga muscular ou aumentaria a capacidade aeróbia de sujeitos

treinados e fotoestimulados pela LTBI (VIEIRA et al., 2006; VIEIRA, 2008; VIEIRA et al., 2008).

Outra modalidade de exercício empregada no condicionamento físico, sobretudo em humanos, é o exercício de força, no qual o estímulo mecânico da sobrecarga provoca adaptações que resultam em maior recrutamento energético de forma anaeróbia e altera as características contráteis das fibras musculares, promovendo transição entre as fibras do tipo I e IIx para o tipo IIa (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007). Além disso, aumenta o recrutamento, sincronismo e frequência de disparos das unidades motoras das fibras musculares em atividade, principalmente as do tipo IIa, que apresentam características glicolíticas e oxidativas concomitantemente e, por fim, promove o aumento da área de secção transversa do músculo (hipertrofia), conduzindo à maior força e desempenho (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

A hipertrofia muscular decorrente dos exercícios de força são relacionadas ao grau de microlesões provocadas na estrutura do músculo esquelético em atividade, pois são situações em que as células satélites iniciam seu programa de miogênese e contribuem para a regeneração dessas fibras lesadas (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007; PETRELLA et al., 2008). E nesse sentido, ainda não temos conhecimento de qualquer estudo que tenha envolvido o processo de regeneração muscular em seres humanos submetidos a treinamento físico de força associado à LTBI, pois apenas estudos *in vitro* ou com animais de experimentação estão disponíveis na literatura (WEISS e ORON, 1992; BEN-DOV et al., 1999; SHEFER et al., 2002).

Por fim, nos estudos recentes envolvendo o treinamento físico de força associado à LTBI, investigou-se a resistência à fadiga dos sujeitos por meio do desempenho muscular em testes anaeróbios máximos, como o Wingate; ou ainda o número de repetições máximas realizadas com carga de 75% de uma repetição máxima (1RM). Os marcadores bioquímicos

como o lactato (LEAL JUNIOR et al., 2008b; LEAL JUNIOR et al., 2009c) e lactato mais a creatina quinase (LEAL JUNIOR et al., 2008a; LEAL JUNIOR et al., 2009a) foram os parâmetros adotados na identificação do desempenho muscular. Nesses estudos, a hipótese proposta pelos autores para a melhora do rendimento muscular dos avaliados, foi a LTBI promover menor estresse oxidativo celular, prevenir a isquemia tecidual e o possível aumento da remoção do lactato. Entretanto, mais mecanismos fisiológicos devem estar relacionados aos melhores desempenhos musculares desses avaliados, sobretudo mecanismos relacionados à bioenergética do exercício e à expressão de genes específicos que podem induzir esses melhores desempenhos.

TEMA DE INTERESSE

Diante do exposto, o presente estudo teve como primeiro propósito avaliar os efeitos da laserterapia de baixa intensidade sobre o desempenho muscular de indivíduos saudáveis e com padrão de atividade física iniciante ou moderadamente treinado, quando submetidos a treinamento físico de força. O segundo propósito foi comparar os parâmetros do desempenho muscular entre indivíduos que receberam a fotoestimulação pelo laser de baixa intensidade e aqueles que não foram fotoestimulados.

HISTÓRICO DA COMPOSIÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta de três artigos originais. A coleta dos dados desses artigos foi realizada simultaneamente, entretanto, serão apresentados em ordem cronológica de análise e confecção dos mesmos.

O estudo I investigou a especificidade do treinamento e as suas formas de avaliação. Nesse estudo, quantificamos a transferência dos ganhos de desempenho muscular obtidos após um programa de treinamento físico de força em cadeia cinética fechada (CCF), para outra atividade em cadeia cinética aberta (CCA). A quantificação do desempenho muscular envolveu testes de 1 repetição máxima em leg press (1RM_{leg}) e avaliações do desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) na atividade de extensão dos joelhos. A partir dos resultados dessas avaliações, foram realizados testes de correlações produto-momento de *Pearson* e regressões lineares múltiplas e simples para predizer essas avaliações em CCF e CCA. Dessa forma, podemos entender melhor as formas de avaliação do desempenho muscular para adequarmos, de acordo com a especificidade da atividade física realizada e do objetivo proposto, os futuros estudos que mensurem o desempenho muscular de atletas, desportistas ou pacientes em reabilitação.

O estudo II abordou os efeitos da laserterapia de baixa intensidade (LTBI) sobre o desempenho muscular de indivíduos jovens, com padrão de atividade física iniciante ou moderadamente treinado. Frente ao exposto na contextualização dessa dissertação, esse estudo investigou se indivíduos fotoestimulados por LTBI e submetidos a um programa de treinamento físico e crônico de força, teriam melhores desempenhos musculares que aqueles submetidos ao mesmo programa de treinamento, porém sem fotoestimulação por LTBI. Dessa forma, esse estudo procurou também elucidar os mecanismos fisiológicos da interação da LTBI sobre a bioenergética do exercício de força proposto.

Com o objetivo de aprofundar e entender molecularmente os efeitos da LTBI sobre o desempenho muscular humano, o estudo III investigou se a expressão gênica de sujeitos submetidos ao programa de treinamento físico de força e fotoestimulação por LTBI seria modulada. Foram realizadas biópsias musculares nos períodos pré e pós o programa de treinamento e, por meio de expressão gênica global (*microarrays*), foram avaliadas a super-expressão e a sub-expressão de genes relacionados às células satélites, à hipertrofia e atrofia muscular, à biogênese e atividade enzimática mitocondrial. Dessa maneira, conseguimos elucidar alguns mecanismos fisiológicos e moleculares que a LTBI pode exercer influência positiva, aumentando o desempenho muscular de indivíduos treinados e fotoestimulados por esse recurso terapêutico.

ESTUDO I

**ESPECIFICIDADE DO TREINAMENTO: CADEIA CINÉTICA FECHADA *versus*
ABERTA**

RESUMO

Contexto e Objetivos: Com base na especificidade do treinamento e das formas de sua avaliação, os ganhos de desempenho muscular dos exercícios em cadeia cinética fechada (CCF) podem não serem transferidos com a mesma proporção para outra atividade física em cadeia cinética aberta (CCA). Assim, nossos objetivos foram quantificar a transferência dos ganhos de desempenho muscular de um programa de treinamento físico de força em CCF (leg press), para a atividade de extensão do joelho (CCA) em dinamometria isocinética. Também identificar as correlações entre a 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) e o desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) para predizê-los por meio de regressões lineares.

Desenho do estudo/Materiais e métodos: Participaram 20 sujeitos do gênero masculino; clinicamente saudáveis; com padrão de atividade física iniciante ou moderada. Os sujeitos foram alocados aleatoriamente em dois grupos distintos: grupo controle (GC) e grupo treinamento (GT), o qual foi submetido a um programa de treinamento físico de força por 12 semanas em leg press. Testes de 1RMleg e DMDI avaliaram o desempenho muscular do quadríceps femoral e isquiotibiais dos grupos GT e GC no início e final da pesquisa. Testes de correlações produto-momento de *Pearson* e regressões lineares estabeleceram, respectivamente, as correlações e as previsões da 1RMleg e DMDI.

Resultados: O programa de treinamento aumentou a 1RMleg em 26% ($p < 0,001$) mas não transferiu significativamente ($p > 0,05$) esse ganho para o DMDI. As correlações variaram de moderadas a fortes entre 1RMleg e o DMDI. As previsões variaram de 15% a 46% para o DMDI e foi de 67% para a 1RMleg.

Conclusão: Apesar de identificadas correlações moderadas a fortes entre as atividades em CCF e CCA, os ganhos de desempenho muscular nas atividades de CCF podem não serem transferidos para outra atividade realizada em CCA.

Palavras-chave: Correlações, 1RM, Cadeia Cinética Fechada, Cadeia Cinética Aberta, Dinamômetro isocinético.

1 – INTRODUÇÃO

O treinamento de força é uma das mais praticadas formas de atividade física, principalmente por aumentar o desempenho muscular nos esportes, prevenir lesões e também acelerar os processos de reabilitação musculoesquelética (AUGUSTSSON et al., 1998; FOLLAND e WILLIAMS, 2007; TAGESSON et al., 2008). A melhora do desempenho muscular pode ser caracterizada pelo aumento da área de secção transversa (hipertrofia), preferencialmente das fibras do tipo IIA; aumento do recrutamento, sincronismo e da frequência de disparos das unidades motoras das fibras musculares que, em conjunto com a hipertrofia, levam ao aumento da força dos músculos sob essa atividade (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

Os programas de treinamento ou os exercícios propostos para a reabilitação muscular, como nos casos pós-cirúrgicos (TAGESSON et al., 2008), precisam ser adequadamente escolhidos e avaliados de acordo com o objetivo e a especificidade do treino (STONE; PLISK e COLLINS, 2002). A especificidade do treinamento envolve características importantes que determinam o quanto o exercício proposto é adequado ao objetivo, seja para o ganho de força, hipertrofia muscular, resistência muscular, ou ainda a melhora do desempenho funcional (PINCIVERO; LEPHART e KARUNAKARA, 1997; STONE; PLISK e COLLINS, 2002; HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007). Assim, a escolha do treinamento torna-se uma questão crítica que também demanda uma precisa e sensível escolha dos testes de avaliação do desempenho dos músculos que serão treinados, ou reavaliados após o programa de treinamento proposto (AUGUSTSSON et al., 1998; GLOWACKI et al., 2004; HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007).

Os programas de treinamento físico para fins atléticos ou de reabilitação são geralmente realizados de duas maneiras distintas, em cadeia cinética aberta (CCA) e cadeia

cinética fechada (CCF) (AUGUSTSSON et al., 1998; TAGESSON et al., 2008). Os exercícios em cadeia cinética aberta (CCA) produzem movimento, geralmente, em uma única articulação e têm a carga de trabalho fixada na extremidade distal do segmento corporal do sujeito, o qual está livre para movimentar-se, como na mesa extensora. Já os exercícios em CCF envolvem múltiplas articulações, têm a descarga do peso corporal ou cargas aleatórias sobre o segmento corporal distal, o qual está fixado no solo ou em qualquer outra base, como no leg press (STENSDOTTER et al., 2003).

A mensuração do desempenho muscular nas atividades realizadas em CCF e CCA, geralmente envolve testes isotônicos de uma repetição máxima (1RM) em leg press (1RMleg) (CCF) e testes isocinéticos de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI), principalmente na atividade de extensão dos joelhos (CCA) (WAWRZYNIAK et al., 1996; VERDIJK et al., 2009). Esses testes possibilitam avaliações mais completas e que auxiliam no direcionamento dos programas de treinamento e reabilitação (HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007; NAKAGAWA et al., 2008).

Alguns trabalhos reportados na literatura científica identificaram correlações moderadas e positivas entre testes isotônicos e isocinéticos de avaliação do desempenho muscular (DAWN T. GULICK et al., 1998/1999; LANGFORD et al., 2007). Esses trabalhos utilizaram exercícios semelhantes, ou seja, CCA x CCA ou CCF x CCF para estabelecerem essas correlações, indicando também que existe uma possível transferência dos ganhos de desempenho muscular entre as formas de avaliação isotônicas e isocinéticas, podendo-se até predizê-las (DAWN T. GULICK et al., 1998/1999). Contudo, outros autores utilizaram programas de treinamento físico isotônicos em CCF e avaliaram o efeito desses treinamentos em dinamometria isocinética em CCA (WAWRZYNIAK et al., 1996; AUGUSTSSON et al., 1998), assumindo que existem transferências dos ganhos de desempenho entre esses diferentes exercícios, e/ou correlações que permitem a predição de seus resultados.

Entretanto, os resultados desses trabalhos são divergentes e, dessa forma, o presente estudo teve três objetivos: a) quantificar as possíveis transferências dos ganhos de desempenho muscular, obtidos após programa de treinamento físico de força em leg press (CCF), para a atividade de extensão do joelho (CCA) em dinamometria isocinética; b) identificar as possíveis correlações entre a 1RMleg e o DMDI, o qual foi representado pelas variáveis média dos picos de torque extensor e flexor do joelho (MPT.ext. e MPT.flex., respectivamente), pico de torque extensor e flexor do joelho (PT.ext. e PT.flex., respectivamente) e ângulo de pico de torque extensor do joelho (APT.ext.) e c) prever, através de regressões lineares múltiplas, a 1RMleg a partir do DMDI. Prever também, através de regressões lineares simples, o DMDI a partir da 1RMleg.

2 – MÉTODOS

2.1 - Delineamento do estudo

Este estudo foi desenhado como um ensaio clínico controlado e randomizado. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (parecer de aprovação nº 342/2008) e registrado no Clinical Trials (NCT01113021). Os sujeitos foram recrutados entre os estudantes de graduação da universidade e foram informados sobre os objetivos do estudo, procedimentos e, após a admissão ao experimento, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Todas as avaliações foram realizadas nos Laboratórios de Fisiologia do Exercício e Laboratório de Avaliação Isocinética dos Departamentos de Ciências Fisiológicas e de Fisioterapia, respectivamente; todos pertencentes à Universidade Federal de São Carlos.

2.2 - Sujeitos

Fizeram parte do estudo 20 sujeitos do gênero masculino (idade= $22\pm 2,4$ anos; altura= $1,80\pm 0,05$ metros; massa corporal= $76,8\pm 9,9$ kg; IMC= $23,3\pm 2,2$ kg/m²).

Critérios de inclusão: Os sujeitos deveriam ser saudáveis; com idade entre 18 e 28 anos; índice de massa corpórea (IMC) igual ou inferior a 26 e com padrão de atividade física iniciante ou moderadamente treinado, ou seja, realizavam alguma atividade física com fins não competitivos entre 1 a 3 vezes por semana, conforme estudos prévios (WAWRZYNIAK et al., 1996; CASPERSEN; PEREIRA e CURRAN, 2000).

Critérios de exclusão: Os sujeitos apresentarem qualquer história de lesão muscular do quadríceps femoral ou isquiotibiais (6 meses prévios ao estudo); desordem no sistema osteoarticular dos membros inferiores; desordem no sistema cardiovascular; doença sistêmica ou estarem sob tratamento de qualquer fármaco ou suplemento alimentar, principalmente relacionados ao ganho de massa muscular.

2.3 – Randomização

A randomização foi realizada por meio de sorteio e os sujeitos foram alocados igualmente em dois grupos distintos: Grupo Treinamento (GT) e Grupo Controle (GC).

Grupos do estudo: O grupo GT foi submetido a um programa de treinamento físico dinâmico, crônico e de força em leg press durante 12 semanas consecutivas, com frequência dos treinos de duas vezes por semana em dias não consecutivos. Já o grupo GC serviu apenas de controle, ou seja, não foi submetido a qualquer forma de intervenção ou tratamento e, por isso, só foi avaliado no início e no final do estudo.

2.4 - Instrumentos

Foram utilizados: leg press inclinado a 45° (*Reforce* – São Paulo, BRA) para o teste de 1RMleg; goniômetro (*ISP – Instituto São Paulo*, São Paulo, BRA) para a determinação do ângulo de flexão do joelho no teste de 1RMleg; metrônomo digital (*Qwick time* – modelo QT5, JPN) para padronização dos tempos de contrações musculares concêntricas e excêntricas durante o período de treinamento, e um Dinamômetro Isocinético Computadorizado (*Biodex, Multi-Joint System III* – New York – USA) para o registro das variáveis isocinéticas de desempenho muscular.

2.5 – Procedimentos

No período matutino do dia, foi realizada a avaliação do desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI), registrando-se as variáveis *MPT.ext.* (Média dos Picos de Torque extensor do joelho das duas séries dessa avaliação); *PT.ext.* (Pico de Torque extensor do joelho das duas séries dessa avaliação); *APT.ext.* (média do Ângulo de Pico de Torque extensor do joelho das duas séries dessa avaliação); *MPT.flex.* (Média dos Picos de Torque flexor do joelho das duas séries dessa avaliação) e *PT.flex.* (Pico de Torque flexor do joelho das duas séries dessa avaliação). No período vespertino do mesmo dia, foi realizado o teste de 1RMleg. Os resultados das avaliações do desempenho muscular foram normalizados pela massa corporal dos indivíduos (MC) e multiplicado por 100, exceto a variável *APT.ext.*, conforme já relatado por estudo prévio como forma de normalização do desempenho muscular (NAKAGAWA et al., 2008). Todos os sujeitos foram orientados a não alterarem suas rotinas físicas normais e seus hábitos alimentares durante todo o experimento, bem como não ingerirem bebida alcoólica e dormirem bem (tempo e qualidade do sono).

Também foi conduzido um estudo piloto para estabelecer a confiabilidade e a reprodutibilidade das avaliações de 1RMleg e DMDI. Seis sujeitos, que não fizeram parte do

estudo, foram testados em duas ocasiões distintas pelo mesmo avaliador, com um intervalo de 5 dias entre cada e aleatorização da ordem de realização. Utilizamos o coeficiente de correlação intraclass (*intraclass correlation coefficient* – ICC, 3,1) para avaliar a confiabilidade intra-avaliador e o erro padrão da medida (*standard error of measurement* – SEM) para descrever a reprodutibilidade das medidas. A confiabilidade e reprodutibilidade das variáveis estudadas, expressos como ICC (SEM), foram 0,92[(5 Nm/MC)x100] para a MPT.ext.; 0,93[(5,17 Nm/MC)x100] para o PT.ext.; 0,83(<1°) para APT.ext.; 0,61[(5,49 Nm/MC)x100] para MPT.flex.; 0,61[(5,50 Nm/MC)x100] para PT.flex. e 0,99[(0,71 Kg/MC)x100] para 1RMleg.

2.5.1 Protocolos das avaliações e do treinamento

Avaliação do DMDI: Primeiramente foi realizado um breve período de aquecimento, de 5 minutos, em bicicleta ergométrica (*Ergo-FIT* – modelo Ergo 167 Cycle, Pirmasens, Germany) com carga de 100 W e velocidade entre 60 e 70 rotações por minuto. Em seguida, os sujeitos foram posicionados no Dinamômetro Isocinético, o qual foi previamente calibrado. Os indivíduos assumiram uma postura devidamente alinhada e estabilizada por cintos com a finalidade de evitar possíveis movimentos compensatórios, conforme modelo-exemplo ilustrado no manual de instruções do aparelho. Apenas o membro inferior dominante foi avaliado, o qual foi determinado como aquele utilizado para chutar uma bola com maior precisão. O eixo de rotação do dinamômetro foi alinhado com o eixo de flexão e extensão do joelho desse mesmo membro (ao nível do epicôndilo lateral do fêmur) (Figura 1A). O quadril foi estabilizado em flexão de 80° e o braço de alavanca do equipamento fixado aproximadamente a 1cm proximal do maléolo tibial. Parâmetros como altura e base da cadeira, distância do espaldar, nível do assento e base do dinamômetro foram ajustados para cada indivíduo.

Antes do início do registro do DMDI, foi realizada uma familiarização ao aparelho. A familiarização consistiu de três contrações musculares concêntricas voluntárias submáximas em toda a amplitude de movimento pré-programada de flexão e extensão do joelho (90°-20°, respectivamente), com velocidade angular constante de 60°/s. Após 3 minutos de repouso, iniciou-se o teste através da realização de 2 séries de cinco contrações concêntricas voluntárias máximas e recíprocas do quadríceps femoral e isquiotibiais, separadas por um intervalo de 3 minutos entre cada uma, por toda a amplitude de movimento de flexão e extensão do joelho pré-programada (Figura 1B). Foi dado encorajamento verbal e visual aos sujeitos para se alcançar o máximo de esforço. Os dados dessa avaliação foram somente aceitos com um coeficiente de variação menor que 10% (DAWN T. GULICK et al., 1998/1999).

Avaliação da 1RMleg: Primeiramente foi realizado um breve período de aquecimento, de 5 minutos, em bicicleta ergométrica (*Ergo-FIT* – modelo *Ergo 167 Cycle*, Pirmasens, Germany) com carga de 100 W e velocidade entre 60 e 70 rotações por minuto. Em seguida, foi demonstrada a técnica de levantamento da carga no teste pelo avaliador. O teste foi padronizado pela delimitação da excursão dos membros inferiores de cada sujeito, identificando-se a flexão de 90° do joelho (por meio de goniômetro) e marcada, no aparelho de leg press, a posição (em cm) que correspondia a essa angulação. O arco de movimento proposto foi de 0° (extensão completa dos joelhos e início do movimento) até 90° de flexão (final do movimento). Os referenciais anatômicos para a identificação do ângulo desejado foram: trocânter maior do fêmur, epicôndilo lateral do fêmur e maléolo fibular do mesmo membro inferior (Figura 1C). Antes do início do teste, foi realizada uma familiarização ao aparelho que se constituiu de 10 repetições com uma carga aleatória, estimada subjetivamente e inferior a 60% da 1RMleg. Essa carga subjetiva foi identificada de acordo com o grau de

esforço físico que o sujeito realizou na familiarização ao aparelho, seguindo-se a escala de OMNI, onde 0 corresponde a extremamente fácil e 10 extremamente difícil (IRVING et al., 2006). O incremento de cargas para se chegar a 1RMleg foi por meio de percentuais da carga de familiarização ao aparelho e, dessa forma, dependeu da resposta dos sujeitos frente à escala de esforço de OMNI. A escolha das cargas respeitou o limite de cinco tentativas separadas por intervalos de 5 minutos, evitando disfunções metabólicas que pudessem prejudicar a qualidade do teste. Foi dado encorajamento verbal aos sujeitos para se alcançar o máximo de esforço.

Protocolo do treinamento: Após 2 dias das avaliações iniciais de 1RMleg e DMDI, os sujeitos do grupo GT iniciaram um programa de treinamento físico de força, baseado em literatura científica específica (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007; RATAMESS et al., 2009). O programa de treinamento consistiu de dois treinos semanais em leg press inclinado a 45°, em dias não consecutivos. O período total do treinamento foi de 12 semanas consecutivas (3 meses), totalizando 24 sessões. A intensidade do treinamento foi sempre de 80% da 1RMleg e o volume do treino de 50 repetições, divididas em 5 séries de 10 repetições cada. Caso o sujeito não conseguisse completar as 10 repetições de cada série, ele realizava o número máximo de repetições até a sua falha muscular concêntrica durante essa série e lhe era concedido o intervalo de repouso. O intervalo de repouso entre as séries foi de 2 minutos e os sujeitos foram instruídos quanto à velocidade da realização do exercício por meio de um metrônomo: 2 segundos de contração muscular excêntrica para 1 segundo de concêntrica. (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007).

Todos os treinos foram monitorados quanto à temperatura ambiente (entre 23 e 26 graus Celsius); à frequência cardíaca dos sujeitos; à amplitude de movimento desenvolvida nos testes de 1RMleg e durante o treinamento em leg press, validando a carga dos testes de

1RMleg e o treino. Os ajustes da carga de trabalho foram feitos por meio de reavaliações da 1RMleg a cada 8 treinos, sempre no mesmo período do dia que o sujeito estabeleceu para treinar e, dessa forma, o substituiu. Dois dias após o 24º treino, os sujeitos foram submetidos às avaliações finais de dinamometria isocinética e 1RMleg.

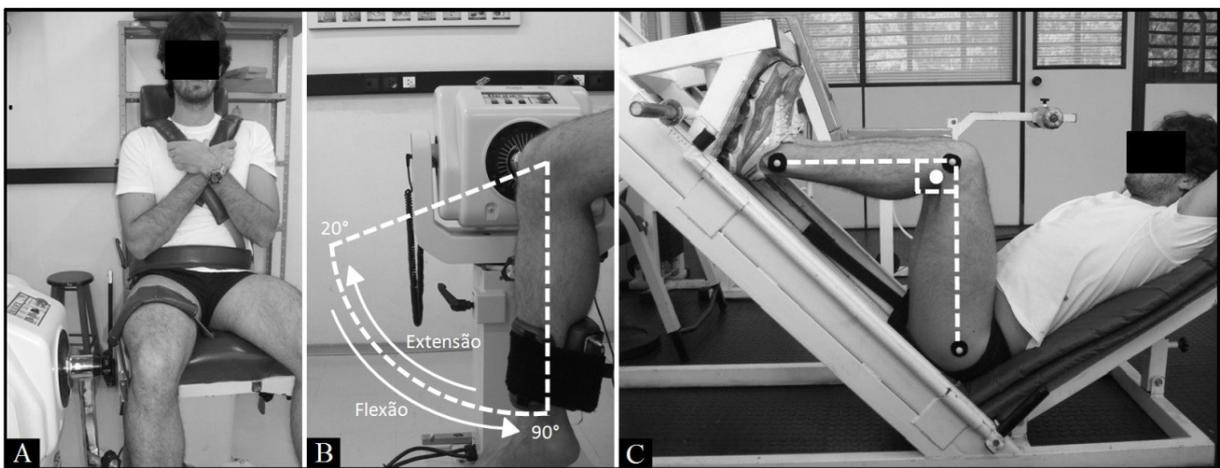


Figura 1 – A) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no dinamômetro isocinético. B) Arco de movimento desenvolvido na avaliação em dinamometria isocinética. C) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos.

2.6 - Análise estatística

Foi analisada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade das variâncias pelo teste de *Levene*.

O efeito do treinamento sobre a 1RMleg e o DMDI foram verificados por meio da análise de variâncias (ANOVA two-way) com medidas repetidas em apenas um fator. Os fatores independentes foram o grupo (com 2 níveis – grupo treinamento e grupo controle) e o tempo (com 2 níveis – inicial e final), o qual também foi considerado como medida repetida.

Quando encontradas diferenças significativas, realizamos o teste de *post-hoc* de *Tukey*. O efeito do treinamento também foi analisado pela variação percentual das variáveis estudadas em relação à linha de base (considerada 100%) e comparado entre os grupos pelo teste de *Mann-Whitney*.

As correlações entre 1RMleg e o DMDI foram realizadas por meio de correlações produto-momento de *Pearson*.

A predição da 1RMleg e das variáveis do DMDI foram obtidas por meio de modelos matemáticos de regressões lineares múltiplas e simples, respectivamente, a partir de *forward stepwise regressions analyses*. Os pressupostos para elaboração desses modelos foram: as variáveis preditoras (ou independentes) correlacionarem-se de forma estatisticamente significativa com a variável resposta (ou dependente) a ser predita; as variáveis preditoras manterem a correlação estatisticamente significativa quando associadas a outras variáveis preditoras do modelo; as variáveis preditoras não apresentarem colinearidade, verificada pelos testes de *variance inflation factor* (VIF) e tolerância estatística (1/VIF) (FIELD, 2005); não existirem casos influentes sobre o modelo, analisado por meio do teste da *distância de Cook* (FIELD, 2005); os resíduos serem normais, verificado por meio de comparações entre seu histograma padronizado e a curva de distribuição normal; os resíduos não apresentarem erros independentes, verificados pelo teste de *Durbin-Watson* (FIELD, 2005).

A partir dos resíduos também foi calculado e expresso o intervalo de confiança (IC) médio dos valores preditos para as variáveis respostas (IC médio= média de -95%IC e média de +95%IC). Consideramos o nível do alfa de 0,05 e os índices das correlações produto-momento de *Pearson* de $0,7 \leq r < 0,89$ = fortes; $0,4 \leq r < 0,69$ = moderados e $0,2 \leq r < 0,39$ = fracos (WEBER e LAMB, 1970). Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software *Statística* (versão 7; StatSoft,Inc., Tulsa, OK, USA), exceto os cálculos dos

pressupostos das regressões lineares, para os quais foi utilizado o software SPSS (versão 17, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

3 – RESULTADOS

Os dados da 1RMleg e do DMDI tiveram distribuição normal e homogeneidade das variâncias.

As avaliações iniciais da 1RMleg e DMDI foram comparadas entre os dois grupos do estudo para se identificar qualquer diferença estatisticamente significativa, fato não observado para nenhuma variável ($p>0,05$), demonstrando que os grupos eram estatisticamente iguais no início da pesquisa.

Após o programa de treinamento, a massa corporal utilizada para normalização do desempenho muscular nos testes de 1RMleg e DMDI sofreu mudança, porém não significativa ($p>0,05$). O grupo GT aumentou de $75,7\pm 6,3\text{kg}$ para $76,8\pm 7,3\text{kg}$ (1,5%) e o grupo GC aumentou de $77,1\pm 13,5\text{kg}$ para $77,2\pm 13,3\text{kg}$ (0,12%).

O desempenho muscular, avaliado pela 1RMleg, teve média inicial de $512\pm 83[(\text{kg/MC})\times 100]$ para o grupo GT e $455\pm 84[(\text{kg/MC})\times 100]$ para o grupo GC. Nas análises das médias e variâncias após o programa de treinamento do estudo, o grupo GT aumentou significativamente ($p<0,001$) a carga desse teste para $650\pm 96[(\text{kg/MC})\times 100]$. O grupo GC também aumentou para $457\pm 79[(\text{kg/MC})\times 100]$, mas sem significância estatística ($p=0,999$). Quando comparado ao grupo GC, o grupo GT aumentou significativamente a carga desse teste ($p=0,016$). Em percentual, o aumento de 26,83% na carga da 1RMleg do grupo GT foi estatisticamente maior ($p<0,001$) que o aumento de 0,27% do grupo GC. Essas

mudanças na carga do teste de 1RMleg estão resumidos na figura 2 e os percentuais na tabela 1.

Para todas as variáveis do DMDI não houve aumento estatisticamente significativo ($p > 0,05$) para ambos os grupos quando comparados à linha de base. Os percentuais de ganhos e perdas do DMDI para o grupo GT foram: 3,16% a MPT.ext.; 1,82% o PT.ext.; 0,23% a MPT.flex. e -2,66% o PT.flex.. Para o grupo GC foi -2,97% a MPT.ext. e -2,98% o PT.ext.; 6,48% a MPT.flex. e -0,55% o PT.flex. Nas comparações dos percentuais ganhos e perdidos do DMDI entre os grupos, as variáveis MPT.ext. e PT.ext. aumentaram significativamente para o grupo GT ($p = 0,015$ e $p = 0,023$, respectivamente). Essas mudanças no DMDI estão resumidas na figura 3 e os percentuais na tabela 1.

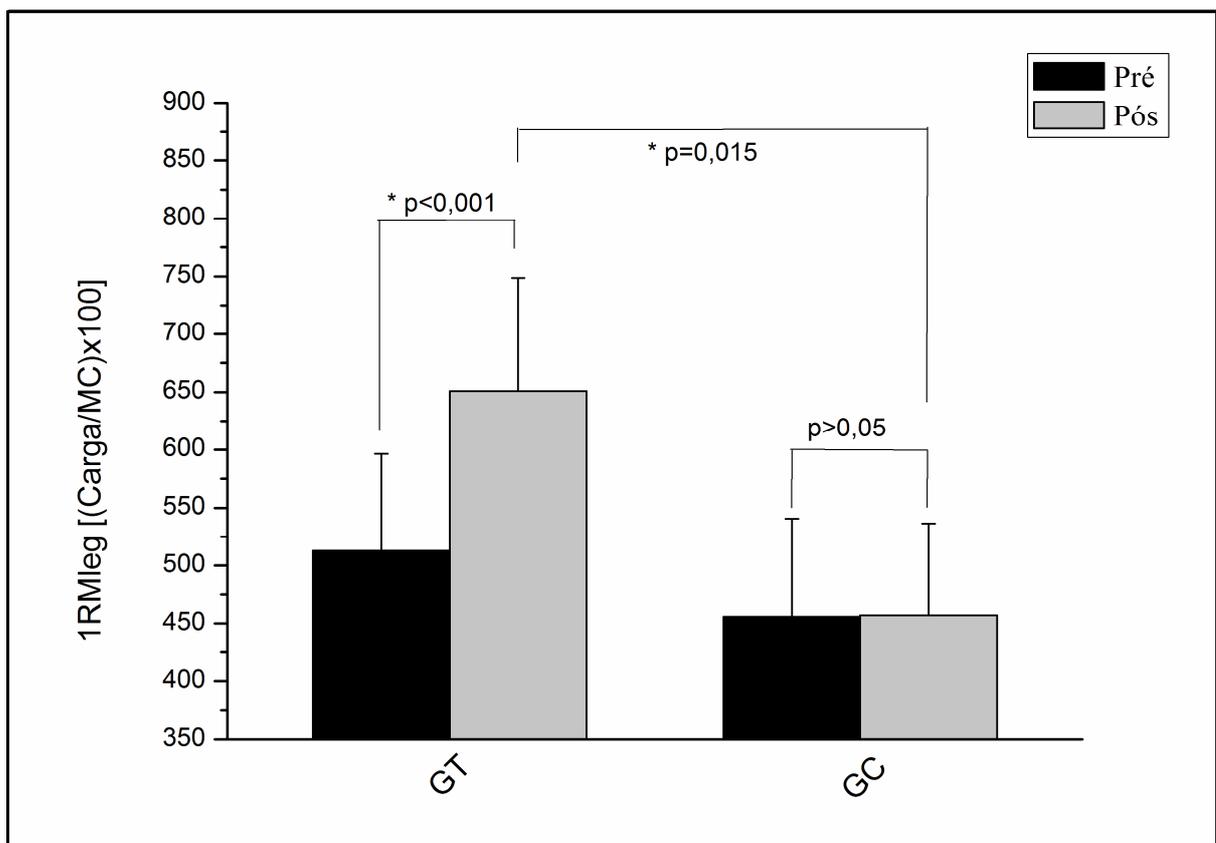


Figura 2 – Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística.

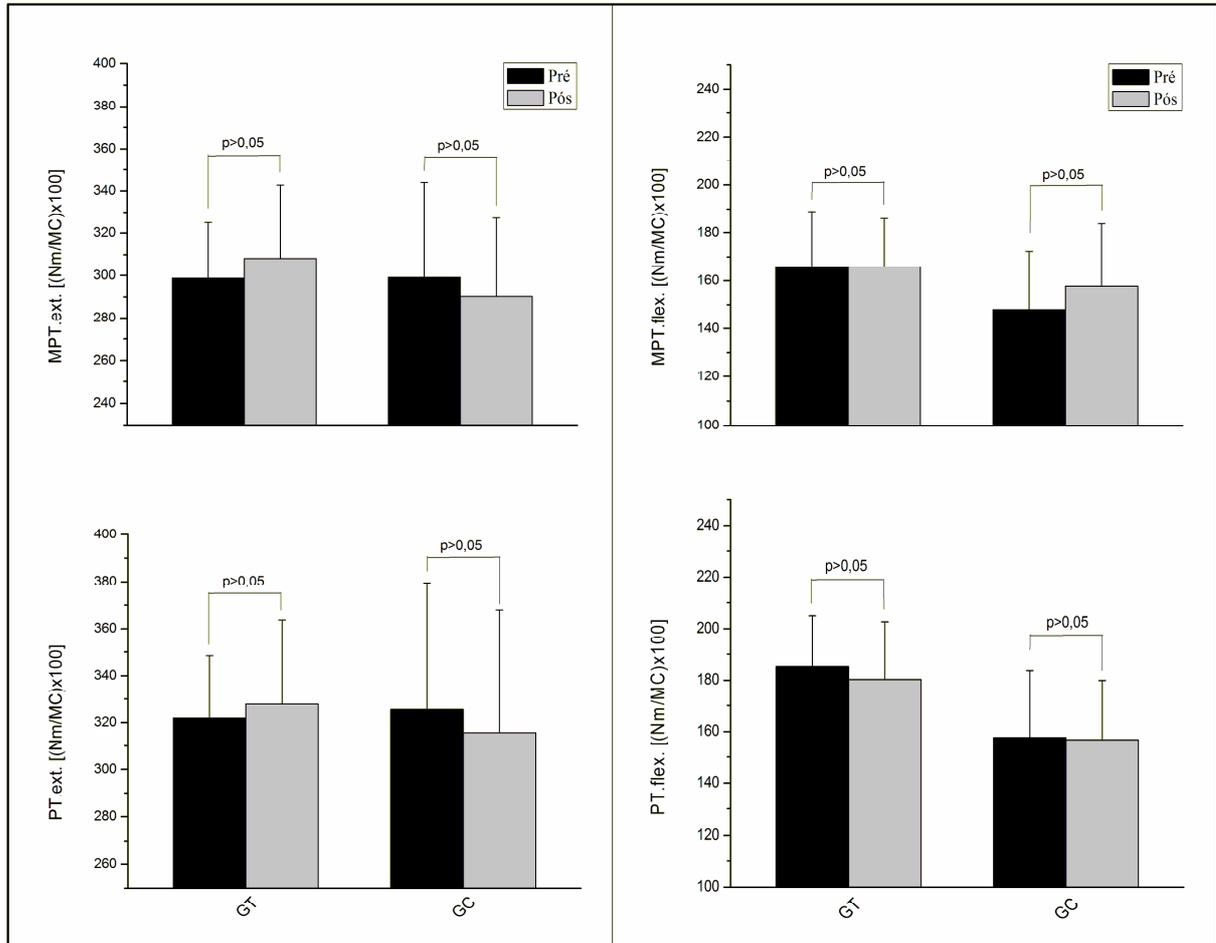


Figura 3 – Resultados do desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; MPT.ext.= média dos picos de torque extensor do joelho; MPT.flex.= média dos picos de torque flexor do joelho; PT.ext.= pico de torque extensor do joelho; PT.flex.= pico de torque flexor do joelho; Nm= Newton.metro.

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) e do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg).

Variável	Percentual (%) pós treinamento		Comparação entre grupos (p valor)
	GT	GC	
1RMleg	26,83	0,27	p<0,001*
MPT.ext.	3,16	-2,97	p=0,014*
PT.ext.	1,82	-2,98	p=0,023*
MPT.flex.	0,23	6,48	p=0,795
PT.flex.	-2,66	-0,55	p=0,795

Siglas. MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; PT.ext.= Pico de Torque extensor do joelho; MPT.flex.= Média dos Picos de Torque flexor do joelho; PT.flex. Pico de Torque flexor do joelho; *= significância estatística (teste de *Mann-Whitney*).

Todas as correlações entre 1RMleg e o DMDI foram estatisticamente significantes e positivas, variando de moderadas a fortes. Os valores dessas correlações foram: 0,69 para 1RMleg x MPT.ext.; 0,60 para 1RMleg x PT.ext.; 0,70 para 1RMleg x MPT.flex.; 0,63 para 1RMleg x PT.flex. e 0,45 para 1RMleg x APT.ext.. Essas correlações estão resumidas na tabela 2.

As regressões lineares múltiplas e as regressões lineares simples estabeleceram graus moderados e fracos de explicação (precisão) para as variáveis respostas. A regressão linear múltipla para a variável resposta 1RMleg envolveu as variáveis preditoras MPT.ext.; APT.ext. e MPT.flex.. O percentual explicativo desse modelo foi de 67% (R^2 ajustado= 0,67); teste $F_{3,16}= 14,31(p<0,001)$; VIF= 1,96 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 0,51$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes (*Durbin-*

$Watson= 2,67$ – entre 2,32 e 3,10) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de $Cook = 0,30$ – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 431 a 513[(kg/MC)x100]. O resumo dos passos dessa análise de regressão está na tabela 3.

Todos os modelos de regressões lineares simples foram propostos em função da 1RMleg. O percentual explicativo da regressão para a variável MPT.ext. foi de 45% (R^2 ajustado= 0,45); teste $F_{1,18}= 16,76$ ($p<0,001$); VIF= 1,00 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 1,00$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes ($Durbin-Watson= 2,71$ – entre 2,59 e 2,80) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de $Cook = 0,32$ – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 280 a 314[(Nm/MC)x100].

O modelo de regressão para a variável PT.ext. teve o percentual explicativo de 32% (R^2 ajustado= 0,32), teste $F_{1,18}= 10,35$ ($p=0,004$); VIF= 1,00 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 1,00$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes ($Durbin-Watson= 2,68$ – entre 2,59 e 2,80) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de $Cook = 0,16$ – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 298 a 343[(Nm/MC)x100]. O modelo para a variável APT.ext. teve 15% (R^2 ajustado= 0,15), teste $F_{1,18}= 4,59$ ($p = 0,045$); VIF= 1,00 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 1,00$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes ($Durbin-Watson= 2,63$ – entre 2,59 e 2,80) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de $Cook = 0,11$ – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 60 a 66°.

Para a variável MPT.flex, o modelo de regressão teve um percentual explicativo de 46% (R^2 ajustado= 0,46); teste $F_{1,18}= 17,31$ ($p<0,001$); VIF= 1,00 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 1,00$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes (*Durbin-Watson*= 2,76 – entre 2,59 e 2,80) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de *Cook* = 0,24 – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 146 a 169 [(Nm/MC)x100]. Para o modelo de regressão do PT.flex. do joelho, o percentual foi de 37% (R^2 ajustado= 0,37), teste $F_{1,18}= 12,21$ ($p=0,002$); VIF= 1,00 (menor que 10) (FIELD, 2005); $1/VIF= 1,00$ (maior que 0,1) (FIELD, 2005). Os resíduos dessa regressão foram normais, não apresentaram erros independentes, ou seja, foram considerados não correlacionados ou independentes (*Durbin-Watson*= 2,78 – entre 2,59 e 2,80) (FIELD, 2005); não houve casos influentes sobre o modelo (máxima distância de *Cook* = 0,14 – inferior a 1) (FIELD, 2005) e o IC médio foi de 158 a 185[(Nm/MC)x100].

A tabela 4 traz um resumo das análises de regressão linear para as variáveis do DMDI e a tabela 5 traz as equações de predição para cada variável resposta (predita) pelos modelos de regressão linear múltipla e simples.

Tabela 2 – Matriz de correlações entre a carga do teste de 1 repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e o desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI).

	MPT.ext. (Nm)	PT.ext. (Nm)	APT.ext. (°)	MPT.flex. (Nm)	PT.flex. (Nm)
1RMleg (kg)	0,69	0,60	0,45	0,70	0,63

Siglas. MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; PT.ext.= Pico de Torque extensor do joelho; APT.ext.= média do Ângulo de Pico de Torque extensor do joelho; MPT.flex.= Média dos Picos de Torque flexor do joelho; PT.flex. Pico de Torque flexor do joelho; Nm= Newton.metro; °= graus.

Tabela 3 – Resultados da análise de regressão para a carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg).

Variável(s) preditora(s)	Estimativa de parâmetro	Erro padrão	P^d
Passo 1 ^a			
MPT.flex.	2,20	0,52	<0,001
Passo 2 ^b			
MPT.flex.	0,96	0,36	0,015
MPT.ext.	1,46	0,53	0,013
Passo 3 ^c			
MPT.flex.	0,93	0,32	0,010
MPT.ext.	1,28	0,48	0,017
APT.ext.	5,43	2,39	0,037

Siglas. MPT.flex.= Média dos Picos de Torque flexor do joelho; MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; APT.ext.= Ângulo do Pico de Torque extensor do joelho.

^a R² ajustado = 0,46, $p < 0,001$ (para o modelo nesse passo);

^b R² ajustado = 0,59, $p < 0,001$ (para o modelo nesse passo);

^c R² ajustado = 0,67, $p < 0,001$ (para o modelo nesse passo);

^d Para cada variável em cada passo.

Tabela 4 – Resultados das regressões lineares para as variáveis MPT.ext., PT.ext., APT.ext., MPT.flex. e PT.flex..

Variável predita	Variável preditora	Estimativa de parâmetro	Erro padrão	Distância de Cook	Durbin-Watson	R² ajustado	F_{1,18}	P
MPT.ext.	1RMleg	0,32	0,07	0,32	2,71	0,45	16,76	<0,001
PT.ext.	1RMleg	0,33	0,10	0,16	2,68	0,32	10,35	0,004
APT.ext.	1RMleg	0,02	0,01	0,11	2,63	0,15	4,59	0,045
MPT.flex.	1RMleg	0,22	0,05	0,24	2,76	0,46	17,31	<0,001
PT.flex.	1RMleg	0,21	0,06	0,14	2,78	0,37	12,21	0,002

Siglas. MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; PT.ext.= Pico de Torque extensor do joelho; APT.ext.= média do Ângulo de Pico de Torque extensor do joelho; MPT.flex.= Média dos Picos de Torque flexor do joelho; PT.flex. Pico de Torque flexor do joelho; R²ajustado= índice de determinação da correlação ajustado.

Tabela 5 – Equações de predição das variáveis respostas (preditas) com seus respectivos percentuais explicativos e o intervalo de confiança médio (IC médio).

Variável predita	Equação de predição	Percentual explicativo (%)	IC médio
1RMleg	$355,08 + 0,93 * \text{MPT.ext.} + 5,43 * \text{APT.ext.} + 1,28 * \text{MPT.flex.}$	67	431 a 513 [(kg/MC)x100]
MPT.ext.	$143,85 + 0,32 * 1\text{RMleg}$	45	280 a 314[(Nm/MC)x100]
PT.ext.	$164,09 + 0,33 * 1\text{RMleg}$	15	298 a 343[(Nm/MC)x100]
APT.ext.	$51,68 + 0,02 * 1\text{RMleg}$	31	60 a 61 (°)
MPT.flex.	$52,57 + 0,22 * 1\text{RMleg}$	46	146 a 169 [(Nm/MC)x100]
PT.flex	$70 + 0,21 * 1\text{RMleg}$	37	158 a 185[(Nm/MC)x100]

Siglas. 1RMleg= carga do teste de 1RM em leg press; MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; PT.ext.= Pico de Torque extensor do joelho; APT.ext.= média do Ângulo de Pico de Torque extensor do joelho; MPT.flex.= Média dos Picos de Torque flexor do joelho; PT.flex. Pico de Torque flexor do joelho; IC= intervalo de confiança médio.

4 – DISCUSSÃO

Esse estudo foi desenhado para identificar as possíveis transferências dos ganhos de desempenho muscular em CCF para CCA. Também correlacionar e prever o desempenho muscular em CCF e CCA, avaliados pela 1 repetição máxima (1RM) em leg press (1RMleg) e o desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI), respectivamente.

O programa de treinamento proposto pelo estudo foi eficiente para aumentar o desempenho muscular do grupo GT, crescendo significativamente a carga da 1RMleg ($p < 0,001$). Esse aumento foi aproximadamente de 27% e estatisticamente maior ($p < 0,001$) que o aumento do grupo GC. Esse ganho percentual da 1RMleg foi similar aos já reportados por estudos prévios (AUGUSTSSON et al., 1998; FRY, 2004). No entanto, para todas as variáveis do DMDI (atividade em CCA), os ganhos não foram significativos ($p > 0,05$). Apenas os ganhos percentuais da MPT.ext. e do PT.ext. do grupo GT foram significativamente maiores comparados aos do grupo GC ($p = 0,014$ e $p = 0,023$, respectivamente). Esses resultados demonstraram uma pequena transferência dos ganhos de desempenho muscular em CCF para CCA (menor que 5%), fato já observado por Augustsson et al (1998). Nesse estudo, os 11 sujeitos que treinaram em CCF (agachamento com barra), tiveram uma transferência de 5% para a avaliação isocinética em CCA (extensão dos joelhos). A partir desses resultados, Augustsson et al (1998) e outros autores verificaram que para se identificar aumentos da força muscular (torque) após um programa de treinamento físico de força, deve-se respeitar o princípio da especificidade desse treino e do sistema de avaliação empregado para sua mensuração (HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007; VERDIJK et al., 2009).

A especificidade do treinamento e do sistema de avaliação do desempenho muscular abrange aspectos importantes como frequência, volume e intensidade do treino; tipo e velocidade da contração muscular; ângulo de execução e qual tipo de movimento empregado

(CCA x CCF) (STONE; PLISK e COLLINS, 2002; HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007; WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007; RATAMESS et al., 2009; VERDIJK et al., 2009). A frequência, volume e a intensidade vão permitir o delineamento do treino, suas características metabólicas (aeróbio, anaeróbio ou combinado) e suas respostas quanto ao incremento de força, potência e hipertrofia muscular (GLOWACKI et al., 2004; WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007). E a partir dos resultados de estudos prévios já reportados na literatura científica específica (ver as revisões de Fry, 2004; Harris, Cronin e Keogh, 2007 e Wernbom, Augustsson e Thome, 2007), pode-se prever qual será a provável adaptação do desempenho muscular de sujeitos sob treinamento físico em CCF ou CCA.

Os diferentes tipos de contração muscular (isotônico, isométrico, isocinético) desenvolvidos em treinamentos físicos, ou nas avaliações de seu desempenho, estão atrelados à velocidade do movimento e ao ângulo de produção de maior força desses músculos (NARICI et al., 1996; AAGAARD, 2004; WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007). Qualquer mudança nessas características de contração muscular pode levar a diferentes respostas, como observado no trabalho de Verdijk et al. (2009). Esse estudo avaliou o pico de torque extensor do joelho em dinamometria isocinética nas velocidades angulares de 120°/s, 180°/s, 240°/s, 300°/s e em isometria, notando que a velocidade angular é inversamente proporcional à produção de torque, podendo também alterar o ângulo do pico de torque (ângulo de produção de maior força) (ARCE et al., 2001). Dessa maneira, escolhas equivocadas da velocidade, ou do tipo de contração muscular, podem conduzir à perda da sensibilidade ou inespecificidade da avaliação para se identificar o desempenho muscular dos sujeitos avaliados (AUGUSTSSON et al., 1998; HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007).

Outra grande discussão na literatura científica é quanto a utilização de exercícios em CCF e CCA para a melhora do desempenho muscular dos membros inferiores, seja no desenvolvimento atlético, ou na reabilitação de pacientes após cirurgia, ou com dor

patelofemoral (STEINKAMP et al., 1993; WAWRZYNIAK et al., 1996; AUGUSTSSON et al., 1998; TAGESSON et al., 2008). Comparando eletromiograficamente a atividade de extensão dos joelhos em CCF e CCA, os vastos medial e lateral são mais ativados em CCF (cerca de 20% e 5%, respectivamente) que em CCA (ESCAMILLA et al., 1998). Há também co-contracção do isquiotibiais que proporcionam maior estabilidade à articulação do joelho (ESCAMILLA et al., 2001). Além disso, existe um maior sincronismo de ativação dos músculos do quadríceps femoral em CCF, conferindo segurança à pacientes com disfunções patelofemorais (STENSDOTTER et al., 2003). Em contrapartida, os exercícios em CCA podem ser mais específicos no recrutamento de um grupo muscular, ou um músculo em específico, pois envolve geralmente uma única articulação (STENSDOTTER et al., 2003). E como exemplo, podemos citar o reto femoral que é 45% mais ativado na extensão do joelho em CCA, quando comparado à mesma atividade em CCF (ESCAMILLA et al., 1998).

A partir das diferenças ou especificidades que os exercícios possuem, e conseqüentemente suas formas de avaliação, alguns autores correlacionaram o desempenho muscular de sujeitos em diferentes exercícios: CCF (leg press) x CCA (extensão do joelho em dinamometria isocinética) (VERDIJK et al., 2009). As correlações encontradas por esses autores entre o pico de torque extensor do joelho e a carga da 1RMleg foram fortes, não concordando com a do presente estudo. Possíveis explicações referem-se à diferenças metodológicas, pois Verdijk et al. (2009) utilizaram os dados brutos da carga de 1RMleg e do pico de torque extensor do joelho, enquanto nossas correlações consideraram essas mesmas variáveis, porém padronizadas pela massa corporal dos sujeitos, assim como outros estudos já reportados pela literatura (JACOBS et al., 2007; NAKAGAWA et al., 2008; BALDON RDE et al., 2009).

A forte correlação entre 1RMleg e a Média dos Picos de Torque flexor do joelho (MPT.flex.) não era examente esperada, apesar da pequena diferença dessa correlação

comparada a correlação entre a Média dos Picos de Torque extensor do joelho (MPT.ext.) e 1RMleg (ver tabela 2). Pois o quadríceps femoral é o músculo motor agonista do movimento no teste da 1RMleg. Compreendemos que por se tratar de uma atividade em CCF, o exercício em leg press também recruta outros músculos da coxa por co-contracção, como os isquiotibiais (ESCAMILLA et al., 2001). Assim, levantamos três hipóteses que podem ajudar a entender essas correlações: a) as fibras contráteis dos isquiotibiais possuem características moleculares e bioquímicas de predominância glicolítica (facilmente fadigáveis) e são específicas na produção de força (trabalho fásico) (GARRETT; CALIFF e BASSETT, 1984), enquanto que o quadríceps femoral possui maiores proporções de fibras de contracção lenta e, conseqüentemente, características tônicas (STARON et al., 2000); b) os isquiotibiais, além de serem específicos na produção de força, trabalharam para estabilizar, ao mesmo tempo, a articulação do joelho e frear a flexão do quadril durante a contracção excêntrica do quadríceps femoral no teste de 1RMleg; c) na fase concêntrica do movimento, os isquiotibiais podem produzir um considerável torque que auxilia a extensão do quadril e, conseqüentemente, a extensão dos joelhos nesse teste.

A correlação entre o Ângulo do Pico de Torque extensor do joelho (APT.ext.) e a 1RMleg mostrou-se importante por identificar o melhor ângulo para o desenvolvimento de maior torque extensor do joelho (BROWNSTEIN; LAMB e MANGINE, 1985). E, com base nos resultados de nosso estudo, quanto mais próximo de 90° o sujeito desenvolver seu APT.ext. avaliado em dinamometria isocinética (CCA), provavelmente maior será o torque extensor do joelho e a carga da 1RMleg (CCF). Essa correlação, apesar de moderada, proporcionou um aumento na precisão da predição da 1RMleg em 8% (tabela 3).

Dawn T. Gulick et al., (1998/1999), a partir de análises de regressão linear, estabeleceram correlações moderadas entre as variáveis do DMDI (como o pico de torque extensor e o trabalho total extensor do joelho) e a 1RM (isotônica) dos músculos extensores do

joelho, ambos avaliados em CCA. Os autores utilizaram variáveis isocinéticas e antropométricas que estabeleceram as maiores correlações com a 1RM nesse estudo para calcular a equação de predição da mesma. E a partir dessa equação, os autores conseguiram traduzir os resultados de uma avaliação isocinética para uma avaliação isotônica, estabelecendo uma correspondência de 56% entre essas avaliações. Dessa forma, o presente estudo é semelhante ao de Dawn T. Gulick et al., (1998/1999), pois também conseguiu estabelecer correlações e predições da 1RM (isotônica) por meio da dinamometria isocinética. Entretanto, nossas correlações e predições foram entre atividades distintas (CCF x CCA). Além disso, nós consideramos a massa corporal dos sujeitos na padronização dos resultados obtidos, diferentemente de Dawn T. Gulick et al., (1998/1999) que a considerou como uma variável preditora (independente). Dessa forma, as diferenças metodológicas não nos permite fazer comparações diretas dos nossos resultados aos obtidos por Dawn T. Gulick et al., (1998/1999).

Os modelos de regressões lineares para predição das variáveis do DMDI (MPT.ext.; PT.ext.; APT.ext.; MPT.flex. e PT.flex.) a partir da 1RMleg; e da 1RMleg a partir das variáveis do DMDI, atenderam todos os pressupostos para se propor o modelo de regressão e gerar as equações de predição dessas variáveis (FIELD, 2005). Dessa forma, as variáveis que fizeram parte do modelo de regressão da 1RMleg, não causaram colinearidade entre as variáveis e aumentaram estatisticamente ($p < 0,05$) a precisão do modelo de regressão (FIELD, 2005). Apesar de possuírem moderados e baixos índices de predição (tabela 5), essas equações podem ser úteis para calcular a magnitude de transferência do treinamento em leg press (CCF) para a dinamometria isocinética (CCA), e vice versa.

5 – CONCLUSÃO

Pode não existir total transferência dos ganhos de desempenho muscular em CCF para atividades em CCA, pois um pequeno percentual desses ganhos foi transmitido após um programa de treinamento físico de força (nesse trabalho foi menor que 3%).

Com base no princípio da especificidade do treinamento, quanto maior for a semelhança da avaliação ao exercício empregado no treinamento, maior será a especificidade e sensibilidade para se identificar mudanças de desempenho. Quando o objetivo é avaliar o condicionamento muscular de atletas, pacientes ou qualquer outro sujeito não submetido a programa de treinamento físico prévio, também devemos empregar testes que se assemelhem a função ou ao movimento que o avaliado desempenha no desporto, ou nas suas atividades funcionais.

O desempenho muscular transferido entre as atividades em CCF e CCA encontradas nesse estudo, bem como as correlações e predições, podem ajudar o trabalho de educadores físicos e fisioterapeutas na elaboração dos programas de treinamento de atletas e reabilitação de pacientes. Principalmente em centros que não dispõem de um dinamômetro isocinético, por exemplo. Também podem ajudar a evitar o estresse físico e psicológico dos sujeitos em múltiplas avaliações para mensurar seus desempenhos musculares.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Departamentos de Fisioterapia e Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos pela ajuda prestada para a realização do estudo e também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento parcial da pesquisa.

ESTUDO II

**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE (808nm) SOBRE O
TREINAMENTO FÍSICO DE FORÇA EM HUMANOS: UMA ABORDAGEM
FISIOLÓGICA.**

RESUMO

Contexto e Objetivos: A laserterapia de baixa intensidade (LTBI) é muito empregada no controle da dor e reparo tecidual. Além dessa aplicação, recentes estudos têm investigado se esse recurso terapêutico pode aumentar o desempenho muscular humano nos exercícios físicos. Nesse estudo, testamos se treinamento físico de força associado à LTBI é capaz de aumentar o desempenho muscular em humanos quando comparado ao treinamento de força praticado sem a LTBI.

Desenho do estudo/Materiais e métodos: Participaram do estudo 36 homens ($20,8 \pm 2,2$ anos de idade), clinicamente saudáveis, com padrão de atividade física iniciante e/ou moderadamente treinados. Todos foram alocados randomicamente em três grupos iguais: GTL (treinamento associado à LTBI), GT (treinamento) e GC (controle). Os grupos GT e GTL treinaram com carga de 80% de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) durante 12 semanas consecutivas no leg press. A LTBI foi aplicada sobre o quadríceps femoral de ambos os membros inferiores dos sujeitos do grupo GTL imediatamente após o término de cada treino. Foi utilizado um aparelho de laser na faixa do infravermelho (808nm), com seis diodos de 60mW cada, tempo total de irradiação de 140 segundos e energia total de 50,4J. O desempenho muscular foi avaliado nos testes de 1RMleg, dinamometria isocinética e perimetria da coxa.

Resultados: O aumento de 55% na 1RMleg do grupo GTL foi maior que o aumento de 26% do grupo GT ($p=0,033$) e 0,27% do grupo GC ($p<0,001$). O GTL foi o único grupo a aumentar seu desempenho muscular em dinamometria isocinética comparado ao início do estudo. O grupo GTL aumentou a perimetria em 4,52% mas foi estatisticamente igual ($p=0,775$) aos 2,75% de aumento do grupo GT.

Conclusão: Os treinos físicos de força associado à LTBI pode aumentar o desempenho muscular humano comparado ao mesmo treino praticado sem a LTBI.

Palavras-chave: Dinamometria isocinética, exercício de alta intensidade, hipertrofia, laser de baixa intensidade, leg press, teste de 1 repetição máxima.

1- INTRODUÇÃO

O treinamento físico de força tem seu recrutamento energético basicamente de forma anaeróbia; promove transição entre as fibras do tipo I e IIx para o tipo IIa e aumenta o recrutamento, sincronismo e a frequência de disparos das unidades motoras das fibras musculares sob essa atividade (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007). Além disso, o treinamento de força também promove o aumento da área de secção transversa do músculo (hipertrofia) que associada à adaptação neural do recrutamento muscular, conduz à maior força e desempenho quando praticado cronicamente (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

Os exercícios, de um modo geral, podem ser realizados de duas formas diferentes: em cadeia cinética aberta (CCA) ou em cadeia cinética fechada (CCF) (AUGUSTSSON et al., 1998; TAGESSON et al., 2008). Os exercícios em cadeia cinética aberta (CCA) produzem movimento, geralmente, em uma única articulação e têm a carga de trabalho fixada na extremidade distal do segmento corporal do sujeito, o qual está livre para movimentar-se, como na mesa extensora. Já os exercícios em CCF envolvem múltiplas articulações, têm a descarga do peso corporal ou cargas aleatórias sobre o segmento corporal distal, o qual está fixado no solo ou em qualquer outra base, como no leg press (STENSDOTTER et al., 2003).

A mensuração do desempenho muscular nas atividades realizadas em CCF e CCA, geralmente envolve testes isotônicos de uma repetição máxima (1RM) em leg press (1RMleg) (CCF) e testes isocinéticos de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI), principalmente na atividade de extensão dos joelhos (CCA) (WAWRZYNIAK et al., 1996; VERDIJK et al., 2009). Esses testes possibilitam avaliações mais completas e auxiliam no direcionamento dos programas de treinamento (HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007).

O desejo de aumentar e/ou acelerar os ganhos de desempenho físico, como a hipertrofia muscular e maiores capacidades aeróbia ou anaeróbia, muitas vezes conduz atletas e desportistas a melhorarem a sua nutrição (RODRIGUEZ; DI MARCO e LANGLEY, 2009). Ou ainda a usarem substâncias androgênicas que podem oferecer riscos à saúde (HOFFMAN et al., 2009). Nesse contexto da melhora de desempenho humano nos exercícios físicos, a laserterapia de baixa intensidade (LTBI) vem sendo testada nas atividades físicas de força ou resistência à fadiga (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009c).

A LTBI é um recurso terapêutico empregado no controle da dor e reparo tecidual (ENWEMEKA et al., 2004; ENWEMEKA, 2009). Ela interage com as mitocôndrias celulares, promovendo modificações estruturais (surgimento de mitocôndrias gigantes) e metabólicas (aumento da atividade enzimática oxidativa) que conduzem à maior síntese de energia (adenosina tri-fosfato - ATP) para os processos metabólicos (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005). Dessa maneira, as poucas e recentes pesquisas com a LTBI e homens sob exercício físico estão concentradas na investigação da fadiga e dano muscular após exercício agudo de alta intensidade, avaliando a concentração e a cinética de marcadores bioquímicos como o lactato e a creatina quinase muscular (LEAL JUNIOR et al., 2008b; LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2009c). Entretanto, alguns trabalhos reportados pela literatura são divergentes quanto à eficiência da LTBI em aumentar o desempenho muscular de humanos (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009b). Parâmetros como dose e comprimento de onda da LTBI ainda são objetos de estudo, pois a profundidade tecidual que essa energia consegue atingir e, conseqüentemente sua atenuação, influencia diretamente a terapia do tecido alvo (ENWEMEKA, 2009). Assim, o laser infravermelho parece ser melhor para estimular o tecido muscular de humanos, pois consegue transpassar as camadas da pele e atingir maiores profundidades sem grandes perdas de energia (ENWEMEKA, 2009).

A proposta desse estudo foi verificar se um programa crônico de treinamento de força associado à LTBI é capaz de otimizar os efeitos adquiridos de um treinamento de força. Foi hipotetizado que um programa crônico de treinamento de força combinado à LTBI poderia promover maiores aumentos do desempenho muscular em humanos quando comparado ao treinamento de força sem a LTBI. Para tanto foi utilizado um ensaio clínico controlado e randomizado que possuiu três formas de avaliação para quantificar esse desempenho: a) 1 repetição máxima em leg press (1RMleg); b) Desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) (torque extensor do joelho); c) Perimetria da coxa para acompanhar as mudanças no volume da coxa dos sujeitos.

2 – MÉTODOS

2.1 - Delineamento do estudo

Este estudo foi desenhado como um ensaio clínico controlado e randomizado. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (parecer de aprovação nº 342/2008) e registrado no Clinical Trials (NCT01113021). Os sujeitos foram recrutados entre os estudantes de graduação dessa universidade. Todos os sujeitos foram informados sobre os objetivos do estudo, procedimentos e, após a admissão ao experimento, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

2.2 – Sujeitos

Fizeram parte do estudo 36 sujeitos do gênero masculino que declararam ser clinicamente saudáveis.

Critérios de inclusão: Os sujeitos deveriam ser saudáveis; com idade entre 18 e 28 anos; índice de massa corpórea (IMC) igual ou inferior a 26 e com padrão de atividade física iniciante ou moderadamente treinado, ou seja, realizavam alguma atividade física com fins não competitivos entre 1 a 3 vezes por semana, conforme estudos prévios (WAWRZYNIAK et al., 1996; CASPERSEN; PEREIRA e CURRAN, 2000).

Critérios de exclusão: Os sujeitos apresentarem qualquer história de lesão muscular do quadríceps femoral ou isquiotibiais (6 meses prévios ao estudo); desordem no sistema osteoarticular dos membros inferiores; desordem no sistema cardiovascular; doença sistêmica ou estarem sob tratamento de qualquer fármaco ou suplemento alimentar, principalmente relacionados ao ganho de massa muscular. Durante o estudo, foram excluídos os sujeitos que não cumpriram o programa de treinamento e/ou faltaram dois treinos consecutivos e/ou desenvolveram qualquer lesão osteomioarticular.

2.3 – Randomização

A randomização foi realizada por meio de sorteio e os sujeitos foram alocados igualmente em três grupos distintos: Grupo Treinamento associado à LTBI (GTL); Grupo Treinamento (GT) e Grupo Controle (GC).

2.3.1 – Grupos do estudo

Os grupos GT e GTL foram submetidos a um programa de treinamento físico dinâmico, crônico e de força em leg press durante 12 semanas consecutivas, com frequência dos treinos de duas vezes por semana em dias não consecutivos. Logo após o término de cada sessão, apenas o grupo GTL foi submetido à laserterapia de baixa intensidade (LTBI) em ambos os membros inferiores, precisamente no músculo quadríceps femoral. Já o grupo GC

serviu apenas de controle, ou seja, não foi submetido a qualquer forma de intervenção ou tratamento e por isso só foi avaliado no início e no final do estudo

2.4 – Instrumentos

Foram utilizados: leg press inclinado a 45° (*Reforce* – São Paulo, BRA) para o teste de 1RMleg; goniômetro (*ISP – Instituto São Paulo*, São Paulo, BRA) para a determinação do ângulo de flexão do joelho no teste de 1RMleg; metrônomo digital (*Qwick time* – modelo QT5, JPN) para padronização dos tempos de contrações musculares concêntricas e excêntricas durante o período de treinamento; um Dinamômetro Isocinético Computadorizado (*Biodex, Multi-Joint System III* – New York – USA) para o registro das variáveis isocinéticas de desempenho muscular (DMDI) e uma fita métrica (3M – modelo Sanny, BRA) para medir a perimetria da coxa dos sujeitos.

2.5 – Procedimentos

No período matutino do dia, foram realizadas as avaliações de perimetria da coxa dos sujeitos, seguido do desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI). A avaliação do DMDI registrou as variáveis *MPT.ext.* (Média dos Picos de Torque extensor do joelho das duas séries dessa avaliação) e *PT.ext.* (Pico de Torque extensor do joelho das duas séries dessa avaliação). No período vespertino do mesmo dia, foi realizado o teste de 1RMleg. Os resultados das avaliações do desempenho muscular foram normalizados pela massa corporal dos indivíduos (MC) e multiplicado por 100, conforme já relatado por estudo prévio como forma de normalização do desempenho muscular (NAKAGAWA et al., 2008). Todos os sujeitos foram orientados a não alterarem suas rotinas físicas normais e seus hábitos alimentares durante todo o experimento, bem como não ingerirem bebida alcoólica e dormirem bem (tempo e qualidade do sono).

Também foi conduzido um estudo piloto para estabelecer a confiabilidade e a reprodutibilidade das avaliações de 1RMleg, DMDI e a perimetria da coxa. Seis sujeitos, que não fizeram parte do estudo, foram testados em duas ocasiões distintas pelo mesmo avaliador, com um intervalo de 5 dias entre cada e aleatorização da ordem de realização. Utilizamos o coeficiente de correlação intraclass (*intraclass correlation coefficient* – ICC, 3,1) para avaliar a confiabilidade intra-avaliador e o erro padrão da medida (*standard error of measurement* – SEM) para descrever a reprodutibilidade das medidas. A confiabilidade e reprodutibilidade das variáveis estudadas, expressos como ICC (SEM), foram 0,92[(5,00 Nm/MC)x100] para a MPT.ext.; 0,93 [(5,17 Nm/MC)x100] para o PT.ext.; 0,99[(0,71 Kg/MC)x100] para 1RMleg e 0,99 (0,01cm) para Perimetria da coxa dos sujeitos.

2.4.1 – Protocolos das avaliações, treinamento e aplicação da LTBI

Avaliação da perimetria da coxa: A perimetria da coxa foi medida entre a meia distância da espinha ilíaca ântero-superior e a base da patela do membro inferior dominante de cada sujeito. O membro inferior dominante foi determinado como aquele utilizado para chutar uma bola com maior precisão. Essa avaliação foi realizada na posição ortostática e os músculos da coxa relaxados. A perimetria foi medida somente no início e final do estudo.

Avaliação do DMDI: Primeiramente foi realizado um breve período de aquecimento, de 5 minutos, em bicicleta ergométrica (*Ergo-FIT* – modelo Ergo 167 Cycle, Pirmasens, Germany) com carga de 100 W e velocidade entre 60 e 70 rotações por minuto. Em seguida, os sujeitos foram posicionados no Dinamômetro Isocinético, o qual foi previamente calibrado. Os indivíduos assumiram uma postura devidamente alinhada e estabilizada por cintos com a finalidade de evitar possíveis movimentos compensatórios, conforme modelo-exemplo ilustrado no manual de instruções do aparelho. Apenas o membro inferior dominante foi

avaliado. O eixo de rotação do dinamômetro foi alinhado com o eixo de flexão e extensão do joelho desse mesmo membro (ao nível do epicôndilo lateral do fêmur) (Figura 1A). O quadril foi estabilizado em flexão de 80° e o braço de alavanca do equipamento fixado aproximadamente a 1cm proximal do maléolo tibial. Parâmetros como altura e base da cadeira, distância do espaldar, nível do assento e base do dinamômetro foram ajustados para cada indivíduo.

Antes do início do registro do DMDI, foi realizada uma familiarização ao aparelho. A familiarização consistiu de três contrações musculares concêntricas voluntárias submáximas em toda a amplitude de movimento pré-programada de flexão e extensão do joelho (90°-20°, respectivamente), com velocidade angular constante de 60°/s. Após 3 minutos de repouso, iniciou-se o teste através da realização de 2 séries de cinco contrações concêntricas voluntárias máximas e recíprocas do quadríceps femoral e isquiotibiais, separadas por um intervalo de 3 minutos entre cada uma, por toda a amplitude de movimento de flexão e extensão do joelho pré-programada (Figura 1B). Foi dado encorajamento verbal e visual aos sujeitos para se alcançar o máximo de esforço. Os dados dessa avaliação foram somente aceitos com um coeficiente de variação menor que 10% (DAWN T. GULICK et al., 1998/1999).

Avaliação da 1RMleg: Primeiramente foi realizado um breve período de aquecimento, de 5 minutos, em bicicleta ergométrica (*Ergo-FIT* – modelo *Ergo 167 Cycle*, Pirmasens, Germany) com carga de 100 W e velocidade entre 60 e 70 rotações por minuto. Em seguida, foi demonstrada a técnica de levantamento da carga no teste pelo avaliador. O teste foi padronizado pela delimitação da excursão dos membros inferiores de cada sujeito, identificando-se a flexão de 90° do joelho (por meio de goniômetro) e marcada, no aparelho de leg press, a posição (em cm) que correspondia a essa angulação. O arco de movimento

proposto foi de 0° (extensão completa dos joelhos e início do movimento) até 90° de flexão (final do movimento). Os referenciais anatômicos para a identificação do ângulo desejado foram: trocânter maior do fêmur, epicôndilo lateral do fêmur e maléolo fibular do mesmo membro inferior (Figura 1C).

Antes do início do teste, foi realizada uma familiarização ao aparelho que se constituiu de 10 repetições com uma carga aleatória, estimada subjetivamente e inferior a 60% da 1RMleg. Essa carga subjetiva foi identificada de acordo com o grau de esforço físico que o sujeito realizou na familiarização ao aparelho, seguindo-se a escala de OMNI, onde 0 corresponde a extremamente fácil e 10 extremamente difícil (IRVING et al., 2006). O incremento de cargas para se chegar a 1RMleg foi por meio de percentuais da carga de familiarização ao aparelho e, dessa forma, dependeu da resposta dos sujeitos frente à escala de esforço de OMNI. A escolha das cargas respeitou o limite de cinco tentativas separadas por intervalos de 5 minutos, evitando disfunções metabólicas que pudessem prejudicar a qualidade do teste. Foi dado encorajamento verbal aos sujeitos para se alcançar o máximo de esforço.

Treinamento: Após 2 dias das avaliações iniciais de perimetria, DMDI e 1RMleg, os sujeitos dos grupos GTL e GT iniciaram um programa de treinamento físico de força, baseado na literatura científica específica (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOME, 2007; RATAMESS et al., 2009). O programa de treinamento consistiu de dois treinos semanais em leg press inclinado a 45° em dias não consecutivos. O período total do treinamento foi de 12 semanas consecutivas (3 meses), totalizando 24 sessões. A intensidade do treinamento foi sempre de 80% da 1RMleg e o volume do treino de 50 repetições, divididas em 5 séries de 10 repetições cada. Caso o sujeito não conseguisse completar as 10 repetições de cada série, ele realizava o número máximo de repetições até a sua falha muscular concêntrica durante essa

série e lhe era concedido o intervalo de repouso. O intervalo de repouso entre as séries foi de 2 minutos e os sujeitos foram instruídos quanto à velocidade da realização do exercício por meio de um metrônomo: 2 segundos de contração muscular excêntrica para 1 segundo de concêntrica (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOMEE, 2007).

Todos os treinos foram monitorados quanto à temperatura ambiente (entre 23 e 26 graus Celsius), à frequência cardíaca dos sujeitos e à amplitude de movimento desenvolvida nos testes de 1RMleg e durante o treinamento em leg press, validando a carga dos testes de 1RMleg e o treino. Os ajustes da carga de trabalho foram feitos por meio de reavaliações da 1RMleg a cada 8 treinos, sempre no mesmo período do dia que o sujeito estabeleceu para treinar e, dessa forma, o substituiu. Dois dias após o 24º treino, os sujeitos foram submetidos às avaliações finais de perimetria da coxa, dinamometria isocinética e 1RMleg.

Aplicação da LTBI: Os sujeitos do grupo GTL foram submetidos a um protocolo de fotoestimulação por laser de baixa intensidade imediatamente após cada sessão de treinamento. O tratamento com laser infravermelho foi através da técnica de contato; feixe estacionado e perpendicular com a pele dos sujeitos; por 24 dias; sobre 7 regiões distribuídas no ventre do músculo quadríceps femoral de cada membro inferior, numa área previamente demarcada (primeira região a 10cm abaixo da espinha ilíaca ântero-superior e as demais a cada 5cm abaixo da marca inicial) e registrada como forma de tornar as sessões de aplicação do laser mais uniformes (Figura 2A). Os parâmetros do laser empregado no estudo foram: aparelho na faixa do infravermelho próximo (GaAlAs-808nm), contendo seis diodos dispostos transversalmente e com potência de 60mW cada; modo contínuo; área do feixe de 0,0028 cm²; energia por ponto (diodo) de 0,6J; energia total por sessão em cada membro inferior foi de 25,2J e a total de 50.4J (ambos os membros); densidade de energia ou fluência

por diodo de 214,28 J/cm²; densidade de potência por diodo de 21,42W/cm² e tempo de aplicação de 70 segundos por membro e 140 segundos no total (ambos os membros).

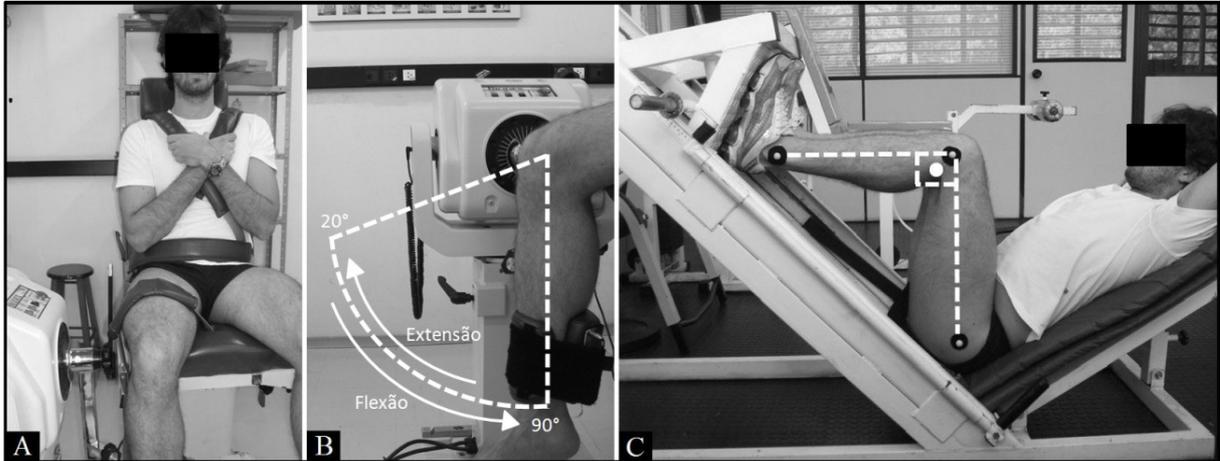


Figura 1 – A) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no dinamômetro isocinético. B) Arco de movimento desenvolvido na avaliação em dinamometria isocinética. C) Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos.

2.6 – Análise estatística

Foi analisada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade das variâncias pelo teste de *Levene*.

O efeito do treinamento sobre a 1RMleg, DMDI e a perimetria foram verificados por meio da análise de variâncias (ANOVA two-way) com medidas repetidas em apenas um fator. Os fatores independentes foram o grupo (com 3 níveis – grupo treinamento associado à LTBI; grupo treinamento; grupo controle) e o tempo (com 2 níveis – inicial e final), o qual também foi considerado como medida repetida. Quando encontradas diferenças significativas, realizamos o teste de *post-hoc* de *Tukey*. O efeito do treinamento também foi analisado pela variação percentual das variáveis em relação à linha de base (considerada 100%) e comparado entre os grupos pelo teste de *Kruskal-Wallis*. O nível do alfa adotado foi de 0,05.

3 – RESULTADOS

Iniciou-se o estudo com um total de 36 sujeitos do gênero masculino que tinham todos os critérios de inclusão e, dessa maneira, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido ao ingressarem na pesquisa. No entanto, no decorrer do estudo, foram excluídos 6 sujeitos pelos seguintes motivos: um desses sujeitos não mais concordou em participar da pesquisa se continuasse alocado no grupo que foi sorteado; três se lesionaram no decorrer do treinamento e dois sujeitos do grupo controle iniciaram um programa de treinamento físico durante o estudo. Assim, nosso tamanho amostral final foi de 30 sujeitos, 10 em cada grupo. O grupo GTL teve uma idade média de $19,7 \pm 0,8$ anos; massa corporal média de $76,6 \pm 11,5$ kg; altura média de $1,78 \pm 0,06$ m e IMC médio de $23,2 \pm 2,1$ kg/m². O grupo GT teve uma idade média de $21,2 \pm 2,5$ anos; massa corporal $75,7 \pm 6,3$ kg; altura média de $1,78 \pm 0,05$ m e IMC médio de $23,7 \pm 1,9$ kg/m². O grupo GC teve uma idade média de $21,8 \pm 2,1$ anos; massa corporal de $77,1 \pm 13,5$ kg; altura média de $1,80 \pm 0,05$ m e IMC médio de $22,4 \pm 3,1$ kg/m².

As avaliações iniciais da 1RMleg, DMDI e perimetria foram comparadas entre os três grupos do estudo para se identificar qualquer diferença estatisticamente significativa entre eles, fato não observado para nenhuma variável ($p > 0,05$), demonstrando que os grupos eram estatisticamente iguais no momento inicial da pesquisa.

Após o programa de treinamento, a massa corporal utilizada para normalização do desempenho muscular nos testes de 1RMleg e DMDI sofreu mudança, porém não significativa ($p > 0,05$). O grupo GTL aumentou, em média, sua massa corporal em 1,30%, o grupo GT em 1,50% e GC em 0,12%.

Os grupos GTL e GT aumentaram significativamente ($p < 0,001$) a 1RMleg após o programa de treinamento. A 1RMleg do grupo GTL foi maior ($p < 0,001$) comparada ao grupo GC e estatisticamente igual ao grupo GT ($p = 0,748$). O grupo GT comparado ao GC também

obteve maior 1RMleg ($p=0,008$). As médias percentuais de aumento da 1RMleg para os grupos GTL, GT e GC foram de 55,59%; 26,83% e 0,27%, respectivamente. Na comparação entre os grupos, o GTL teve maior percentual de ganho que o grupo GT ($p=0,033$) e GC ($p<0,001$). E o grupo GT teve maior percentual de ganho da 1RMleg que o GC ($p=0,033$). Essas mudanças na carga do teste da 1RMleg estão resumidas na figura 3 e os percentuais na tabela 1.

O DMDI após o programa de treinamento foi maior para os grupos GTL e GT, mas apenas o GTL obteve significância estatística para a MPT.ext. ($p=0,003$) e PT.ext. ($p=0,036$). A comparação entre todos os grupos não identificou diferenças estatísticas ($p>0,05$). Considerando as médias percentuais dos ganhos do DMDI, o grupo GTL aumentou 7,38% a MPT.ext. e 4,67% o PT.ext.. Na comparação dos percentuais entre todos os grupos, a MPT.ext. e o PT.ext. do grupo GTL foi estatisticamente maior que a MPT.ext. e o PT.ext. do grupo GC ($p=0,001$). Na comparação entre os grupos GTL e GT ou GT e GC não houve diferença estatística ($p>0,05$). Essas mudanças no DMDI estão resumidas na figura 4 e os percentuais na tabela 1.

A perimetria da coxa do membro inferior dominante dos sujeitos aumentou significativamente para os grupos GTL e GT ($p<0,001$). O grupo GC diminuiu a perimetria sem significância estatística ($p=0,999$). Considerando os percentuais de mudança na perimetria, o grupo GTL aumentou em média 4,52%; o grupo GT 2,75% e o GC diminuiu 0,53%. Na comparação entre grupos desses percentuais, o grupo GTL foi estatisticamente maior que o grupo GC ($p<0,001$) e estatisticamente igual ao GT ($p=0,775$). O grupo GT foi estatisticamente maior que o GC ($p=0,006$). Essas mudanças na perimetria estão resumidas na figura 5 e os percentuais na tabela 1.

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) e do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) após o programa de treinamento de força.

Variável	Ganhos e perdas (%)			Comparação entre grupos (<i>p</i> valor)		
	GTL	GT	GC	GTL x GC	GTL x GT	GT x GC
1RMleg	55,59	26,83	0,27	p<0,001*	p=0,033*	p=0,033*
MPT.ext.	7,38	3,16	-2,97	p<0,001*	p=0,639	p=0,092
PT.ext.	4,67	1,82	-2,98	p=0,001*	p=0,401	p=0,126
Perimetria	4,52	2,75	-0,53	p<0,001*	p=0,775	p=0,006*

Siglas. MPT.ext.= Média dos Picos de Torque extensor do joelho; PT.ext.= Pico de Torque extensor do joelho; GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle. *= significância estatística (teste de *Kruskal-Wallis*).

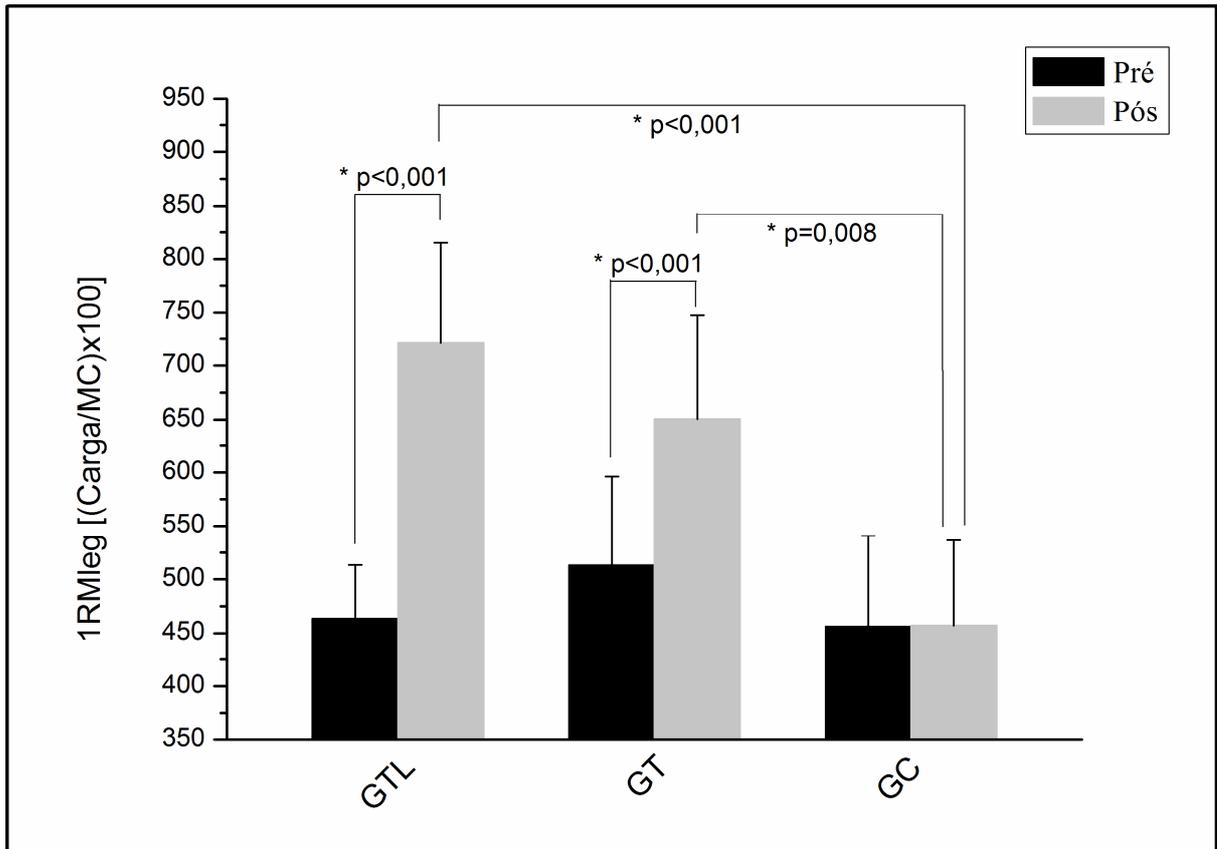


Figura 3 – Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) para os três grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística.

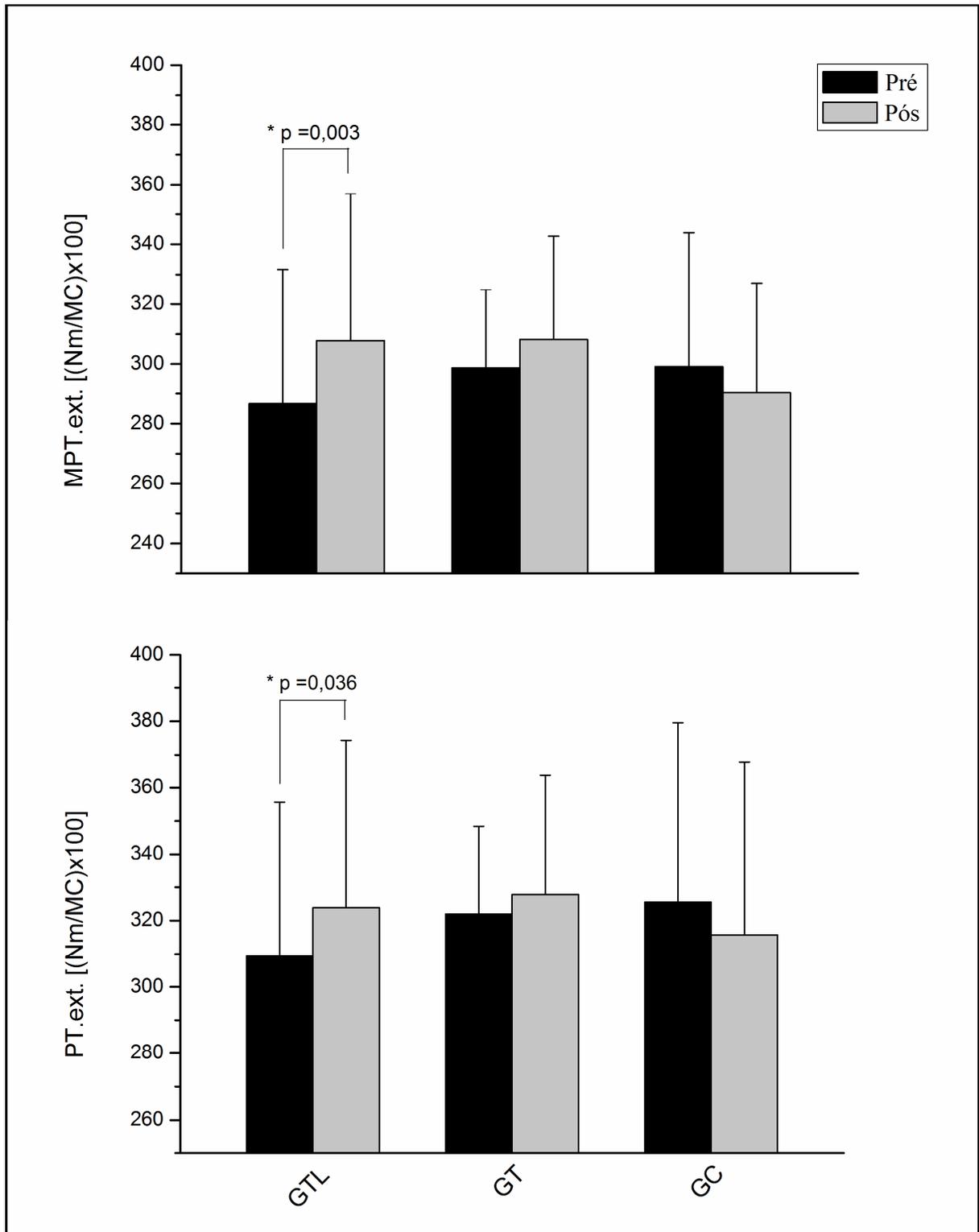


Figura 4 – Desempenho muscular em dinamometria isocinética (DMDI) para os três grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; MC= massa corporal dos sujeitos; MPT.ext.= média dos picos de torque extensor do joelho; PT.ext.= pico de torque extensor do joelho; *=significância estatística; Nm= Newton.metro.

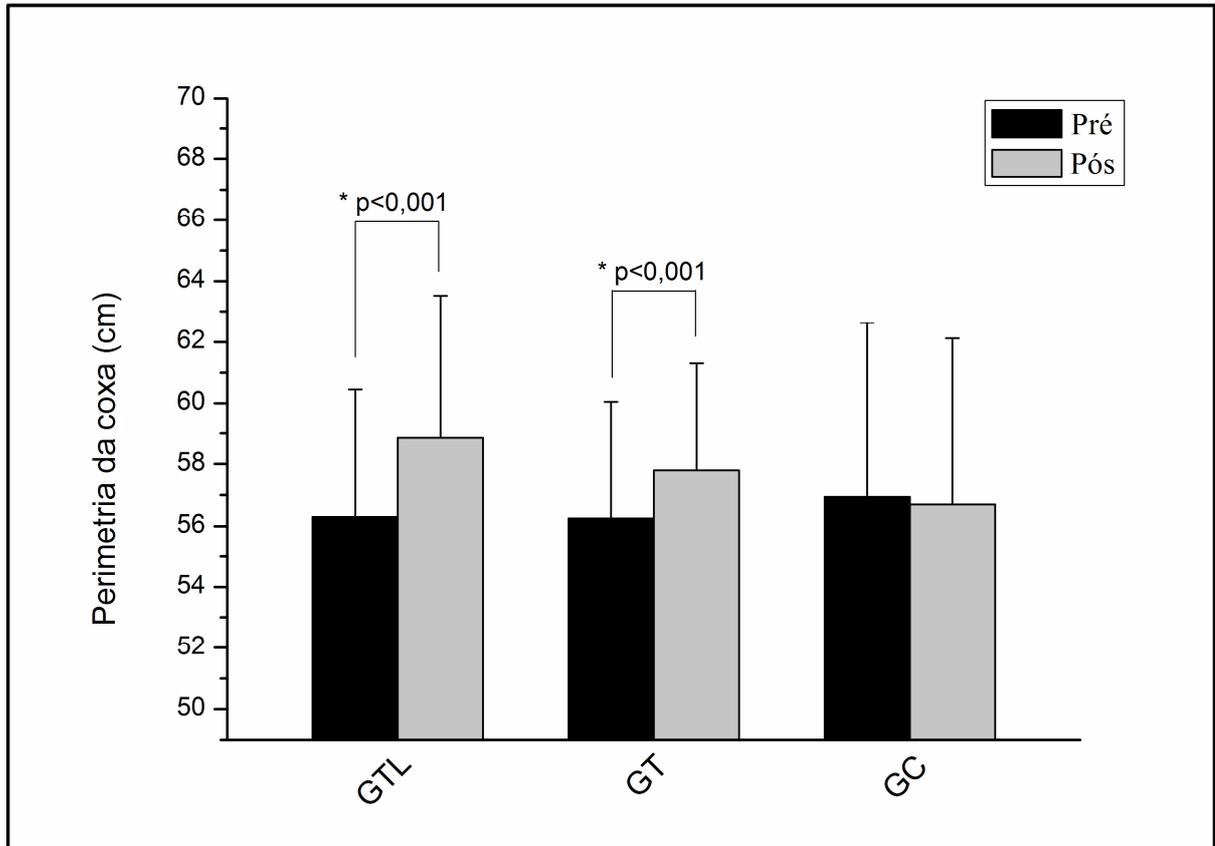


Figura 5 – Perimetria da coxa dos três grupos nos momentos pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; GC= grupo controle; Cm= centímetros; * = significância estatística.

4 – DISCUSSÃO

Esse estudo investigou se a laserterapia de baixa intensidade (LTBI) associada ao treinamento físico de força (80% de 1RM) poderia promover maiores aumentos de desempenho muscular em CCF, CCA e maior volume da coxa de homens jovens quando comparado ao treinamento de força praticado sem a LTBI. Os trinta sujeitos que cumpriram todo o programa de treinamento estavam alocados aleatoriamente em três grupos distintos, de tamanhos iguais e sem diferenças estatísticas. A massa corporal dos sujeitos, utilizada para

padronização da força aferida nos testes em CCF e CCA, não sofreu alterações significantes quando comparada a linha de base. Portanto, não foi um fator determinante nos resultados do desempenho muscular nas avaliações finais.

Após as 12 semanas de treinamento de força, a carga da 1RMleg foi estatisticamente maior que a carga da linha de base para os grupos GTL e GT. No entanto, permaneceu estatisticamente igual para o GC ($p=0,999$), pois esse grupo não sofreu nenhuma intervenção. O aumento de força muscular após um programa de treinamento de força é bem estabelecido na literatura científica (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

Na comparação das médias e variâncias da 1RMleg entre os grupos GTL, GT e GC após o treinamento, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos GTL e GT. Isso pode ser devido à média da carga inicial da 1RMleg do grupo GTL ser menor (mas não estatisticamente) que a carga inicial do grupo GT (diferença de $[49\text{kg/MC}] \times 100$). Assim, apesar do grupo GTL ter a média da carga final da 1RMleg maior que a do grupo GT, não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Entretanto, considerando em percentuais o aumento desses grupos, o acréscimo de 55,5% da 1RMleg do grupo GTL foi estatisticamente maior ($p=0,033$) que o aumento de 26,8% do grupo GT após o programa de treinamento (ver tabela 1).

Quando esses mesmos grupos foram comparados em CCA por meio da dinamometria isocinética (DMDI), apenas o grupo GTL conseguiu aumentar a média dos picos e o pico de torque extensor do joelho (MPT.ext. e PT.ext.) nessa avaliação. Apesar de não haver diferenças estatísticas entre os ganhos percentuais dos grupos GTL e GT na avaliação do (DMDI), apenas o grupo GTL obteve maior MPT.ext. e PT.ext. comparado ao grupo GC. Os baixos percentuais de transferência de desempenho muscular entre exercícios isotônicos em CCF e isocinéticos em CCA encontrados no presente estudo, já foram relatados na literatura (AUGUSTSSON et al., 1998) e são oriundos da especificidade do treinamento (STONE;

PLISK e COLLINS, 2002; HARRIS; CRONIN e KEOGH, 2007) e da forma de avaliação (VERDIJK et al., 2009).

Alguns trabalhos que investigaram o desempenho muscular de homens submetidos à exercício físico associado à LTBI não encontraram melhoras significativas (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009b). Entretanto, outros trabalhos com metodologias semelhantes encontraram resultados bastante relevantes para a redução da fadiga e melhora do desempenho muscular (LEAL JUNIOR et al., 2009b; LEAL JUNIOR et al., 2009c). As avaliações realizadas nesses estudos randomizados e duplo-cego, placebo controlados foram sobre a cinética de marcadores bioquímicos da fadiga (lactato) e dano muscular (creatina quinase). Esses trabalhos encontraram redução significativa dos níveis desses marcadores e também verificaram aumento no número de contrações voluntárias máximas, indicando uma resistência à fadiga induzida por exercício físico. As hipóteses desses autores para o melhor desempenho físico proporcionado pela ação da LTBI foram a menor atividade da creatina quinase, aumento dos níveis de antioxidantes e a melhora da microcirculação e remoção do lactato.

Somando-se às hipóteses anteriores, o presente estudo propôs mais três possíveis mecanismos fisiológicos para a melhora do desempenho físico humano quando associado à LTBI, todos baseados na importância das mitocôndrias celulares na produção de energia. Há fortes evidências na literatura científica que a LTBI possui íntima relação com as mitocôndrias, promovendo seu crescimento e/ou fusão de mitocôndrias menores para a formação de mitocôndrias gigantes e, conseqüentemente, o aumento da densidade mitocondrial nos tecidos (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005). E grandes mitocôndrias também têm sido associadas a maiores maquinarias enzimáticas para a produção aeróbia de ATP (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005). Embora essas organelas representem um papel fundamental na produção de energia necessária para o

treinamento de resistência ou de baixa intensidade (TONKONOGI et al., 2000; TONKONOGI e SAHLIN, 2002; SAHLIN et al., 2007), elas também podem contribuir para a maior disponibilidade energética nos exercícios de alta intensidade, como a do presente estudo. Tal fato deve-se pelo recrutamento hierárquico e em rampa das fibras musculares à medida que a intensidade do exercício cresce, seguindo-se necessariamente a seguinte ordem: tipo I (oxidativas); tipo II (glicolíticas e oxidativas) e finalmente tipo IIx (glicolíticas) (HODSON-TOLE e WAKELING, 2009). Assim, corrobora a existência de uma suplementação da produção energética da via aeróbia (oxidativa) pela via anaeróbia (glicolítica) à medida que o exercício se torna intenso (GOREHAM et al., 1999).

A segunda hipótese para a melhora do desempenho muscular do grupo GTL é a integração do metabolismo aeróbio e anaeróbio de produção de ATP descrita por Tonkonogi e Sahlin (2002). Esse mecanismo refere-se ao processo de re-síntese de fosfocreatina, o qual é dependente do mecanismo mitocondrial de lançadeiras de creatina, presentes em maiores quantidades nas fibras musculares com características oxidativas (TONKONOGI e SAHLIN, 2002). O sistema de lançadeiras de creatina capta a adenosina di-fosfato (ADP) e fósforo inorgânico (Pi) resultantes da utilização do ATP na contração muscular e os transporta até a matriz mitocondrial, passando pela membrana interna dessa organela por meio da translocase de nucleotídeos de adenina. O ATP produzido pela fosforilação oxidativa faz o mesmo caminho, porém no sentido contrário, fornecendo energia para a reação de re-síntese de fosfocreatina próxima ao músculo sob atividade, sendo essa reação catalisada pela creatina quinase muscular. Concomitantemente a esse processo, a utilização da energia da fosfocreatina para re-sintetizar o ATP muscular gera creatina, ADP e também Pi. Enquanto o ADP e Pi seguem o caminho já descrito anteriormente, a creatina é transportada até o espaço intermembranas da mitocôndria muscular e, então, a creatina quinase mitocondrial catalisa a reação de re-síntese de fosfocreatina, utilizando também o ATP produzido pela fosforilação

oxidativa. Por fim, a fosfocreatina é transportada para o sítio de contração muscular e fornece a energia necessária para que se continue a atividade contrátil por aumentar a razão ATP/ADP (TONKONOGLI e SAHLIN, 2002) (figura 2B).

Considerando os efeitos da LTBI sobre as mitocôndrias, quanto maior for a densidade mitocondrial e/ou sua maquinaria enzimática para a produção de ATP (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005), possivelmente maior será também a re-síntese de fosfocreatina. A re-síntese de fosfocreatina, principalmente nos intervalos de descanso dos exercícios de alta intensidade, seria capaz de fornecer parte da energia necessária para as próximas séries de contração muscular, proporcionar a re-síntese do ATP utilizado durante toda a sessão do treino, ou ainda nos testes máximos em CCF e CCA.

A terceira hipótese para a melhora do desempenho muscular do grupo GTL é a maior remoção e oxidação do ácido láctico produzido pela via anaeróbia (glicolítica) durante o exercício proposto, pois a acidose metabólica possivelmente induz a fadiga muscular (BROOKS et al., 1999; HASHIMOTO; HUSSIEN e BROOKS, 2006). A formação do ácido láctico no citosol da fibra muscular se dá pela redução do piruvato a lactato, que é catalisada pela enzima lactato desidrogenase citosólica, ocorrendo essencialmente nos exercícios de característica anaeróbia ou de força (BROOKS et al., 1999; HASHIMOTO; HUSSIEN e BROOKS, 2006). Dessa maneira, o lactato é transportado para a matriz mitocondrial via transportadores de monocarboxilados e, por meio do NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado) e da lactato desidrogenase mitocondrial, o lactato é oxidado à piruvato. Seqüencialmente, o NAD reduzido (NADH) é oxidado na cadeia transportadora de elétrons e fornece os elétrons e prótons necessários para a produção aeróbia de ATP. O piruvato por sua vez, é oxidado à acetil-CoA e, no ciclo de Krebs, continua a ser oxidado para produzir ATP aerobiamente através da cadeia transportadora de elétrons (BROOKS et al., 1999; HASHIMOTO; HUSSIEN e BROOKS, 2006) (Figura 2C).

Com relação aos resultados da perimetria da coxa dos grupos GTL, GT e GC, apenas os grupos GTL e GT aumentaram o volume desses músculos com significância estatística após o programa de treinamento. Mas entre os grupos não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) na comparação de suas médias e variâncias. Quando considerado os percentuais de mudança na perimetria dos grupos, o GTL e o GT aumentaram significativamente a perimetria da coxa comparado ao grupo GC (ver tabela 1).

Inúmeros trabalhos já reportaram aumento da área de secção transversa do tecido muscular submetido a um treinamento físico de força, modificando o volume e a força desses músculos (ver as revisões de Fry, 2004; Harris, Cronin e Keogh, 2007 e Wernbom, Augustsson e Thomee, 2007). Uma hipótese que tenta explicar essa adaptação fisiológica ao treinamento de força é a suposta maior ativação das células satélites musculares, pois seriam situações onde ocorreriam microlesões na estrutura muscular que necessitam de reparo (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007; PETRELLA et al., 2008). Essas microlesões estimulam as células mononucleadas inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) que atraem as células satélites ao sítio da lesão por mecanismos quimiotáticos, onde são ativadas, proliferam-se e se diferenciam por mecanismos moleculares (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; HOLTERMAN e RUDNICKI, 2005). Após sua diferenciação celular, as células satélites são chamadas de miotubos e podem se fundir à fibra muscular lesada, ou originar novas proteínas contráteis (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; HOLTERMAN e RUDNICKI, 2005). Nesse sentido, a LTBI parece modular o metabolismo dessas células por interferir no seu ciclo celular, conduzindo a sua maior proliferação (BEN-DOV et al., 1999; SHEFER et al., 2002) e também diferenciação, originando mioblastos e/ou a fusão de mioblastos para a formação de miotubos (WEISS e ORON, 1992).

Sugerimos que trabalhos futuros investiguem a possível ação da LTBI sobre a expressão gênica em humanos. Principalmente genes específicos que codificam fatores de transcrição das células satélites no estado de quiescência, como Pax7 (paired Box 7) e o receptor c-met (hepatocyte growth factor receptor); e/ou no estado ativado (proliferativo) para a formação de mioblastos, como Myf-5 (myogenic factor 5); e/ou a diferenciação dos mioblastos em miotubos, como Miogenina (myogenic factor 4), MyoD (myogenic differentiation) e MRF4 (muscle regulatory factor 4), o qual também é conhecido como Myf-6 (myogenic factor 6) (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; HOLTERMAN e RUDNICKI, 2005). Além disso, sugerimos também que talvez a expressão gênica da miostatina (GDF-8) pode ter sido modulada pela LTBI, pois esse gene é um dos principais sinalizadores da via de atrofia e age contrariamente ao processo de regeneração muscular, conduzindo à inibição da proliferação das células satélites e à menor hipertrofia (CHARGE e RUDNICKI, 2004). E ainda nesse contexto da expressão gênica, a LTBI talvez também possa ter modulado a expressão de genes das vias de hipertrofia muscular, como a mTOR (mechanistic target of rapamycin) e/ou genes responsáveis pela biogênese mitocondrial, como o NRF-1; NRF-2 (nuclear respiratory factor 1 e 2); Tfam (transcription factor A, mitochondrial) e PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha) (COFFEY e HAWLEY, 2007; HAWLEY, 2009).

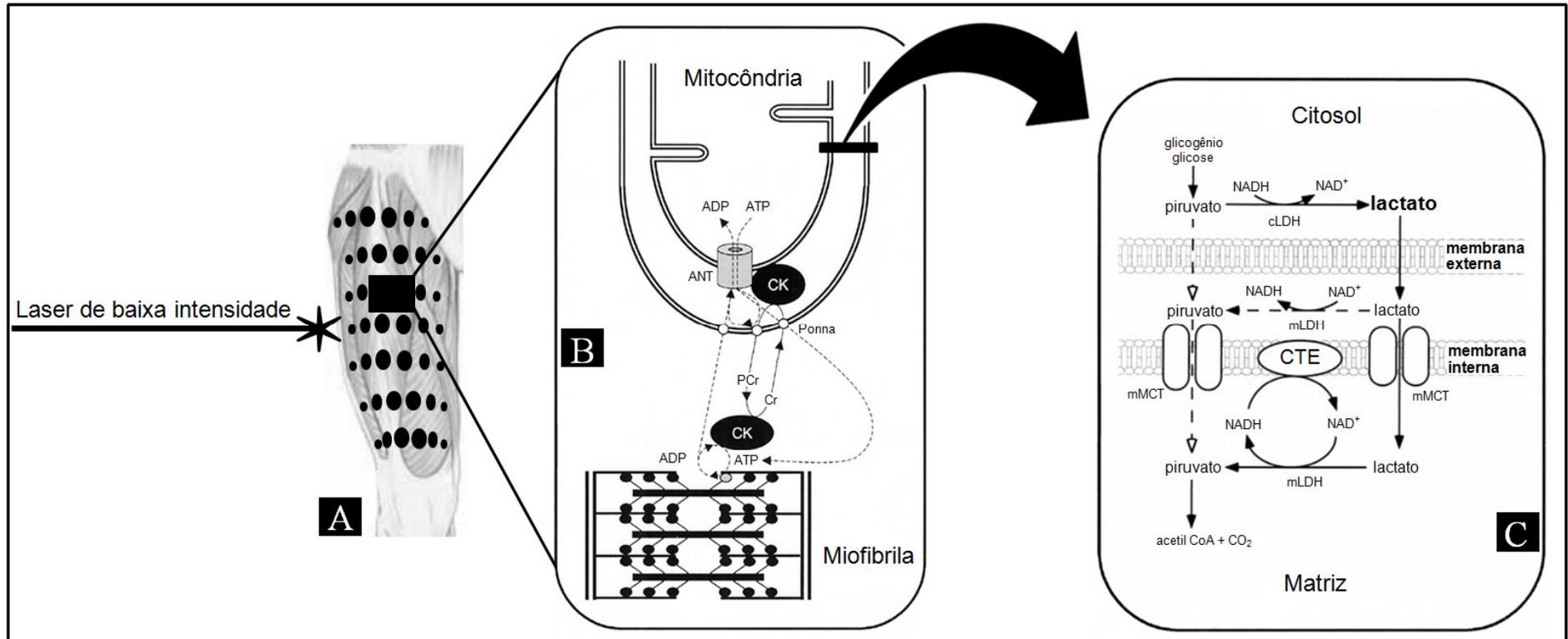


Figura 2 – A) Pontos de aplicação do laser de baixa intensidade sobre o músculo quadríceps femoral. B) Mecanismo das lançadeiras de creatina mitocondrial. Nesse mecanismo, a creatina (Cr) é transportada do local de sua utilização (miofibrilas) para a mitocôndria, onde a fosfocreatina (PCr) é transportada no sentido contrário. Em razão da presença da creatina quinase mitocondrial (CK) na porção interna da membrana mitocondrial, a Cr reage com o ATP (adenosina tri-fosfato) produzido na fosforilação oxidativa que re-sintetiza a PCr, aumentando a concentração de ADP (adenosina di-fosfato) e, por sua vez, estimula a respiração. No entanto, PCr diminui a concentração de ADP e a respiração. Sigla: ANT (adenine nucleotide translocase) (modificado de Tonkonogi & Sahlin, 2002). C) Oxidação do lactato via mitocondrial. Nesse mecanismo o lactato pode ser transportado para o espaço intermembranas ou ir diretamente para a matriz mitocondrial, onde é oxidado à piruvato pelo NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado); reação catalizada pela enzima lactato desidrogenase mitocondrial (mLDH). O NAD reduzido (NADH) é oxidado na cadeia transportadora de elétrons (CTE) e fornece os elétrons e prótons necessários para a produção aeróbia de ATP. Siglas: mMCT (mitochondrial Monocarboxylate Transporters) (Modificado de Brooks et al., 1999).

5 – CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo, alinhados aos dados já publicados sobre a interação da LTBI com as mitocôndrias e o desempenho muscular humano, sugerem que o treinamento de força associado à LTBI pode ser superior ao treinamento de força sem a LTBI. Mas ressaltamos que é necessária cautela quanto à generalização dos resultados. Acreditamos que mais estudos, sobretudo aqueles envolvendo a LTBI e a expressão gênica, são indispensáveis para a elucidação da interação desse recurso terapêutico com os mecanismos moleculares da recuperação e desempenho muscular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Departamentos de Fisioterapia e Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos pela ajuda prestada para a realização do estudo, aos voluntários da pesquisa e também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento parcial da pesquisa.

ESTUDO III

**MODULAÇÃO DO DESEMPENHO E DA EXPRESSÃO GÊNICA MUSCULAR
HUMANA PELO LASER DE BAIXA INTENSIDADE**

RESUMO

Contexto e Objetivos: A laserterapia de baixa intensidade (LTBI) tem sido aplicada recentemente para a otimização do desempenho muscular humano nos exercícios físicos. Mas existem poucos estudos com esse objetivo e os seus resultados ainda são pouco conclusivos quanto à eficiência da LTBI para essa finalidade. Nesse estudo, testamos se o treinamento físico de força associado à LTBI é capaz de aumentar o desempenho muscular em humanos e modular a expressão de genes relacionados à fisiologia muscular.

Desenho do estudo/Materiais e métodos: Participaram do estudo 10 homens ($19,6 \pm 1,7$ anos de idade), clinicamente saudáveis, com padrão de atividade física iniciante e/ou moderadamente treinados. Todos foram alocados randomicamente em dois grupos iguais: GTL (treinamento associado à LTBI) e GT (treinamento). Ambos os grupos treinaram com carga de 80% de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) durante 12 semanas consecutivas no leg press. A LTBI foi aplicada sobre o quadríceps femoral dos sujeitos do grupo GTL imediatamente após o término de cada treino. Foi utilizado um aparelho de laser na faixa do infravermelho (808nm) e energia total de 50,4J. O desempenho muscular foi avaliado nos testes de 1RMleg e perimetria da coxa. A modulação da expressão gênica foi investigada por microarrays (Agilent, Santa Clara – CA, USA).

Resultados: O aumento de 65,8% na 1RMleg do grupo GTL foi maior que o aumento de 26,2% do grupo GT ($p=0,007$). O aumento de 5,1% na perimetria do GTL foi maior que o aumento de 1,9% do GT ($p=0,015$). Genes como mTOR, PPARGC1- α e CKmit, foram percentualmente mais expressos no grupo GTL que no grupo GT.

Conclusão: Os treinos físicos de força associados à LTBI podem aumentar o desempenho muscular e modular a expressão gênica humana, comparado ao mesmo treino praticado sem a LTBI.

Palavras-chave: Exercício de alta intensidade, hipertrofia, leg press, laser de baixa intensidade, microarrays, teste de 1 repetição máxima.

1 – INTRODUÇÃO

A regeneração do tecido muscular após diferentes estímulos lesivos é um processo limitado, mas possível pela ativação, proliferação e diferenciação das células satélites musculares em novos mionúcleos e/ou miofibrilas (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). As células satélites localizam-se na lâmina basal do tecido muscular e podem estar quiescentes, em proliferação ou em diferenciação de acordo com o estímulo lesivo, sendo identificadas a partir da expressão de alguns marcadores moleculares como Pax7, c-Met, Miogenina, MyoD1, Myf5, Myf6 e a Miostatina (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). A quantificação da expressão gênica desses marcadores moleculares pode auxiliar na elucidação do quão intenso foi o estímulo lesivo e como está se processando a regeneração muscular (KADI et al., 2005; WILBORN et al., 2009). Nesse processo, o laser terapêutico de baixa intensidade (LTBI) parece influenciar positivamente na regeneração do tecido muscular por modular a atividade das células satélites (BEN-DOV et al., 1999; SHEFER et al., 2002).

O treinamento físico de força (sobrecarga), também chamado de alta intensidade, é um conhecido estímulo mecânico que promove microlesões na estrutura muscular que necessitam de reparo (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007). Nesse processo, a expressão gênica de marcadores moleculares das células satélites e/ou a adição de novos mionúcleos conduzem ao aumento da hipertrofia muscular e a melhora do domínio mionuclear, respectivamente (PETRELLA et al., 2008). No entanto, a hipertrofia muscular depende não apenas das células satélites, mas também da síntese de proteínas desencadeadas pela adaptação das fibras musculares ao estímulo mecânico dos exercícios físicos de força praticados cronicamente (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007). Nesse sentido, a síntese protéica é

dependente da expressão de alguns genes importantes que estão envolvidos na cascata de ativação da via de síntese protéica, como a mTOR (mechanistic target of rapamycin) (COFFEY e HAWLEY, 2007). Ou ainda na supressão de genes relacionados à atrofia muscular, como o gene MuRF1 (muscle-specific RING finger protein1) (COFFEY e HAWLEY, 2007). Nesse contexto, alguns estudos envolvendo culturas de células e animais de experimentação evidenciaram que a LTBI é capaz de promover a síntese de proteínas musculares e/ou acelerar a recuperação do tecido muscular (SHEFER et al., 2003; NAKANO et al., 2009).

Os poucos e recentes estudos que envolveram a LTBI e seres humanos sob atividade física são conflitantes, pois enquanto alguns estudos identificaram melhora do desempenho muscular nos exercícios anaeróbios e agudos de alta intensidade (LEAL JUNIOR et al., 2008b; LEAL JUNIOR et al., 2009c), outros não identificaram (GORGEY; WADEE e SOBHI, 2008; LEAL JUNIOR et al., 2009b). Apesar do treinamento físico de força ter seu recrutamento energético basicamente de forma anaeróbia, a produção de ATP aeróbio e a re-síntese de fosfocreatina pela via mitocondrial parecem contribuir significativamente para o retardo da fadiga e melhora do desempenho muscular nessas atividades (TONKONOJI e SAHLIN, 2002). Dessa forma, a LTBI talvez possa influenciar positivamente no desempenho muscular humano, pois promove modificações estruturais nas mitocôndrias (surgimento de mitocôndrias gigantes) e metabólicas (aumento da atividade enzimática oxidativa) que conduzem à maior síntese de energia (adenosina tri-fosfato - ATP) para diversos processos metabólicos (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005). Assim, a expressão de genes responsáveis pela biogênese mitocondrial (PPARGC1- α – peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, alpha) e a enzima mitocondrial de re-síntese de fosfocreatina (CKmit – creatine kinase mitochondrial) (TONKONOJI e SAHLIN, 2002; COFFEY e HAWLEY, 2007), talvez possam ser modulados pela LTBI.

Recentemente, a análise por microarrays tem sido usada para a identificação de mudanças no perfil de expressão gênica de sujeitos submetidos a exercícios físicos, com grande precisão dos resultados (ROTH et al., 2002; STEPTO et al., 2009). Dessa forma, a proposta desse estudo foi verificar se um programa crônico de treinamento de força (80% de 1 repetição máxima – 1RM) associado à LTBI é capaz de modular a expressão gênica relacionada às células satélites, as mitocôndrias e a síntese e/ou degradação protéica utilizando a expressão gênica por microarrays. Além disso, também otimizar os ganhos de força e hipertrofia muscular.

Foi hipotetizado que um programa crônico de treinamento de força combinado à LTBI poderia promover maiores aumentos da força, hipertrofia e expressão gênica relacionada às células satélites, mitocôndrias e síntese protéica, mas diminuir a degradação muscular em humanos quando comparado ao treinamento de força sem a LTBI. Para tanto, nós usamos um ensaio clínico controlado e randomizado que possuiu três formas de avaliação: a) 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) para quantificar a força; b) Perimetria da coxa para acompanhar as mudanças no volume da coxa dos sujeitos; c) Microarrays para analisar a expressão gênica de amostras de tecido muscular obtidos por biópsia percutânea.

2 – MÉTODOS

Este estudo foi desenhado como um ensaio clínico controlado e randomizado. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (parecer de aprovação nº 342/2008) e registrado no Clinical Trials (NCT01113021). Os sujeitos foram recrutados entre os estudantes de graduação dessa universidade. Todos os sujeitos foram informados sobre os objetivos do

estudo, procedimentos e, após a admissão ao experimento, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

2.1 – Sujeitos

Fizeram parte do estudo 10 sujeitos do gênero masculino que declararam ser clinicamente saudáveis.

Critérios de inclusão: Os sujeitos deveriam ser saudáveis; com idade entre 18 e 28 anos; índice de massa corpórea (IMC) igual ou inferior a 26 e com padrão de atividade física iniciante ou moderadamente treinado, ou seja, realizavam alguma atividade física com fins não competitivos entre 1 a 3 vezes por semana, conforme estudos prévios (WAWRZYNIAK et al., 1996; CASPERSEN; PEREIRA e CURRAN, 2000).

Critérios de exclusão: Os sujeitos apresentarem qualquer história de lesão muscular do quadríceps femoral ou isquiotibiais (6 meses prévios ao estudo); desordem no sistema osteoarticular dos membros inferiores; desordem no sistema cardiovascular; doença sistêmica ou estarem sob tratamento de qualquer fármaco ou suplemento alimentar, principalmente relacionados ao ganho de massa muscular.

2.2 – Randomização

A randomização foi realizada por meio de sorteio e os sujeitos foram alocados igualmente em dois grupos distintos: Grupo Treinamento associado à LTBI (GTL) e Grupo Treinamento (GT).

2.2.1 – Grupos do estudo

Os grupos GT e GTL foram submetidos a um programa de treinamento físico dinâmico, crônico e de força em leg press durante 12 semanas consecutivas, com frequência dos treinos de duas vezes por semana em dias não consecutivos. Logo após o término de cada sessão, apenas o grupo GTL foi submetido à laserterapia de baixa intensidade (LTBI) em ambos os membros inferiores, precisamente no músculo quadríceps femoral.

2.3 – Instrumentos

Foram utilizados: 1) *análise de expressão gênica* – reagentes para microarrays e 5 slides com 4x44K cada, contendo seqüências complementares a mais de 41.000 genes humanos transcritos e representados por oligonucleotídeos de 60mer da plataforma Agilent (Agilent, Santa Clara – CA, USA) e RNeasy Mini Kit(50) Cat N° 74104 para *clean-up* das amostras de RNA mensageiro (mRNA) (QIAGEN Brasil, São Paulo, BRA); 2) *biópsia muscular percutânea* – 8 agulhas metálicas desenvolvidas na Oficina de Precisão do Departamento de Física da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp (Unicamp, São Paulo, BRA); lâmina de bisturi número 11 (Solidor, São Paulo, BRA) e lidocaína a 2% sem vasoconstrictor para anestesia local (Ariston, São Paulo, BRA); 3) *treinamento de força e determinação da 1 Repetição Máxima em leg press (1RMleg)*: leg press inclinado a 45° (Reforce – São Paulo, BRA); 4) *determinação do ângulo de flexão do joelho no teste de 1RMleg*: goniômetro (ISP – Instituto São Paulo, São Paulo, BRA); 5) *padronização dos tempos das contrações musculares*: metrônomo digital (Qwick time – modelo QT5, JPN) e 6) *perimetria da coxa* – fita métrica (3M – modelo Sanny, BRA).

2.4 – Procedimentos

Os sujeitos foram orientados a não realizarem nenhum tipo de treinamento físico (aeróbico ou de força), principalmente nas 48 horas antecedentes da realização da biópsia muscular percutânea previamente agendada.

2.4.1 – Avaliações

2.4.1.1 - Avaliações iniciais

Todos os sujeitos foram orientados a não alterarem suas rotinas físicas normais e seus hábitos alimentares durante todo o estudo, bem como não ingerirem bebida alcoólica e dormirem bem (tempo e qualidade do sono).

Após 3 semanas do procedimento da biópsia, as avaliações iniciais foram realizadas no período matutino do dia e consistiram primeiramente do registro da massa corporal dos sujeitos, bem como da perimetria da coxa do membro inferior dominante do sujeito. Já no período vespertino do mesmo dia, foi realizado o teste de 1RMleg.

Os resultados dos testes de 1RMleg foram normalizados pela massa corporal dos sujeitos (MC) e multiplicado por 100, conforme já relatado por estudo prévio como forma de normalização do desempenho muscular (NAKAGAWA et al., 2008). Todos os protocolos de avaliação do estudo foram realizados pelo mesmo avaliador.

Nós conduzimos um estudo piloto para estabelecer a confiabilidade das avaliações de 1RMleg e perimetria da coxa. Seis voluntários que não fizeram parte do estudo foram testados em duas ocasiões distintas pelo mesmo avaliador, com um intervalo de 5 dias entre cada. Utilizamos o coeficiente de correlação intraclasse (*intraclass correlation coefficient* – ICC, 3,1) para avaliar a confiabilidade intra-avaliador, e o erro padrão da medida (*standard error of measurement* – SEM) para descrever a reprodutibilidade da medida. Os resultados expressos

como ICC (SEM) foram: $0,99[(0,71 \text{ Kg/MC}) \times 100]$ para 1RMleg e $0,99(0,01\text{cm})$ para a perimetria da coxa dos sujeitos.

2.4.1.2 – Protocolos de avaliações:

Protocolo I (biópsia muscular). O fragmento do músculo vasto lateral (aproximadamente entre 30-70mg) foi obtido na metade da distância entre uma linha imaginária com início no trocânter maior até o ápice da patela (SCHILLING et al., 2005). Previamente à biópsia, foram realizadas assepsia e anestesia local utilizando lidocaína a 2% sem vasoconstrictor. Em seguida, uma pequena incisão, com aproximadamente 0,5cm de pele, tecido subcutâneo e fáscia muscular foi realizada utilizando-se lâmina de bisturi número 11 (SCHILLING et al., 2005). Posteriormente, foi inserida a agulha de biópsia de 4,5mm para a obtenção do fragmento do músculo vasto lateral.

Imediatamente após sua retirada, o fragmento foi depositado em criotubo previamente congelado em nitrogênio líquido. A amostra contida no criotubo foi congelada em nitrogênio líquido até o seu posterior armazenamento em freezer -80 °C, o qual congelou a amostra até a sua utilização para a extração do ácido ribonucléico mensageiro (mRNA).

Finalizando o procedimento da biópsia muscular, a incisão foi ocluída com micropore sem necessitar de sutura local (SCHILLING et al., 2005). Os sujeitos participantes foram orientados a permanecerem com o curativo por 2 dias e também a não realizarem esforços intensos com o membro biopsiado. Este procedimento foi realizado no membro inferior esquerdo (linha de base do estudo) e direito (final do estudo) de cada sujeito. É válido salientar que a biópsia final foi realizada 48 horas após a última sessão de treinamento físico em leg press.

Protocolo II (perimetria da coxa). A perimetria da coxa foi medida entre a meia distância da espinha íliaca ântero-superior e a base da patela do membro inferior dominante de cada sujeito. O membro inferior dominante foi determinado como aquele utilizado para chutar uma bola com maior precisão. Essa avaliação foi realizada na posição ortostática e os músculos da coxa relaxados. A perimetria foi medida somente no início e final do estudo.

Protocolo III (1RM em leg press). Primeiramente foi realizado um breve período de aquecimento, de 5 minutos, em bicicleta ergométrica (*Ergo-FIT* – modelo *Ergo 167 Cycle*, Pirmasens, Germany) com carga de 100 W e velocidade entre 60 e 70 rotações por minuto. Em seguida, foi demonstrada a técnica de levantamento da carga no teste pelo avaliador. O teste foi padronizado pela delimitação da excursão dos membros inferiores de cada sujeito, identificando-se a flexão de 90° do joelho (por meio de goniômetro) e marcada, no aparelho de leg press, a posição (em cm) que correspondia a essa angulação. O arco de movimento proposto foi de 0° (extensão completa dos joelhos e início do movimento) até 90° de flexão (final do movimento). Os referenciais anatômicos para a identificação do ângulo desejado foram: trocânter maior do fêmur, epicôndilo lateral do fêmur e maléolo fibular do mesmo membro inferior (Figura 1).

Antes do início do teste, foi realizada uma familiarização ao aparelho que se constituiu de 10 repetições com uma carga aleatória, estimada subjetivamente e inferior a 60% da 1RMleg. Essa carga subjetiva foi identificada de acordo com o grau de esforço físico que o sujeito realizou na familiarização ao aparelho, seguindo-se a escala de OMNI, onde 0 corresponde a extremamente fácil e 10 extremamente difícil (IRVING et al., 2006). O incremento de cargas para se chegar a 1RMleg foi por meio de percentuais da carga de familiarização ao aparelho e, dessa forma, dependeu da resposta dos sujeitos frente à escala de esforço de OMNI. A escolha das cargas respeitou o limite de cinco tentativas separadas por

intervalos de 5 minutos, evitando disfunções metabólicas que pudessem prejudicar a qualidade do teste. Foi dado encorajamento verbal aos sujeitos para se alcançar o máximo de esforço.



Figura 1 – Posicionamento dos sujeitos para a avaliação no teste de uma repetição máxima em leg press inclinado a 45° (1RMleg) e a delimitação do ângulo de flexão dos joelhos.

Protocolo III (treinamento). Após 2 dias das avaliações iniciais de perimetria e 1RMleg, os sujeitos dos grupos GTL e GT iniciaram um programa de treinamento físico de força, baseado na literatura científica específica (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOMEE, 2007; RATAMESS et al., 2009). O programa de treinamento consistiu de dois treinos semanais em

leg press inclinado a 45° em dias não consecutivos. O período total do treinamento foi de 12 semanas consecutivas (3 meses), totalizando 24 sessões. A intensidade do treinamento foi sempre de 80% da 1RMleg e o volume do treino de 50 repetições, divididas em 5 séries de 10 repetições cada. Caso o sujeito não conseguisse completar as 10 repetições de cada série, ele realizava o número máximo de repetições até a sua falha muscular concêntrica durante essa série e lhe era concedido o intervalo de repouso. O intervalo de repouso entre as séries foi de 2 minutos e os sujeitos foram instruídos quanto à velocidade da realização do exercício por meio de um metrônomo: 2 segundos de contração muscular excêntrica para 1 segundo de concêntrica (WERNBOM; AUGUSTSSON e THOMEE, 2007).

Todos os treinos foram monitorados quanto à temperatura ambiente (entre 23 e 26 graus Celsius), à frequência cardíaca dos sujeitos e à amplitude de movimento desenvolvida nos testes de 1RMleg e durante o treinamento em leg press, validando a carga dos testes de 1RMleg e o treino. Os ajustes da carga de trabalho foram feitos por meio de reavaliações da 1RMleg a cada 8 treinos, sempre no mesmo período do dia que o sujeito estabeleceu para treinar e, dessa forma, o substituiu. Dois dias após o 24° treino, os sujeitos foram submetidos às avaliações finais de perimetria da coxa e 1RMleg. Após as avaliações finais, os sujeitos realizaram a última sessão de treino com carga de trabalho referente ao último reajuste de carga, ou seja, não baseada na carga da 1RMleg final do estudo.

Protocolo IV (aplicação da LTBI). Os sujeitos do grupo GTL foram submetidos a um protocolo de fotoestimulação por laser de baixa intensidade imediatamente após cada sessão de treinamento. O tratamento com laser infravermelho foi através da técnica de contato; feixe estacionado e perpendicular com a pele dos sujeitos; por 24 dias; sobre 7 regiões distribuídas no ventre do músculo quadríceps femoral de cada membro inferior, numa área previamente demarcada (primeira região a 10cm abaixo da espinha ílica ântero-superior e as demais a

cada 5cm abaixo da marca inicial) e registrada como forma de tornar as sessões de aplicação do laser mais uniformes (Figura 2A). Os parâmetros do laser empregado no estudo foram: aparelho na faixa do infravermelho próximo (GaAlAs-808nm), contendo seis diodos dispostos transversalmente e com potência de 60mW cada; modo contínuo; área do feixe de 0,0028cm²; energia por ponto (diodo) de 0,6J; energia total por sessão em cada membro inferior de 25,2J e a total de 50.4J (ambos os membros inferiores); densidade de energia ou fluência por diodo de 214,28 J/cm²; densidade de potência por diodo de 21,42W/cm² e tempo de aplicação aplicação de 70 segundos por membro e 140 segundos no total (ambos os membros).

Protocolo V (extração do mRNA do tecido muscular, clean-up e quantificação). O mRNA foi extraído utilizando trizol (Invitrogen). Para cada 10mg de tecido muscular foi adicionado 800µL de trizol e 10µL de glicogênio (USB). Em seguida, o material foi incubado por 5 minutos em trizol, depois triturado e homogeneizado com homogeneizador (Fisher, modelo PowerGen 125, UK). A separação do mRNA e precipitação do ácido desoxirribonucléico (DNA) foi por 200µL de clorofórmio e 500µL de isopropanol. O mRNA separado, ainda foi lavado com etanol 70% na proporção de 1mL a cada 1mL de trizol utilizado na amostra. Depois de lavado, foi dissolvido em água livre de RNase. Para o *clean-up* das amostras de mRNA, seguiu-se o manual de instruções do produto RNeasy Mini Kit(50). Após esse processo, o mRNA total foi quantificado espectrofotometricamente por NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, USA). O volume total de mRNA para as reações de microarray foi de 5,3µL para cada amostra, com concentrações variando de 2,7 a 12µg/µL. Também, por meio de eletroforese, uma alíquota do mRNA de algumas amostras foram investigadas quanto a sua integridade, demonstrada nas bandas 28s e 18s.

Protocolo VI (expressão gênica por microarray).

Primeira etapa: preparação do controle One-Color Spike-Mix conforme manual do fabricante (Agilent). Foi adicionado 2 μ L de Agilent One-Color Spike-Mix para 38 μ L de Buffer de Diluição do kit (proporção de 1:20). Posteriormente foi tomado 2 μ L dessa primeira diluição e diluído em 48 μ L de Buffer de Diluição (proporção de 1:25). Seqüencialmente, 8 μ L da segunda diluição foi novamente diluído em 32 μ L (proporção de 1:5) desse mesmo Buffer. Finalmente, foi adicionado 5 μ L da terceira diluição ao mRNA (extraído das amostras de tecido muscular) o qual estava com volume igual a 5,3 μ L e concentração superior a 1000ng/ μ L.

Segunda etapa: consistiu em sintetizar o DNA complementar (cDNA) ao mRNA. Foram adicionados 1,2 μ L da enzima T7 Promoter Primer aos 5 μ L do One-Color Spike Mix (terceira diluição) mais 5,3 μ L de mRNA de cada amostra, totalizando um volume de 11,5 μ L para cada amostra. Esse mix foi incubado por 10 minutos a 65°C e colocado em gelo por 5 minutos.

Terceira etapa: preparar o cDNA Master Mix, o qual foi composto por: 5X First Strand Buffer (4 μ L/reação); 0.1 M DTT (2 μ L/reação); 10mM dNTPmix (1 μ L/reação); MMLV-RT (1 μ L/reação) e RNaseOut (0,5 μ L/reação), totalizando 8,5 μ L de cDNA Master Mix por reação (cada amostra). Em seguida, o cDNA Master Mix foi adicionado a cada amostra de mRNA da segunda etapa, incubado-se posteriormente por 2 horas a 40°C e a 65°C por mais 15 minutos. Por fim, o mix de mRNA e cDNA Master Mix foi incubado no gelo por 5 minutos.

Quarta etapa: sintetizar o RNA complementar (cRNA) a partir do cDNA previamente transcrito e marcá-lo. Preparou-se o Transcription Master Mix, composto por água livre de nucleases (15,3 μ L/reação); 4X Transcription Buffer (20 μ L/reação); 0.1 M DTT (6 μ L/reação); NTP mix (8 μ L/reação); 50% PEG (6,4 μ L/reação); RNaseOut (0,5 μ L/reação); Pirofosfatase

inorgânica (0,6µL/reacção); T7 RNA Polimerase (0,8µL/reacção) e Cyanine 3-CTP para a marcação do cRNA (2,4µL/reacção). Foi adicionado 60µL do Transcription Master Mix a cada amostra da reacção final da terceira etapa e incubada a 40°C por 2 horas. Nesse passo, cada amostra totalizou o volume de 80µL.

Quinta etapa: purificação do cRNA amplificado e marcado. Foi utilizado o RNeasy Mini Kit(50) Cat N° 74104 (QIAGEN) para *clean-up* das amostras do cRNA marcado. Nessa etapa, foram adicionados: 20µL de água livre de nucleases; 350µL de Buffer RLT e 250µL de etanol a 96%. Em seguida, foram transferidos 700µL desse mix para um RNeasy mini column dentro de um tubo coletor de 2mL. Centrifugou-se por 30 segundos, a 13.000 rotações por minuto (rpm) e a 4°C. O RNeasy mini column foi transferido para outro tubo coletor e adicionou-se 500µL de Buffer RPE (contendo etanol). Foi novamente centrifugado a 13.000 rpm e a 4°C (duas vezes). O RNeasy mini column foi transferido para outro tubo coletor, agora com 1,5mL. Foram adicionados 30µL de água livre de RNase diretamente sobre a membrana do RNeasy mini column e após 5 minutos, foi centrifugado por 1 minuto e 30 segundos a 13.000 rpm. O RNeasy mini column foi descartado e o RNA marcado e purificado foi mantido em gelo.

Sexta etapa: quantificação do cRNA marcado e atividade da Cyanine. O cRNA total de cada amostra foi quantificado espectrofotometricamente por NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, USA), utilizando-se a razão 260/280, dado em ng/µL. A quantificação da Cyanine foi da mesma maneira, porém em pmol/µL. A concentração de cRNA marcado e a concentração de Cyanine foram calculados a partir das fórmulas contidas no manual do fabricante (Agilent):

1. $[\text{cRNA}] * 30\mu\text{L} / 1.000 = \mu\text{g de cRNA}$.

2. $[\text{Cyanine}] / [\text{cRNA}] * 1.000 = \text{pmol de Cyanine por } \mu\text{g de cRNA}$.

Todas as amostras continham concentrações acima dos níveis críticos considerados para hibridação, os quais são: [cRNA] < 1,65 µg e [Cyanine] < 9,0 pmol.

Sétima etapa: hibridação e escaneamento. Para a hibridação, primeiramente foi preparado a solução “10X Blocking Agent”, a qual consistiu de 10X Blocking Agent mais 500µL de água livre de nuclease. Posteriormente, ao volume/massa de 1,65µg de cRNA marcado e quantificado, foram adicionados: 11µL de 10X Blocking Agent; 52,8µL de água livre de nuclease e 2,2µL de 25X Fragmentation Buffer, com o volume total de 55µL. Em seguida foi incubado a 60°C por 30 minutos para fragmentação do cRNA. Após fragmentação, foram adicionados 55µL do buffer 2X GEx Hybridization HI-RPM à amostra e, dos 110µL finais da solução de hibridação, 100µL foram utilizados conforme recomendado pelo fabricante (Agilent). Para hibridar o cRNA marcado à lâmina, utilizou-se Gasket (Agilent, G2534A) e câmara de hibridação SureHyb (Agilent, G2534A), por 17horas (overnight), a 65°C e a 4rpm em forno de hibridação (Agilent, G2545A). Após hibridação, as laminas lavadas e secas, foram escaneadas e analisadas utilizando o software “Agilent Feature Extraction” (version 8.5).

2.5 – Análise estatística

Foi analisada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade das variâncias pelo teste de *Levene*.

O efeito do treinamento sobre a expressão dos genes de interesse, 1RMleg e a perimetria da coxa foram verificados por meio da análise de variâncias (ANOVA two-way) com medidas repetidas em apenas um fator. Os fatores independentes foram o grupo (com 2 níveis – grupo treinamento associado à LTBI e grupo treinamento) e o tempo (com 2 níveis – inicial e final), o qual também foi considerado como medida repetida. Quando encontradas

diferenças significativas, realizamos o teste de *post-hoc* de *Tukey*. O efeito do treinamento também foi analisado pela variação percentual das variáveis estudadas em relação à linha de base (considerada 100%) e comparado entre os grupos pelo teste de *Mann-Whitney*.

3 – RESULTADOS

A idade média dos sujeitos do grupo GTL foi de $19,8 \pm 0,8$ anos; massa corporal média de $73,4 \pm 14,6$ kg; altura média de $1,74 \pm 0,07$ m e IMC médio de $22,8 \pm 3,0$ kg/m². O grupo GT teve idade média de $19,4 \pm 1,5$ anos; massa corporal média $76,8 \pm 8,5$ kg; altura média de $1,78 \pm 0,05$ m e IMC médio de $23,0 \pm 2,5$ kg/m².

As avaliações iniciais de todas as variáveis estudadas foram comparadas entre os dois grupos do estudo para se identificar qualquer diferença estatisticamente significativa entre eles, fato não observado para nenhuma variável ($p > 0,05$), demonstrando que os grupos eram estatisticamente iguais no início da pesquisa.

Após o programa de treinamento, a massa corporal utilizada para normalização do desempenho muscular nos testes de 1RMleg sofreu mudança, porém não significativa ($p > 0,05$). O grupo GTL aumentou, em média, sua massa corporal em 1,63% e o grupo GT em 1,30%.

A média de carga do teste de 1RMleg dos grupos GTL e GT aumentou significativamente após o programa de treinamento ($p < 0,001$ e $p = 0,008$, respectivamente). Entretanto, não houve diferença estatística ($p = 0,258$) entre os grupos considerando as médias e variâncias finais da 1RMleg. Considerando a média percentual de aumento da carga da 1RMleg do grupo GTL (65,86%) e do GT (26,22%), o aumento do GTL foi estatisticamente

maior que o aumento do GT ($p=0,007$). Essas mudanças na carga do teste de 1RMleg estão resumidos na figura 3 e os percentuais tabela 1.

A perimetria da coxa do membro inferior dominante dos sujeitos aumentou para os dois grupos do estudo, entretanto apenas o GTL teve significância estatística ($p=0,001$). E considerando a média e a variância da perimetria final do estudo, não houve diferença estatística entre os grupos ($p=0,999$). Porém, o aumento percentual de 5,10% do grupo GTL foi maior que o aumento de 1,96% do GT ($p=0,015$). Essas mudanças na perimetria estão resumidas na figura 4 e os percentuais na tabela 1.

Com relação à expressão de todos os genes do estudo, não houve diferença estatística entre os grupos GTL e GT ($p>0,05$) quando comparados apenas as médias e as variâncias finais de expressão. As diferenças estatísticas na expressão gênica foram identificadas nas condições pré e pós o programa de treinamento do mesmo grupo e na comparação dos percentuais de aumento entre os grupos.

A expressão gênica relacionada às células satélites foi significativamente diferente da linha de base do estudo apenas para o gene c-Met ($p=0,037$). O gene c-Met teve sua expressão suprimida em 30,30% e foi estatisticamente menos expresso quando comparado ao aumento de 4,36% do grupo GT ($p=0,047$). Os genes Pax7; Myf5; Myf6 (MRF4); Miogenina (MYOG); Myod1 e Miostatina (GDF8) que também estão relacionados às células satélites, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p>0,05$) na expressão de seus mRNAs após o programa de treinamento. E na comparação entre os grupos dos ganhos e perdas percentuais de expressão desses genes, também não houve diferenças estatísticas ($p>0,05$). Esses resultados estão resumidos na tabela 1.

Após o programa de treinamento, as vias de hipertrofia e atrofia muscular foram significativamente moduladas somente no grupo GTL, pois houve super-expressão dos mRNAs do gene mTOR ($p=0,003$) e sub-expressão do gene MuRF1 ($p=0,016$). Na

comparação percentual entre os grupos, a super-expressão de 31,89% do gene mTOR foi estatisticamente maior que a super-expressão de 3,95% do grupo GT ($p=0,015$). Para o gene MuRF1, a sub-expressão de 32,67% no grupo GTL foi estatisticamente menor que a sub-expressão de 8,00% do grupo GT ($p=0,047$). Esses resultados estão resumidos na tabela 1.

Os genes relacionados às mitocôndrias foram também diferentemente expressos somente no grupo GTL. O gene PPARGC1- α foi super-expresso comparado à linha de base do estudo ($p=0,005$). E na comparação entre os grupos, a super-expressão de 65,48% do grupo GTL foi significativamente maior que a super-expressão de 13,12% do grupo GT ($p=0,006$). A expressão do gene CKmit de ambos os grupos não foi significativamente modificada quando comparada a linha de base ($p>0,05$). Entretanto, na comparação percentual entre os grupos, a super-expressão de 55,62% do grupo GTL foi significativamente maior que a sub-expressão de 28,49% do grupo GT ($p=0,028$). Esses resultados estão resumidos na tabela 1.

Variável	Comparação pré/pós treinamento		Ganhos e perdas após treinamento (%)		Comparação entre grupos (%)
	GTL	GT	GTL	GT	GTL x GT
1RMleg	p<0,001*	p=0,008*	65,86	26,22	p=0,007 ^{ht}
Perimetria	p=0,001*	p=0,142	5,10	1,96	p=0,015 ^{ht}
Pax7	p=0,837	p=0,902	21,83	-6,66	p=0,690
c-Met	p=0,037*	p=0,993	-30,30	-4,36	p=0,047 ^{ht}
Miogenina	p=0,999	p=0,872	11,92	-6,15	p=0,841
Myod1	p=0,777	p=0,998	6,72	0,75	p=0,485
Myf6	p=0,945	p=0,935	3,96	22,60	p=0,547
Myf5	p=0,998	p=0,747	5,21	31,52	p=0,309
Miostatina	p=0,095	p=0,311	-40,59	-35,76	p=0,841
mTOR	p=0,003*	p=0,936	31,89	3,95	p=0,015 ^{ht}
MuRF1	p=0,016*	p=0,717	-32,67	-8,00	p=0,047 ^{ht}
PPARGC1- α	p=0,005*	p=0,842	65,48	13,12	p=0,006 ^{ht}
CKmit	p=0,211	p=0,376	55,62	-28,49	p=0,028 ^{ht}

Tabela 1 – Percentuais e comparações dos ganhos e perdas de desempenho muscular no teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg), perimetria e expressão gênica após o programa de treinamento de força.

Siglas. Pax 7= paired box 7; c-Met= proto-oncogenic c-Met receptor; Miogenina (MYOG)= myogenic factor 4; Myod1= myogenic differentiation 1; Myf6 (MRF4)= myogenic factor 6/ muscle-specific regulatory factor 4; Miostatina (GDF8)= growth differentiation factor 8; mTOR= mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase); MuRF1(TRIM63) muscle-specific RING finger protein1 (tripartite motif-containing 63); PPARGC1- α = peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, alpha; CKmit= creatine kinase mitochondrial; GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; *=significância estatística (*ANOVA two-way*); ^{ht}= significância estatística (teste de *Mann-Whitney*).

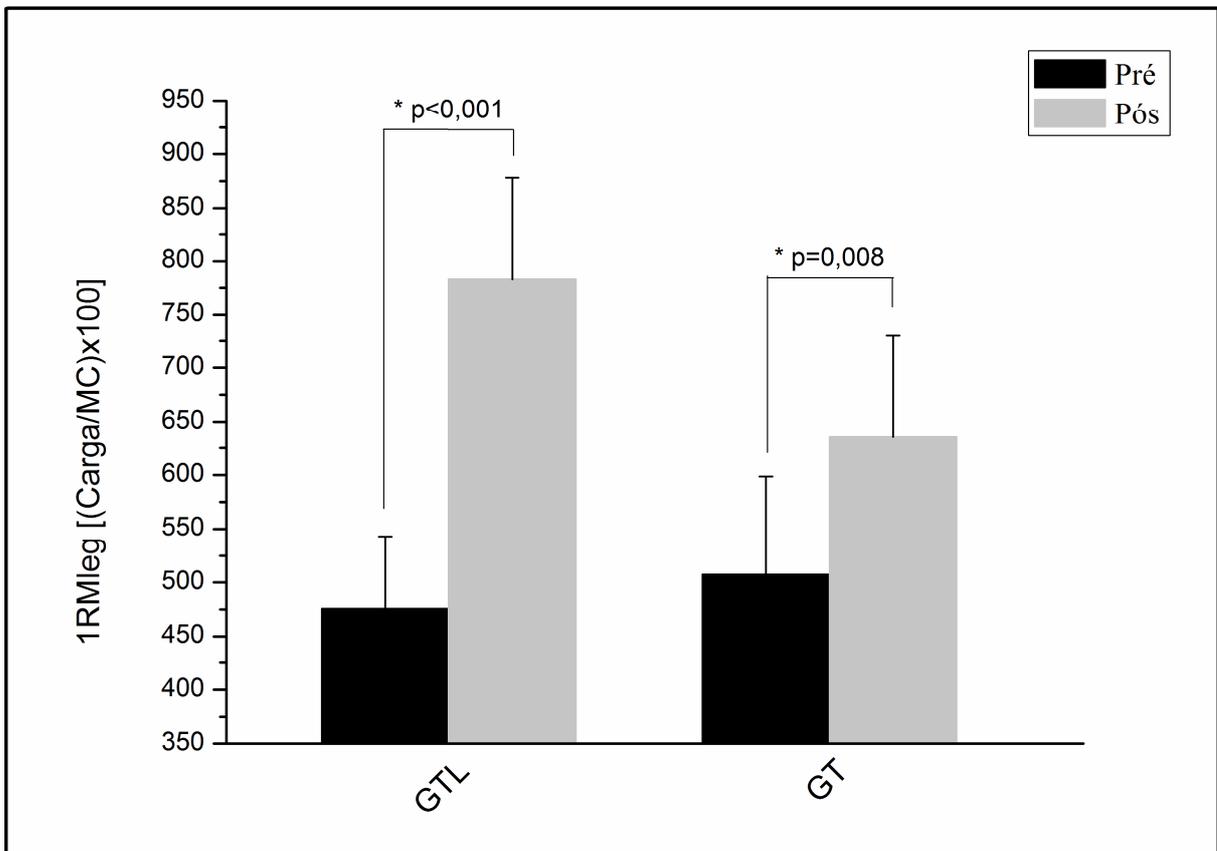


Figura 3 – Carga do teste de 1 repetição máxima em leg press (1RMleg) para os dois grupos do estudo nas situações pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; MC= massa corporal dos sujeitos; * = significância estatística.

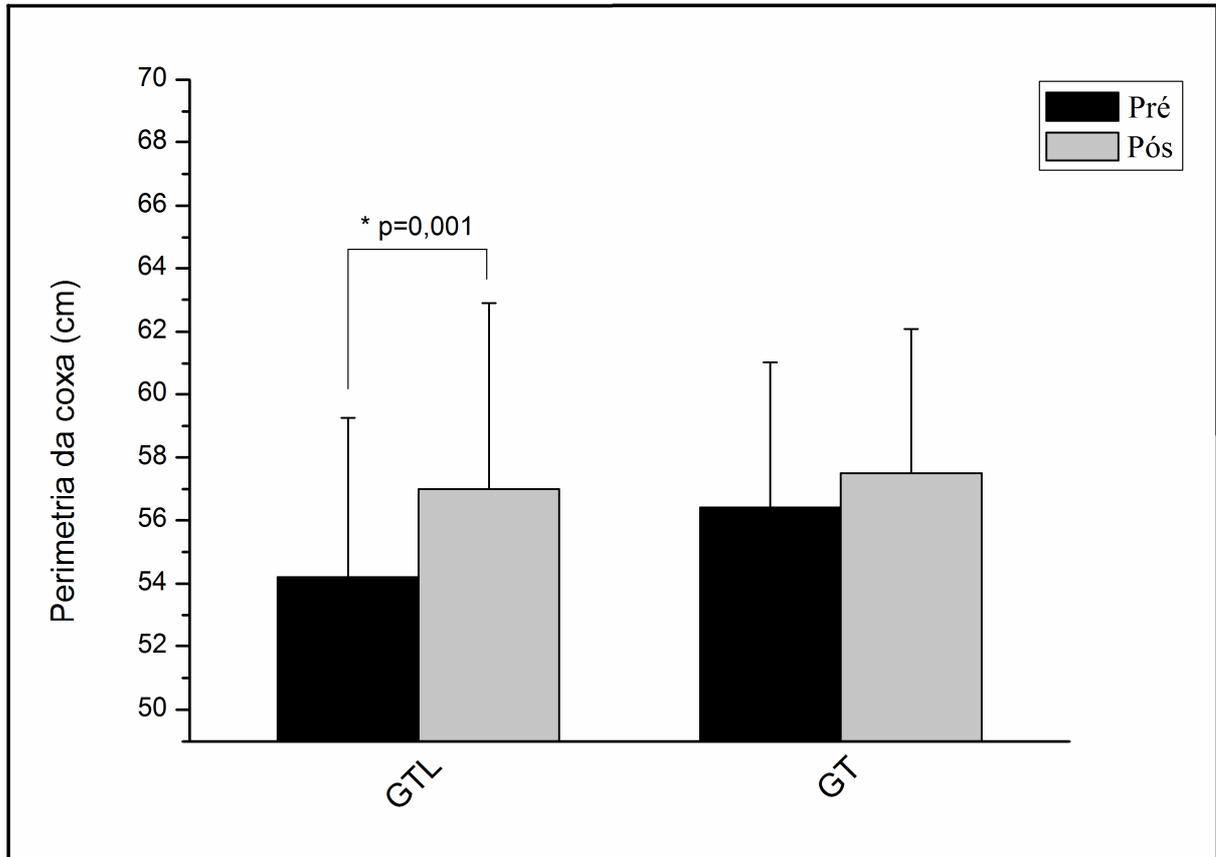


Figura 4 – Perimetria da coxa dois grupos nos momentos pré e pós o programa de treinamento de força. Siglas – GTL= grupo treinamento associado à terapia laser de baixa intensidade; GT= grupo treinamento; Cm= centímetros; * = significância estatística.

4 – DISCUSSÃO

Esse estudo investigou se a laserterapia de baixa intensidade (LTBI) combinada ao treinamento físico de força (80% de 1RM) poderia promover maiores aumentos da força muscular, hipertrofia dos músculos da coxa e modular a expressão gênica das células satélites, mitocôndrias e da síntese e/ou degradação protéica em humanos quando comparado ao treinamento de força sem a LTBI. Os dez sujeitos que cumpriram todo o programa da pesquisa estavam alocados aleatoriamente em dois grupos distintos, de tamanhos iguais e sem diferenças estatísticas. A massa corporal dos sujeitos, utilizada para padronização da força

aferida no teste de 1RMleg não sofreu alterações significantes quando comparada a linha de base ($p>0,05$). Portanto, não foi um fator determinante nos resultados do desempenho muscular nas avaliações finais.

Após as 12 semanas de treinamento de força, a carga da 1RMleg foi estatisticamente maior que a carga da linha de base para os grupos GTL e GT. O aumento de força muscular após um programa de treinamento de força está bem estabelecido na literatura científica (FRY, 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007).

Na comparação das médias e variâncias da 1RMleg entre os grupos GTL e GT após o treinamento, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,258$). Isso pode ser devido à média da carga inicial da 1RMleg do grupo GTL ser menor (mas não estatisticamente) que a carga inicial do grupo GT (diferença de $[32\text{kg/MC}] \times 100$). Assim, apesar do grupo GTL ter a média da carga final da 1RMleg maior que a do grupo GT, não foi estatisticamente significante. Entretanto, considerando em percentuais o aumento desses grupos, o acréscimo de 65,8% da 1RMleg do grupo GTL foi estatisticamente maior ($p=0,007$) que o aumento de 26,2% do grupo GT.

Com relação aos resultados da perimetria da coxa dos grupos GTL e GT, apenas o grupo GTL aumentou o volume desses músculos com significância estatística após o programa de treinamento. Na comparação das médias e variâncias finais entre os grupos, não houve diferenças significativas ($p>0,999$). Isso pode ser devido à média da perimetria inicial do grupo GTL ser menor (mas não estatisticamente) que a perimetria inicial do grupo GT (diferença de 2,2cm). Mas, quando considerado os percentuais de aumento na perimetria da coxa dos grupos, o GTL teve maior ganho de perimetria da coxa comparado ao grupo GT ($p=0,015$) (ver tabela 1).

Inúmeros trabalhos já reportaram aumento da área de secção transversa do tecido muscular submetido a um treinamento físico de força, modificando o volume e a força desses

músculos (ver as revisões de Fry, 2004; Harris, Cronin e Keogh, 2007 e Wernbom, Augustsson e Thomee, 2007). Uma hipótese que tenta explicar essa adaptação fisiológica ao treinamento de força é a suposta maior ativação das células satélites musculares, pois seriam situações onde ocorreriam microlesões na estrutura muscular que necessitam de reparo (VIERCK et al., 2000; HARRIDGE, 2007; PETRELLA et al., 2008). Essas microlesões estimulam as células mononucleadas inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) que atraem as células satélites ao sítio da lesão por mecanismos quimiotáticos, onde são ativadas, proliferam-se e se diferenciam por mecanismos moleculares (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). Após sua diferenciação celular, as células satélites são chamadas de miotubos e podem se fundir à fibra muscular lesada, ou originar novas proteínas contráteis (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). Nesse sentido, a LTBI parece modular o metabolismo dessas células por interferir no seu ciclo celular, conduzindo a maior proliferação (BEN-DOV et al., 1999; SHEFER et al., 2002) e também diferenciação, originando mioblastos e/ou a fusão de mioblastos para a formação de miotubos (WEISS e ORON, 1992).

Existem muitos mecanismos moleculares envolvidos no processo da regeneração muscular via células satélites. Dentre eles estão os genes Pax7 (paired box 7), c-Met (proto-oncogenic c-Met receptor) e Myf5 (myogenic factor 5) que são expressos na quiescência dessas células, ou seja, identificam a população de células satélites que não foram ativadas e não entraram em processo de diferenciação (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). Nossos resultados foram significativos apenas para o gene c-Met, o qual teve sua expressão diminuída após o treinamento de força associado à LTBI, sugerindo haver uma menor população de células satélites quiescentes.

Os genes Miogenina (Myog - myogenic factor 4), Myod1 (myogenic differentiation 1) e Myf6 (myogenic factor 6), também chamado de MRF4 (muscle-specific regulatory factor 4), são conhecidos fatores regulatórios miogênicos que codificam fatores de transcrição necessários para as células satélites proliferarem e se diferenciarem (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004; KUANG e RUDNICKI, 2008). Nenhum desses genes foi estatisticamente mais ou menos expresso para ambos os grupos do estudo (ver tabela 1). Os resultados de pesquisas similares, reunidas em revisão específica (FAVIER; BENOIT e FREYSSINET, 2008), sustentam nossos resultados. Entretanto, esses resultados podem ser diferentes para metodologias que buscam adaptações agudas aos exercícios de força, pois o tecido muscular ainda está em processo de ajuste à sobrecarga mecânica e está expressando com maior intensidade esses genes (FAVIER; BENOIT e FREYSSINET, 2008).

Outro fator importante a ser considerado na expressão gênica é o intervalo de tempo entre a última sessão de exercício e a coleta da amostra de tecido muscular, pois genes como Myod1 são muito expressos cerca de 6 – 12 horas após a última sessão de exercício (HAWKE e GARRY, 2001; CHARGE e RUDNICKI, 2004). Em nosso estudo, estabelecemos esse intervalo em 48 horas para minimizar ao máximo o efeito da última sessão de treinamento sobre a expressão gênica e, dessa forma, identificarmos apenas a adaptação crônica ao exercício. Isso permitiu entender as diferenças, mesmo que não significativas estatisticamente, no perfil de expressão gênica entre os grupos (ver inversões dos padrões percentuais de expressão na tabela 1).

O gene mTOR codifica uma importante proteína da família da enzima fosfatidilinositol quinase, regulando positivamente o crescimento muscular por aumentar a síntese protéica e o metabolismo de nutrientes nesse tecido (COFFEY e HAWLEY, 2007). Nossos resultados indicaram um aumento significativo na expressão desse gene no grupo GTL comparado à linha de base do estudo ($p=0,003$), bem como na comparação do ganhos

percentuais entre os grupos ($p=0,015$) (ver tabela 1). A maior expressão do gene mTOR no grupo GTL apóia o resultado encontrado referente à perimetria desse grupo. Apesar de a imagem por ressonância magnética ser o método mais utilizado e confiável para se quantificar a hipertrofia muscular (FOLLAND e WILLIAMS, 2007; WERNBOM; AUGUSTSSON e THOMEE, 2007), a perimetria associada à maior expressão gênica de mTOR, sugere que adaptações mais intensas de síntese protéica possam ocorrer em sujeitos treinados e fotoestimulados pela LTBI, corroborando os resultados obtidos por estudo prévio com animais de experimentação (SHEFER et al., 2003). No estudo, Shefer et al. (2003) demonstraram que a LTBI altera a fosforilação de *upstreams* da mTOR na via de síntese protéica, como PI3K (phosphoinositide-3-kinase), e *downstreamns* como PHAS-I (phosphorylated heat and acid stable protein regulated by insulin 1) que conduzem à síntese protéica.

Contrariamente ao processo de síntese protéica, a degradação muscular ocorre freqüentemente por falta do estímulo de sobrecarga, desnervação ou por qualquer outra doença que acometa o sistema muscular e o conduza ao quadro de atrofia (COFFEY e HAWLEY, 2007; FAVIER; BENOIT e FREYSSNET, 2008). O gene MuRF1 (muscle-specific RING finger protein 1) é um representante importante da via de atrofia muscular e o gene Miostatina (GDF8 – growth differentiation factor 8) regula negativamente a hipertrofia por inibição da ativação, proliferação e diferenciação das células satélites (COFFEY e HAWLEY, 2007; FAVIER; BENOIT e FREYSSNET, 2008). Nesse estudo, esses genes foram sub-expressos em ambos os grupos, mas apenas o gene MuRF1 foi significativamente sub-expresso no grupo GTL após o treinamento ($p=0,016$), e também quando comparado percentualmente ao grupo GT ($p=0,047$). A diminuição da expressão de MuRF1 nesse estudo complementa os resultados de Nakano et al. (2009) que observaram preservação do diâmetro muscular de ratos sob processo de atrofia muscular quando fotoestimulados por LTBI.

Apesar do programa de treinamento de força empregado no estudo ser caracteristicamente anaeróbio, os genes relacionados às mitocôndrias celulares como PPARGC1- α (peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, alpha) e CKmit (creatine kinase mitochondrial), foram super-expressos no grupo GTL (ver tabela 1). Essa super-expressão evidencia os resultados de muitos estudos prévios que mostraram modulações estruturais e enzimáticas das mitocôndrias irradiadas por LTBI (BAKEEVA et al., 1993; MANTEIFEL e KARU, 2005; KARU, 2008). O efeito dessa modulação é a maior síntese de ATP via mitocondrial, disponibilizando maior energia para diversos processos metabólicos, como o de regeneração muscular (SILVEIRA et al., 2009). Além disso, a maior expressão desses genes mitocondriais a partir do treinamento anaeróbio combinado à LTBI sugere a integração dos metabolismos aeróbio e anaeróbio proposto por Tonkongi e Sahlin (2002). Essa integração refere-se ao sistema de lançadeiras de fosfocreatina que utiliza o ATP produzido pela fosforilação oxidativa para o processo de re-síntese de fosfocreatina (TONKONOJI e SAHLIN, 2002) (Figura 2B).

O sistema de lançadeiras de creatina capta a adenosina di-fosfato (ADP) e fósforo inorgânico (Pi) resultantes da utilização do ATP na contração muscular e os transporta até a matriz mitocondrial, passando pela membrana interna dessa organela por meio da translocase de nucleotídeos de adenina. O ATP produzido pela fosforilação oxidativa faz o mesmo caminho, porém no sentido contrário, fornecendo energia para a reação de re-síntese de fosfocreatina próxima ao músculo sob atividade, sendo essa reação catalisada pela creatina quinase muscular. Concomitantemente a esse processo, a utilização da energia da fosfocreatina para re-sintetizar o ATP muscular gera creatina, ADP e também Pi. Enquanto o ADP e Pi seguem o caminho já descrito anteriormente, a creatina é transportada até o espaço intermembranas da mitocôndria muscular e, então, a creatina quinase mitocondrial catalisa a reação de re-síntese de fosfocreatina, utilizando também o ATP produzido pela fosforilação

oxidativa. Por fim, a fosfocreatina é transportada para o sítio de contração muscular e fornece a energia necessária para que se continue a atividade contrátil por aumentar a razão ATP/ADP (TONKONOOGI e SAHLIN, 2002). Dessa forma, considerando também as diferenças na expressão gênica relativa à biogênese mitocondrial (PPARGC1- α) e sua maquinaria enzimática (CKmit) entre os grupos GTL e GT, esse mecanismo pode ser um dos fatores responsáveis pelo melhor desempenho muscular dos sujeitos do grupo GTL durante o treinamento de força e nos testes de 1RMleg.

Os resultados desse estudo podem ter um grande impacto no âmbito esportivo e de reabilitação, mas é necessária cautela quanto à sua generalização. Acreditamos que mais estudos envolvendo a expressão gênica global de humanos precisam ser conduzidos para se compreender melhor os efeitos da LTBI sobre a regeneração e o desempenho muscular.

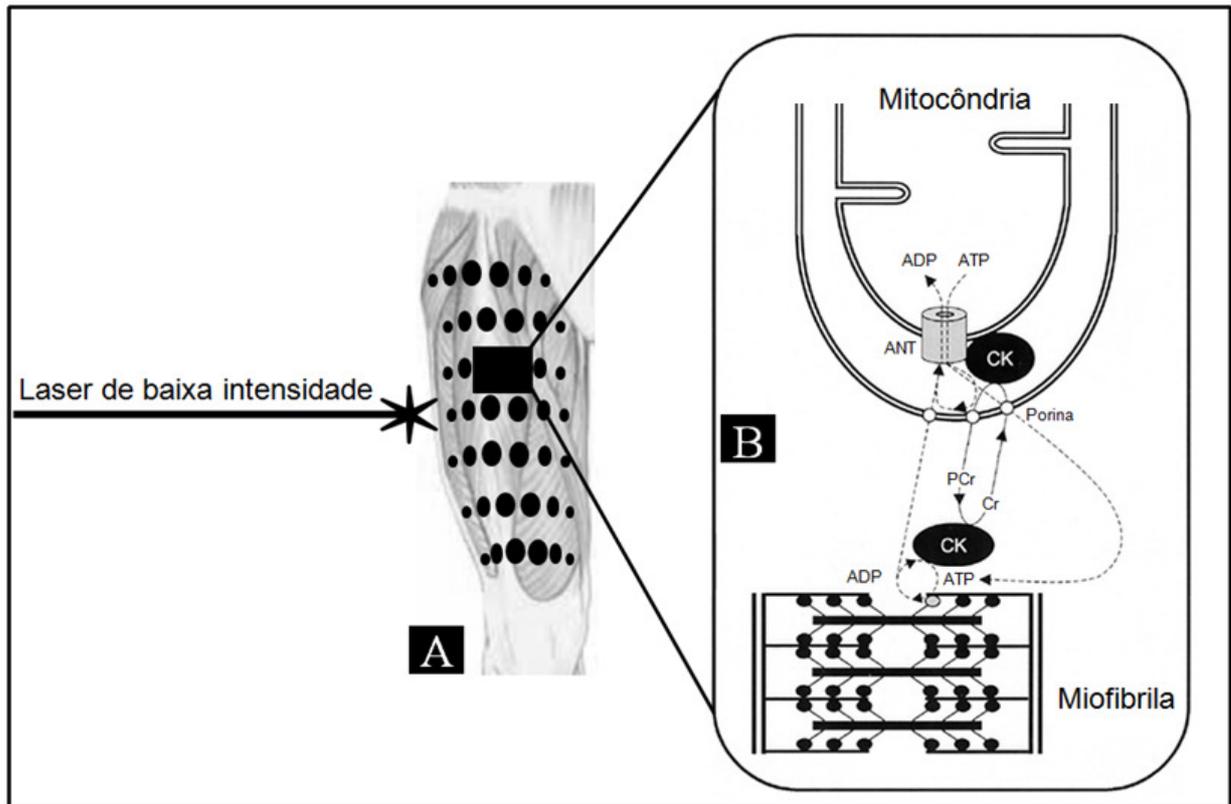


Figura 2 – A) Pontos de aplicação do laser de baixa intensidade sobre o músculo quadríceps femoral. B) Mecanismo das lançadeiras de creatina mitocondrial. Nesse mecanismo, a creatina (Cr) é transportada do local de sua utilização (miofibrilas) para a mitocôndria, onde a fosfocreatina (PCr) é transportada no sentido contrário. Em razão da presença da creatina quinase mitocondrial (CKmit) na porção interna da membrana mitocondrial, a Cr reage com o ATP (adenosina tri-fosfato) produzido na fosforilação oxidativa que re-sintetiza a PCr, aumentando a concentração de ADP (adenosina di-fosfato) e, por sua vez, estimula a respiração. No entanto, PCr diminui a concentração de ADP e a respiração. Sigla: ANT (adenine nucleotide translocase) (modificado de Tonkonogi & Sahlin, 2002).

5 – CONCLUSÃO

Concluimos que a LTBI aplicada após cada sessão de um programa crônico de treinamento físico de força pode aumentar a expressão de genes que sugerem maior síntese protéica, melhora do desempenho muscular e diminuição do processo de atrofia muscular. Esses resultados também sugerem que a LTBI aplicada após o treinamento de força pode auxiliar no melhor condicionamento de atletas, desportistas e na reabilitação de pacientes com atrofia muscular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos voluntários da pesquisa; aos Departamentos de Fisioterapia e Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos e à Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto pela ajuda prestada para a realização do estudo. Os agradecimentos também vão para o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Óptica e Fotônica pelo financiamento parcial da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAGAARD, P. Making muscles "stronger": exercise, nutrition, drugs. **J Musculoskeletal Neuronal Interact** [S.I.], v. 4, n. 2, p. 165-74, Jun 2004.
- ARCE, A. S. D.; S´ANCHEZ, J. C.; CAMACHO, F. J. F.; ARRIBA, C. C. D.; PELLICO, L. G. O. Isokinetic evaluation of the healthy knee: position of the joint at the peak torque. **Isokinetics and Exercise Science** [S.I.], v. 9, p. 151-154, 2001.
- AUGUSTSSON, J.; ESKO, A.; THOMEE, R.; SVANTESSON, U. Weight training of the thigh muscles using closed vs. open kinetic chain exercises: a comparison of performance enhancement. **J Orthop Sports Phys Ther** [S.I.], v. 27, n. 1, p. 3-8, Jan 1998.
- BAKEEVA, L. E.; MANTEIFEL, V. M.; RODICHEV, E. B.; KARU, T. I. [Formation of gigantic mitochondria in human blood lymphocytes under the effect of an He-Ne laser]. **Mol Biol (Mosk)** [S.I.], v. 27, n. 3, p. 608-17, May-Jun 1993.
- BALDON RDE, M.; NAKAGAWA, T. H.; MUNIZ, T. B.; AMORIM, C. F.; MACIEL, C. D.; SERRAO, F. V. Eccentric hip muscle function in females with and without patellofemoral pain syndrome. **J Athl Train** [S.I.], v. 44, n. 5, p. 490-6, Sep-Oct 2009.
- BAXTER, G. *Therapeutic lasers: theory and practice*. Churchill Livingstone. ed., 1997.
- BEN-DOV, N.; SHEFER, G.; IRINTCHEV, A.; WERNIG, A.; ORON, U.; HALEVY, O. Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. **Biochim Biophys Acta** [S.I.], v. 1448, n. 3, p. 372-80, Jan 11 1999.
- BIBIKOVA, A.; ORON, U. Attenuation of the process of muscle regeneration in the toad gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. **Lasers Surg Med** [S.I.], v. 14, n. 4, p. 355-61, 1994.
- BROOKS, G. A.; DUBOCHAUD, H.; BROWN, M.; SICURELLO, J. P.; BUTZ, C. E. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. **Proc Natl Acad Sci U S A** [S.I.], v. 96, n. 3, p. 1129-34, Feb 2 1999.
- BROWNSTEIN, B.; LAMB, R. E.; MANGINE, R. E. Quadriceps torque and integrated electromyography*. **J Orthop Sports Phys Ther** [S.I.], v. 6, n. 6, p. 309-14, 1985.
- CASPERSEN, C. J.; PEREIRA, M. A.; CURRAN, K. M. Changes in physical activity patterns in the United States, by sex and cross-sectional age. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 32, n. 9, p. 1601-9, Sep 2000.
- CHARGE, S. B.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiol Rev** [S.I.], v. 84, n. 1, p. 209-38, Jan 2004.
- COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports Med** [S.I.], v. 37, n. 9, p. 737-63, 2007.

DAWN T. GULICK, J.; CHIAPPA, R. J.; KEVIN R. CROWLEY, M. E. S.; WESCOTT, S. R. Predicting 1-RM isotonic knee extension strength utilizing isokinetic dynamometry. **Isokinetics and Exercise Science** [S.I.], v. 7, p. 145-149, 1998/1999.

ENWEMEKA, C. S. Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 27, n. 3, p. 387-93, Jun 2009.

ENWEMEKA, C. S.; PARKER, J. C.; DOWDY, D. S.; HARKNESS, E. E.; SANFORD, L. E.; WOODRUFF, L. D. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 22, n. 4, p. 323-9, Aug 2004.

ESCAMILLA, R. F.; FLEISIG, G. S.; ZHENG, N.; BARRENTINE, S. W.; WILK, K. E.; ANDREWS, J. R. Biomechanics of the knee during closed kinetic chain and open kinetic chain exercises. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 30, n. 4, p. 556-69, Apr 1998.

ESCAMILLA, R. F.; FLEISIG, G. S.; ZHENG, N.; LANDER, J. E.; BARRENTINE, S. W.; ANDREWS, J. R.; BERGEMANN, B. W.; MOORMAN, C. T., 3RD. Effects of technique variations on knee biomechanics during the squat and leg press. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 33, n. 9, p. 1552-66, Sep 2001.

FAVIER, F. B.; BENOIT, H.; FREYSSENET, D. Cellular and molecular events controlling skeletal muscle mass in response to altered use. **Pflugers Arch** [S.I.], v. 456, n. 3, p. 587-600, Jun 2008.

FIELD, A. P. *Discovering statistics using SPSS: (and sex, drugs and rock 'n' roll)*. 2 ed. London: SAGE Publications, 2005.

FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A. G. The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Med** [S.I.], v. 37, n. 2, p. 145-68, 2007.

FRY, A. C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. **Sports Med** [S.I.], v. 34, n. 10, p. 663-79, 2004.

FULOP, A. M.; DHIMMER, S.; DELUCA, J. R.; JOHANSON, D. D.; LENZ, R. V.; PATEL, K. B.; DOURIS, P. C.; ENWEMEKA, C. S. A meta-analysis of the efficacy of phototherapy in tissue repair. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 27, n. 5, p. 695-702, Oct 2009.

GARRETT, W. E., JR.; CALIFF, J. C.; BASSETT, F. H., 3RD. Histochemical correlates of hamstring injuries. **Am J Sports Med** [S.I.], v. 12, n. 2, p. 98-103, Mar-Apr 1984.

GLOWACKI, S. P.; MARTIN, S. E.; MAURER, A.; BAEK, W.; GREEN, J. S.; CROUSE, S. F. Effects of resistance, endurance, and concurrent exercise on training outcomes in men. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 36, n. 12, p. 2119-27, Dec 2004.

GOREHAM, C.; GREEN, H. J.; BALL-BURNETT, M.; RANNEY, D. High-resistance training and muscle metabolism during prolonged exercise. **Am J Physiol** [S.I.], v. 276, n. 3 Pt 1, p. E489-96, Mar 1999.

GORGEY, A. S.; WADEE, A. N.; SOBHI, N. N. The effect of low-level laser therapy on electrically induced muscle fatigue: a pilot study. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 26, n. 5, p. 501-6, Oct 2008.

HARRIDGE, S. D. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. **Exp Physiol** [S.I.], v. 92, n. 5, p. 783-97, Sep 2007.

HARRIS, N.; CRONIN, J.; KEOGH, J. Contraction force specificity and its relationship to functional performance. **J Sports Sci** [S.I.], v. 25, n. 2, p. 201-12, Jan 15 2007.

HASHIMOTO, T.; HUSSIEN, R.; BROOKS, G. A. Colocalization of MCT1, CD147, and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 muscle cells: evidence of a mitochondrial lactate oxidation complex. **Am J Physiol Endocrinol Metab** [S.I.], v. 290, n. 6, p. E1237-44, Jun 2006.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol** [S.I.], v. 91, n. 2, p. 534-51, Aug 2001.

HAWLEY, J. A. Molecular responses to strength and endurance training: are they incompatible? **Appl Physiol Nutr Metab** [S.I.], v. 34, n. 3, p. 355-61, Jun 2009.

HODSON-TOLE, E. F.; WAKELING, J. M. Motor unit recruitment for dynamic tasks: current understanding and future directions. **J Comp Physiol B** [S.I.], v. 179, n. 1, p. 57-66, Jan 2009.

HOFFMAN, J. R.; KRAEMER, W. J.; BHASIN, S.; STORER, T.; RATAMESS, N. A.; HAFF, G. G.; WILLOUGHBY, D. S.; ROGOL, A. D. Position stand on androgen and human growth hormone use. **J Strength Cond Res** [S.I.], v. 23, n. 5 Suppl, p. S1-S59, Aug 2009.

HOLTERMAN, C. E.; RUDNICKI, M. A. Molecular regulation of satellite cell function. **Semin Cell Dev Biol** [S.I.], v. 16, n. 4-5, p. 575-84, Aug-Oct 2005.

IRVING, B. A.; RUTKOWSKI, J.; BROCK, D. W.; DAVIS, C. K.; BARRETT, E. J.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Comparison of Borg- and OMNI-RPE as markers of the blood lactate response to exercise. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 38, n. 7, p. 1348-52, Jul 2006.

JACOBS, C. A.; UHL, T. L.; MATTACOLA, C. G.; SHAPIRO, R.; RAYENS, W. S. Hip abductor function and lower extremity landing kinematics: sex differences. **J Athl Train** [S.I.], v. 42, n. 1, p. 76-83, Jan-Mar 2007.

KADI, F.; CHARIFI, N.; DENIS, C.; LEXELL, J.; ANDERSEN, J. L.; SCHJERLING, P.; OLSEN, S.; KJAER, M. The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? **Pflugers Arch** [S.I.], v. 451, n. 2, p. 319-27, Nov 2005.

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J Photochem Photobiol B** [S.I.], v. 49, n. 1, p. 1-17, Mar 1999.

KARU, T. I. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. **Photochem Photobiol** [S.I.], v. 84, n. 5, p. 1091-9, Sep-Oct 2008.

KARU, T. I.; PYATIBRAT, L. V.; AFANASYEVA, N. I. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. **Photochem Photobiol** [S.I.], v. 80, n. 2, p. 366-72, Sep-Oct 2004.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. *Eletroterapia de Clayton*. São Paulo: Manole, 1996.

KUANG, S.; RUDNICKI, M. A. The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. **Trends Mol Med** [S.I.], v. 14, n. 2, p. 82-91, Feb 2008.

LANGFORD, G. A.; MCCURDY, K. W.; ERNEST, J. M.; DOSCHER, M. W.; WALTERS, S. D. Specificity of machine, barbell, and water-filled log bench press resistance training on measures of strength. **J Strength Cond Res** [S.I.], v. 21, n. 4, p. 1061-6, Nov 2007.

LEAL JUNIOR, E. C.; LOPES-MARTINS, R. A.; BARONI, B. M.; DE MARCHI, T.; ROSSI, R. P.; GROSSELLI, D.; GENEROSI, R. A.; DE GODOI, V.; BASSO, M.; MANCALOSSO, J. L.; BJORDAL, J. M. Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 27, n. 4, p. 617-23, Aug 2009a.

LEAL JUNIOR, E. C.; LOPES-MARTINS, R. A.; BARONI, B. M.; DE MARCHI, T.; TAUFER, D.; MANFRO, D. S.; RECH, M.; DANNA, V.; GROSSELLI, D.; GENEROSI, R. A.; MARCOS, R. L.; RAMOS, L.; BJORDAL, J. M. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. **Lasers Med Sci** [S.I.], Dec 5 2008a.

LEAL JUNIOR, E. C.; LOPES-MARTINS, R. A.; BARONI, B. M.; DE MARCHI, T.; TAUFER, D.; MANFRO, D. S.; RECH, M.; DANNA, V.; GROSSELLI, D.; GENEROSI, R. A.; MARCOS, R. L.; RAMOS, L.; BJORDAL, J. M. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. **Lasers Med Sci** [S.I.], v. 24, n. 6, p. 857-63, Nov 2009b.

LEAL JUNIOR, E. C.; LOPES-MARTINS, R. A.; DALAN, F.; FERRARI, M.; SBABO, F. M.; GENEROSI, R. A.; BARONI, B. M.; PENNA, S. C.; IVERSEN, V. V.; BJORDAL, J. M. Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 26, n. 5, p. 419-24, Oct 2008b.

LEAL JUNIOR, E. C.; LOPES-MARTINS, R. A.; VANIN, A. A.; BARONI, B. M.; GROSSELLI, D.; DE MARCHI, T.; IVERSEN, V. V.; BJORDAL, J. M. Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. **Lasers Med Sci** [S.I.], v. 24, n. 3, p. 425-31, May 2009c.

LOPES-MARTINS, R. A.; MARCOS, R. L.; LEONARDO, P. S.; PRIANTI, A. C., JR.; MUSCARA, M. N.; AIMBIRE, F.; FRIGO, L.; IVERSEN, V. V.; BJORDAL, J. M. Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. **J Appl Physiol** [S.I.], v. 101, n. 1, p. 283-8, Jul 2006.

LOW, L.; REED, A. *Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática*. 3ª ed. ed. Barueri - São Paulo, 2001.

MANTEIFEL, V. M.; KARU, T. I. [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** [S.I.], n. 6, p. 672-83, Nov-Dec 2005.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **J Biophys Biochem Cytol** [S.I.], v. 9, p. 493-5, Feb 1961.

MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg Med** [S.I.], v. 5, n. 1, p. 31-9, 1985.

NAKAGAWA, T. H.; MUNIZ, T. B.; BALDON RDE, M.; DIAS MACIEL, C.; DE MENEZES REIFF, R. B.; SERRAO, F. V. The effect of additional strengthening of hip abductor and lateral rotator muscles in patellofemoral pain syndrome: a randomized controlled pilot study. **Clin Rehabil** [S.I.], v. 22, n. 12, p. 1051-60, Dec 2008.

NAKANO, J.; KATAOKA, H.; SAKAMOTO, J.; ORIGUCHI, T.; OKITA, M.; YOSHIMURA, T. Low-level laser irradiation promotes the recovery of atrophied gastrocnemius skeletal muscle in rats. **Exp Physiol** [S.I.], v. 94, n. 9, p. 1005-15, Sep 2009.

NARICI, M. V.; HOPPELER, H.; KAYSER, B.; LANDONI, L.; CLAASSEN, H.; GAVARDI, C.; CONTI, M.; CERRETELLI, P. Human quadriceps cross-sectional area, torque and neural activation during 6 months strength training. **Acta Physiol Scand** [S.I.], v. 157, n. 2, p. 175-86, Jun 1996.

PETRELLA, J. K.; KIM, J. S.; MAYHEW, D. L.; CROSS, J. M.; BAMMAN, M. M. Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **J Appl Physiol** [S.I.], v. 104, n. 6, p. 1736-42, Jun 2008.

PINCIVERO, D. M.; LEPHART, S. M.; KARUNAKARA, R. G. Relation between open and closed kinematic chain assessment of knee strength and functional performance. **Clin J Sport Med** [S.I.], v. 7, n. 1, p. 11-6, Jan 1997.

RATAMESS, N. A.; ALVAR, B. A.; KIBLER, W. B.; KRAEMER, W. J.; TRIPLETT, N. T. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 41, n. 3, p. 687-708, Mar 2009.

RODRIGUEZ, N. R.; DI MARCO, N. M.; LANGLEY, S. American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 41, n. 3, p. 709-31, Mar 2009.

ROTH, D.; ORON, U. Repair mechanisms involved in muscle regeneration following partial excision of the rat gastrocnemius muscle. **Exp Cell Biol** [S.I.], v. 53, n. 2, p. 107-14, 1985.

ROTH, S. M.; FERRELL, R. E.; PETERS, D. G.; METTER, E. J.; HURLEY, B. F.; ROGERS, M. A. Influence of age, sex, and strength training on human muscle gene expression determined by microarray. **Physiol Genomics** [S.I.], v. 10, n. 3, p. 181-90, Sep 3 2002.

SAHLIN, K.; MOGENSEN, M.; BAGGER, M.; FERNSTROM, M.; PEDERSEN, P. K. The potential for mitochondrial fat oxidation in human skeletal muscle influences whole body fat oxidation during low-intensity exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metab** [S.I.], v. 292, n. 1, p. E223-30, Jan 2007.

SCHILLING, B. K.; FRY, A. C.; CHIU, L. Z.; WEISS, L. W. Myosin heavy chain isoform expression and in vivo isometric performance: a regression model. **J Strength Cond Res** [S.I.], v. 19, n. 2, p. 270-5, May 2005.

SHEFER, G.; BARASH, I.; ORON, U.; HALEVY, O. Low-energy laser irradiation enhances de novo protein synthesis via its effects on translation-regulatory proteins in skeletal muscle myoblasts. **Biochim Biophys Acta** [S.I.], v. 1593, n. 2-3, p. 131-9, Feb 17 2003.

SHEFER, G.; PARTRIDGE, T. A.; HESLOP, L.; GROSS, J. G.; ORON, U.; HALEVY, O. Low-energy laser irradiation promotes the survival and cell cycle entry of skeletal muscle satellite cells. **J Cell Sci** [S.I.], v. 115, n. Pt 7, p. 1461-9, Apr 1 2002.

SILVEIRA, P. C.; SILVA, L. A.; FRAGA, D. B.; FREITAS, T. P.; STRECK, E. L.; PINHO, R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. **J Photochem Photobiol B** [S.I.], v. 95, n. 2, p. 89-92, May 4 2009.

STARON, R. S.; HAGERMAN, F. C.; HIKIDA, R. S.; MURRAY, T. F.; HOSTLER, D. P.; CRILL, M. T.; RAGG, K. E.; TOMA, K. Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. **J Histochem Cytochem** [S.I.], v. 48, n. 5, p. 623-9, May 2000.

STEINKAMP, L. A.; DILLINGHAM, M. F.; MARKEL, M. D.; HILL, J. A.; KAUFMAN, K. R. Biomechanical considerations in patellofemoral joint rehabilitation. **Am J Sports Med** [S.I.], v. 21, n. 3, p. 438-44, May-Jun 1993.

STENSDOTTER, A. K.; HODGES, P. W.; MELLOR, R.; SUNDELIN, G.; HAGER-ROSS, C. Quadriceps activation in closed and in open kinetic chain exercise. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 35, n. 12, p. 2043-7, Dec 2003.

STEPTO, N. K.; COFFEY, V. G.; CAREY, A. L.; PONNAMPALAM, A. P.; CANNY, B. J.; POWELL, D.; HAWLEY, J. A. Global gene expression in skeletal muscle from well-trained strength and endurance athletes. **Med Sci Sports Exerc** [S.I.], v. 41, n. 3, p. 546-65, Mar 2009.

STONE, M.; PLISK, S.; COLLINS, D. Training principles: evaluation of modes and methods of resistance training--a coaching perspective. **Sports Biomech** [S.I.], v. 1, n. 1, p. 79-103, Jan 2002.

SUSSAI, D. A.; CARVALHO PDE, T.; DOURADO, D. M.; BELCHIOR, A. C.; DOS REIS, F. A.; PEREIRA, D. M. Low-level laser therapy attenuates creatine kinase levels and apoptosis during forced swimming in rats. **Lasers Med Sci** [S.I.], v. 25, n. 1, p. 115-20, Jan 2010.

TAGESSON, S.; OBERG, B.; GOOD, L.; KVIST, J. A comprehensive rehabilitation program with quadriceps strengthening in closed versus open kinetic chain exercise in patients with anterior cruciate ligament deficiency: a randomized clinical trial evaluating dynamic tibial translation and muscle function. **Am J Sports Med** [S.I.], v. 36, n. 2, p. 298-307, Feb 2008.

TONKONOGLI, M.; SAHLIN, K. Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. **Exerc Sport Sci Rev** [S.I.], v. 30, n. 3, p. 129-37, Jul 2002.

TONKONOGLI, M.; WALSH, B.; SVENSSON, M.; SAHLIN, K. Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. **J Physiol** [S.I.], v. 528 Pt 2, p. 379-88, Oct 15 2000.

TUNER, J.; HODE, L. *Low level laser therapy. Clinical practice and scientific background.* Sweden: Prima Books, 1999.

VERDIJK, L. B.; VAN LOON, L.; MEIJER, K.; SAVELBERG, H. H. One-repetition maximum strength test represents a valid means to assess leg strength in vivo in humans. **J Sports Sci** [S.I.], v. 27, n. 1, p. 59-68, Jan 1 2009.

VIEIRA, W. **Efeitos do Laser de Baixa Intensidade em 780nm sobre a performance muscular aeróbia de ratos em treinamento físico em esteira.** (2005). Dissertação - Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, São Carlos, 2005.

VIEIRA, W. **Efeitos do laser de baixa intensidade sobre a performance aeróbia de mulheres jovens sob treinamento físico.** (2008). Doutorado - Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, Brasil., 2008.

VIEIRA, W.; GOES, R.; COSTA, F.; PARIZOTTO, N.; PEREZ, S.; BALDISSERA, V.; MUNIN, F.; SCHWANTES, M. Adaptação enzimática da LDH em ratos submetidos a treinamento aeróbio em esteira e laser de baixa intensidade. **Revista Brasileira de Fisioterapia** [S.I.], v. Vol. 10, p. 205-211, 2006.

VIEIRA, W. H. D. B.; FERRARESI, C.; FREITAS, E. G. D.; PEREZ, S. E. D. A.; BALDISSERA, V.; PARIZOTTO, N. A. Efeitos do laser de baixa intensidade sobre a capacidade aeróbia de mulheres submetidas ao treinamento aeróbio. **Fisioterapia Especialidades** [S.I.], v. 1, n. 2, p. 20-5, 2008.

VIERCK, J.; O'REILLY, B.; HOSSNER, K.; ANTONIO, J.; BYRNE, K.; BUCCI, L.; DODSON, M. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. **Cell Biol Int** [S.I.], v. 24, n. 5, p. 263-72, 2000.

VLADIMIROV, Y. A.; OSIPOV, A. N.; KLEBANOV, G. I. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. **Biochemistry (Mosc)** [S.I.], v. 69, n. 1, p. 81-90, Jan 2004.

WAWRZYNIAK, J. R.; TRACY, J. E.; CATIZONE, P. V.; STORROW, R. R. Effect of Closed Chain Exercise on Quadriceps Femoris Peak Torque and Functional Performance. **J Athl Train** [S.I.], v. 31, n. 4, p. 335-340, Oct 1996.

WEBER, J.; LAMB, D. *Statistics and research in physical education*. Saint Louis: C. V. Mosby Co., 1970.

WEISS, N.; ORON, U. Enhancement of muscle regeneration in the rat gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. **Anat Embryol (Berl)** [S.I.], v. 186, n. 5, p. 497-503, Oct 1992.

WERNBOM, M.; AUGUSTSSON, J.; THOME, R. The influence of frequency, intensity, volume and mode of strength training on whole muscle cross-sectional area in humans. **Sports Med** [S.I.], v. 37, n. 3, p. 225-64, 2007.

WILBORN, C. D.; TAYLOR, L. W.; GREENWOOD, M.; KREIDER, R. B.; WILLOUGHBY, D. S. Effects of different intensities of resistance exercise on regulators of myogenesis. **J Strength Cond Res** [S.I.], v. 23, n. 8, p. 2179-87, Nov 2009.

WILDEN, L.; KARTHEIN, R. Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. **J Clin Laser Med Surg** [S.I.], v. 16, n. 3, p. 159-65, Jun 1998.

WOODRUFF, L. D.; BOUNKEO, J. M.; BRANNON, W. M.; DAWES, K. S.; BARHAM, C. D.; WADDELL, D. L.; ENWEMEKA, C. S. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. **Photomed Laser Surg** [S.I.], v. 22, n. 3, p. 241-7, Jun 2004.

ZHANG, Y.; SONG, S.; FONG, C. C.; TSANG, C. H.; YANG, Z.; YANG, M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. **J Invest Dermatol** [S.I.], v. 120, n. 5, p. 849-57, May 2003.

APÊNDICE A



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA**

Via Washington Luiz, Km 235 - C.P.676 - 13565-905 -
São Carlos/SP - Brasil
TEL: (16) 3351-8630

E-mail: parizoto@ufscar.br
euclimj@power.ufscar.br

Ficha de Avaliação Física:

Data da avaliação: ___/___/___ Examinador: _____

- Nome: _____
- Data de nascimento: ___/___/___ Telefone: _____
- Idade: _____ Peso: _____ kg altura: _____ m IMC: _____

Bioimpedância: _____

- Atividade física: () N () S Frequência/Tempo: _____
- Possui frequência diária em alguma forma de treinamento () N () S
- Hábitos alimentares (dieta): número de refeições diárias__vegetariano?()N ()S
- Faz uso de algum medicamento? () N ()S Qual? _____
- Possui história de lesão ou trauma nos membros inferiores? () N () S Qual?

- Realizou alguma cirurgia prévia nos membros inferiores? () N () S
Onde: _____
- Possui dor em alguma articulação do membro inferior ou em alguma outra parte do corpo? () N () S Local: _____
- Realizou fisioterapia prévia em alguma região dos membros inferiores nos últimos 6 meses?()N () S Local: _____
- Presença de doença cardiovascular, respiratória ou metabólica? () N () S
Qual? _____

- Perimetria do quadríceps D: _____ cm D: _____ cm
E: _____ cm E: _____ cm
(inicial) (final)
- Dominância: () D () E
- Teste de Thomas: positivo () negativo () Sinal do J: () N () S
Encurtamento Isquiotibiais () N () S
- Postura Corporal: Hiperlordose lombar () N () S Retificação lombar () N () S
Escoliose () N () S

APÊNDICE B

Esse apêndice traz o parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, referente ao projeto intitulado: EXPRESSÃO GÊNICA NO MÚSCULO EM TREINAMENTO DE FORÇA FOTOESTIMULADO POR LASER.

É válido ressaltar que este parecer, referente ao título acima citado, trata-se do mesmo projeto que originou a presente dissertação de mestrado intitulada: DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DO MÚSCULOESQUELÉTICO HUMANO SOB TREINAMENTO FÍSICO DE FORÇA E FOTOESTIMULADO POR LASER DE BAIXA INTENSIDADE. Dessa forma, esse parecer foi utilizado nos três estudos que compõem essa dissertação.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos**

Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676

Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110

Fax: (016) 3361.3176

CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil

propp@power.ufscar.br - <http://www.propp.ufscar.br/>

CAAE 0072.0.135.000-08

Título do Projeto: EXPRESSÃO GÊNICA NO MÚSCULO EM TREINAMENTO DE FORÇA FOTOESTIMULADO POR LASER

Classificação: Grupo II

Pesquisadores (as): Cleber Ferraresi, Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto (orientador)

Parecer Nº. 342/2008

1. Normas a serem seguidas

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.2), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e).
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em ___/___/___ e ao término do estudo.

2. Avaliação do projeto

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP/UFSCar) analisou o projeto de pesquisa acima identificado e considerando os pareceres do relator e do revisor DELIBEROU:

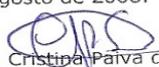
As pendências apontadas no Parecer nº. 285/2008, de 4 de julho, foram satisfatoriamente resolvidas.

O projeto atende as exigências contidas na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde.

3. Conclusão:

Projeto aprovado

São Carlos, 20 de agosto de 2008.


Prof. Dra. Cristina Paiva de Sousa
Coordenadora do CEP/UFSCar

APÊNDICE C

O termo de Consentimento Livre e Esclarecido referente ao projeto intitulado: EXPRESSÃO GÊNICA NO MÚSCULO EM TREINAMENTO DE FORÇA FOTOESTIMULADO POR LASER trata-se do mesmo projeto que originou a presente dissertação de mestrado intitulada: DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DO MÚSCULOESQUELÉTICO HUMANO SOB TREINAMENTO FÍSICO DE FORÇA E FOTOESTIMULADO POR LASER DE BAIXA INTENSIDADE. Dessa forma, esse termo foi utilizado para os três estudos que compõem essa dissertação.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA**

Via Washington Luiz, Km 235 - C.P.676 - 13565-905 -
São Carlos/SP - Brasil
TEL: (16) 3351-8630

E-mail: parizoto@ufscar.br
euclimj@power.ufscar.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de autorização para aplicação do Laser de Baixa Intensidade

**NOME DO PROJETO: EXPRESSÃO GÊNICA NO MÚSCULO EM
TREINAMENTO DE FORÇA FOTOESTIMULADO POR LASER.**

**RESPONSÁVEIS: Professor Doutor Nivaldo Antonio Parizotto
Professor Doutor Euclides Matheucci Jr.
Fisioterapeuta Cleber Ferraresi**

ORIENTANDO: Cleber Ferraresi

Você está sendo convidado a participar de um trabalho de pesquisa que será desenvolvido nos Laboratórios de Avaliação Isocinética, de Eletrotermofototerapia, de Fisiologia do Exercício pertencentes, respectivamente, aos Departamentos de Fisioterapia e Ciências fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar; e clínica ortopédica Santa Mônica, cujos detalhes seguem abaixo. É válido ressaltar que esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (parecer 342/2008) da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

Um dos objetivos deste trabalho é verificar as adaptações musculares (torque, trabalho e potência) ao treinamento físico de *força* em homens jovens saudáveis submetidos a fotoestimulação por laser de baixa intensidade. Não há provas ainda da efetividade do laser sobre a *performance* muscular em humanos, mas há confirmação deste aspecto em animais de experimentação, cujos experimentos foram realizados no Laboratório de Eletrotermofototerapia (deste grupo de pesquisa) com rigor científico. O laser é uma terapia relativamente nova que tem mostrado uma grande efetividade nos estudos “*in vitro*” e estudos com animais de experimentação, porém demanda ainda estudos clínicos controlados, utilizando doses adequadas dessa forma de tratamento. Este estudo pretende ser clínico controlado e aleatório.

PROCEDIMENTO A QUE VOCÊ SERÁ SUBMETIDO

Você será submetido a uma pesquisa que possui três grupos diferentes: no primeiro grupo estarão os indivíduos que serão submetidos a um treinamento físico de *força* muscular durante 24 sessões, 2 vezes por semana em um leg press com inclinação de 45°. O segundo grupo, os indivíduos serão submetidos ao mesmo protocolo de treinamento físico de leg pres e associado à aplicação de laser de baixa intensidade imediatamente após cada sessão sobre o músculo quadríceps femoral (coxa). E o terceiro grupo não sofrerá qualquer intervenção,

servindo apenas de controle. Você será sorteado e poderá participar de qualquer um destes grupos.

Todos os indivíduos serão submetidos a um teste de carga máxima de 1RM que serve para determinar a força máxima muscular que o indivíduo pode exercer frente ao exercício anaeróbio (capacidade anaeróbia) no aparelho de musculação leg press 45°. Esse teste só serve quando há um esforço máximo, ou seja, o Sr. só deixará de realizar o movimento de empurrar o aparelho com os membros inferiores quando não houver mais fôlego, força nas pernas ou uma eventual dor que o limite de realizar o movimento.

Outro teste que será realizado é o de movimentos de esticar e dobrar o joelho em um aparelho isocinético. Este se refere a movimentos dos membros com velocidade constante (dada pelo aparelho), também sem maiores riscos.

Outro procedimento será a biópsia muscular do quadríceps femoral (músculo da coxa) para posterior análise da expressão gênica (DNA). Esse procedimento será realizado pelo médico ortopedista Dr. Rodrigo Bezerra de Menezes Reiff na clínica ortopédica Santa Mônica, que situa-se na rua XV de Novembro, 1032, Centro, São Carlos, SP.

Procedimentos de segurança

Todos os indivíduos do grupo 2 usarão óculos especiais cuja função é filtrar a radiação e evitar que se lesione os olhos do voluntário e do pesquisador.

Duração da intervenção terapêutica:

Durará 12 semanas, sendo duas vezes por semana, totalizando 24 sessões para cada um dos indivíduos treinados.

Dados e registros a serem obtidos:

Avaliação isocinética, a partir da qual se obtém as medidas de força muscular, potência e trabalho.

Perimetria: avaliará por meio de fita métrica, a circunferência da coxa.

Teste de carga máxima de 1RM, para determinar força e cargas para posterior ajuste da carga de treino no aparelho de musculação leg press 45°.

Bioimpedância: obtenção de dados referentes à massa corporal, IMC (índice de massa corpórea) e a composição corporal (porcentagem de gordura e de massa magra).

RISCOS

Os testes com o equipamento isocinético apresentam um risco mínimo, como uma leve dor nos músculos da coxa durante ou logo após a sessão de testes, sendo de caráter transitório. Apenas um leve repouso sem medicação é suficiente para saná-la. Caso haja alguma lesão, ela se caracteriza por ser leve e ter recuperação em poucos dias, sem necessidade de medicação. Mas caso haja necessidade de medicação, essa despesa será por conta do pesquisador. Quanto ao laser, não há registros na literatura médica de problemas relativos à sua aplicação em seres humanos, pois as doses utilizadas nesse trabalho estão de acordo a mesma. Com relação ao teste de carga máxima de 1RM, pode causar dores nos membros inferiores no dia seguinte, mas de caráter leve, assim como a possível dor causada pelo teste do aparelho isocinético, que é de fácil recuperação e sem a necessidade de medicação, pois todos os testes serão realizados respeitando sempre o limite de resistência de cada indivíduo. A biópsia muscular apesar de ser invasiva (por meio de pequena incisão de 0,5 cm no músculo da coxa para a entrada de uma agulha especial e retirada do material muscular) não oferece maiores riscos, tendo em vista a facilidade e rapidez em sua captação pelo médico ortopedista Dr. Rodrigo Bezerra de Menezes Reiff, além da participação e suporte de profissionais especializados de sua equipe para tal tarefa realizada na clínica ortopédica Santa Mônica. Após realizada a biópsia, o

voluntário será orientado a não realizar atividade física intensa com os membros inferiores e a manter o curativo conforme a prescrição médica.

BENEFÍCIOS ESPERADOS

A você, o benefício direto poderá ser a melhoria da sua capacidade anaeróbia de força muscular: aumento do tamanho dos músculos da coxa, melhora no desempenho físico dos membros inferiores para todas as atividades de vida diária. Os resultados deste trabalho trarão informações importantes para se utilizar este método terapêutico em seres humanos, para aplicação na melhoria da performance muscular (reabilitação, esportes, entre outros).

OUTRAS INFORMAÇÕES

1 – Você tem a garantia de receber qualquer informação adicional ou esclarecimentos que julgar necessários, a qualquer tempo do estudo;

2 – A sua recusa em participar do estudo não lhe trará qualquer prejuízo no tratamento;

3 – Você estará livre para deixar o estudo a qualquer momento, mesmo que você tenha consentido em participar do mesmo inicialmente.

4 – As informações obtidas pelo estudo serão estritamente confidenciais, estando garantidos o seu anonimato e privacidade na apresentação e/ou divulgação dos resultados.

5 – Não haverá compensações financeiras, nem também qualquer tipo de custo adicional para você, sendo sua participação neste estudo absolutamente livre e voluntária.

Tendo lido, compreendido e estando suficientemente esclarecido sobre os propósitos do estudo a que fui convidado a participar, Eu _____, idade _____ anos, RG _____ endereço _____, cidade _____, concordo com o presente termo de consentimento pós-informação, datando e assinando abaixo.

São Carlos, _____ de _____ de 2009.

Assinatura do voluntário ou responsável

Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto –

CREFITO: 1400-F

FONE (016) 3374-2484

Fisioterapeuta Cleber Ferraresi –

CREFITO: 30222- LTF

FONE (019) 9733-4294

Professor Dr. Euclides Matheucci Júnior

FONE: (16) 8113-4733

APÊNDICE D

LASERS IN MEDICAL SCIENCE Editorial Manager
 HOME • LOG OUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
 MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS
 Role: Author Username: cleber.ferraresi@gmail.com

Submissions Being Processed for Author Cleber Ferraresi, Ms
 Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links		Effects of Low Level Laser Therapy (808nm) on Physical Strength Training in Humans: a Physiological approach	Aug 03, 2010	Aug 03, 2010	Submitted

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

<< Author Main Menu

Effects of Low Level Laser Therapy (808nm) on Physical Strength Training in Humans: a Physiological approach

Cleber Ferraresi, Ms^{1,2*}, Taysa de Brito Oliveira, PT¹, Leonardo de Oliveira Zafalon, PT¹, Rodrigo Bezerra de Menezes Reiff, Ms³, Vilmar Baldissera, PhD⁴, Sérgio Eduardo de Andrade Perez, PhD⁴, Euclides Matheucci Júnior, PhD² and Nivaldo Antônio Parizotto, PhD¹.

¹ Laboratory of Eletrothermophototherapy, Department of Physical Therapy, São Carlos Federal University, Rodovia Washington Luís, km 235, Postal Code: 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.

² Department of Biotechnology, São Carlos Federal University, Rodovia Washington Luís, km 235, Postal Code: 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.

³ Department of Orthopedics and Traumatology, University of São Paulo, Avenida Dr. Arnaldo, 455, Postal Code: 01246903, Cerqueira César, SP, Brazil.

⁴ Laboratory of Physiology of Exercise, Department of Physiological Sciences, São Carlos Federal University, Rodovia Washington Luís, km 235, Postal Code: 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.

*Correspondence to: Cleber Ferraresi, Laboratory of Eletrothermophototherapy, Department of Physical Therapy and Biotechnology, São Carlos Federal University, Rodovia Washington Luís, km 235, Postal Code: 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.

Email address: cleber.ferraresi@gmail.com

Telephone number: +55 (16) 3351-8985 / Fax number: +55 (16) 3351-8284

Abstract. Recent studies have investigated whether Low Level Laser Therapy (LLLT) can optimize human muscle performance in physical exercises. This study tested the efficacy of LLLT associated to physical strength training to increase muscle performance in humans, compared with strength training only. This study involved 36 male subjects (20.8±2.2 years old), clinically healthy, with a beginner and / or moderately physical activity training pattern. All subjects were randomly distributed into three groups: TLG (training associated with LLLT), TG (training) and CG (control). TG and TLG trained in leg press with a load equal 80% of 1 repetition maximum in the leg press (1RM_{leg}) during 12 consecutive weeks. The LLLT was applied on the quadriceps of both lower limbs of TLG subjects immediately after the end of each training session. An infrared laser device (808nm), with six diodes at 60mW each, was used to LLLT irradiation of 140 seconds and 50.4J total energy. The muscle strength performance was assessed in 1RM_{leg} and in the isokinetic dynamometer tests. The thigh volume muscle of dominant lower limb was assessed by thigh perimetry. An increase of 55% in 1RM_{leg} was achieved in the TLG group, which was statistically higher than the increase of 26% in the TG group ($P=0.033$) and 0.27% of the CG ($P<0.001$). The TLG was the only group to increase their muscle performance in isokinetic dynamometry compared with baseline. The 4.52% of increase in thigh perimetry of the TLG was statistically equal ($P=0.775$) to 2.75% increase of the TG. The strength training associated with LLLT can increase human muscle performance compared with strength training only.

Key words: Low level laser therapy (LLLT), High-intensity exercise, Isokinetic Dynamometer, Leg press, One-repetition maximum test.

Introduction

The strength training, mainly the high intensity exercises, has its energetic recruitment from anaerobic metabolism and is able to promote changes in the contractile characteristics of the muscle fibers from the transition among type I and type IIx to type IIa. An increase in the fibers recruitment, timing and firing frequency of motor units is also achieved with this kind of exercise [1,2]. In addition, when chronically practiced, strength training increases muscle cross-sectional area (hypertrophy), associated with a neural adaptation of muscle recruitment, in order to increase the muscle strength and performance [1,2].

In general, exercises can be carried out in two ways: closed kinetic chain (CKC) or open kinetic chain (OKC) [3,4]. CKC exercises involve multiple articulations and body weight or random loads are unloaded on the distal body segment that is fixed on the ground or another base, such as in squats or leg press exercises. OKC exercises generally produce movement in only one articulation, and have the workload fixed on the distal extremity of the body segment that is free to move, such as in knee extension fitness equipment [5].

The measurement of muscle performance in activities conducted in CKC and OKC, usually involve isotonic tests of one-repetition maximum (1RM) in leg press (1RMleg) (CKC) and isokinetic muscle performance in isokinetic dynamometry (MPID), especially in knee extension activity (OKC) [6,7]. These tests allow more complete evaluations and assists in directing of training programs [8].

The desire to increase and/or accelerate the gains in physical performance, such as muscle hypertrophy and enhance aerobic and anaerobic capacities, often leads athletes and sportsmen to improve their nutrition [9]. It also can be use androgenic substances that may pose risks to health [10]. In this context of the improvement human performance in exercises, the low level laser therapy (LLLT) has been tested in the physical activities, such as strength or resistance to fatigue [11,12].

LLLT is mainly used for local pain control and tissue repair [13,14]. It interacts with the cellular mitochondria, promoting structural (appearance of giant mitochondria) and metabolic changes (increased oxidative enzyme activity), increasing the energy synthesis (adenosine triphosphate - ATP) for metabolic processes [15,16]. Thus, the few and recent studies with laser therapy and men under physical exercise, are concentrated in the investigation of the fatigue and muscle damage after acute exercise of high intensity, such as in assessing the concentration and kinetics of biochemical markers, such as lactate and muscle creatine kinase [17,12,18]. However, some studies reported in the literature are divergent on the efficiency of LLLT to increase muscle performance in humans [11,18]. In these studies, parameters such as LLLT dose and wavelength are still being defined, once the depth tissue reached by the energy and, consequently its attenuation, influences directly the target tissue therapy [13]. Furthermore, the infrared laser irradiation seems to be better to stimulate the human muscle tissues, because it can cross the skin layers and reach greater depths without significant loss of energy [13].

The purpose of this study was to verify whether the chronic strength training associated with LLLT is able to optimizing the effects acquired from strength training. It was hypothesized that a chronic strength training program associated with LLLT would promote higher increased of the muscle performance in human when compared with strength training without laser. To this aim, we used a randomized controlled clinical trial with three tools to measure muscle performance: a) 1 maximum repetition in leg press (1RMleg); b) Muscle performance in isokinetic dynamometry (MPID) (knee torque extensor); c) Thigh perimetry measurements to accompany changes in the thigh volume of the subjects.

Methods

This study was designed as a randomized controlled clinical trial. All procedures were approved by the Ethics in Human Research of the São Carlos Federal University (approval opinion - N° 342/2008) and registered in Clinical Trials (NCT01113021). The subjects were recruited among graduate students from the university. All volunteers were informed about the study purposes and procedures. After inclusion in the trial, all subjects signed a consent form.

Subjects

The study participants were 36 male subjects who reported to be clinically healthy.

Inclusion Criteria

The following inclusion criteria were used: healthy males aged between 18 and 28 years, who had a body mass index (BMI) equal or less than 26, and with a beginner and/ or moderately trained pattern of physical activity, i.e., performed some physical activity with non-competitive aim between 1-3 times a week, in accordance with previous studies [19,7].

Exclusion Criteria

The following exclusion criteria were used: subjects presenting previous injury of femoral quadriceps or hamstring muscles (6 months prior to study), osseous or articular disorder in lower limbs, cardiovascular system disorders, systemic disease, and being under prescription medicine or dietary supplement use (such as muscle mass builders).

After entering the study, the subjects who ignored the proper training routine and/or missed two consecutive training sessions and/or developed any osseous or muscles or articular injuries were excluded.

Randomization

Randomization was performed by a simple drawing and the subjects were divided equally into three different groups: Training associated with LLLT Group (TLG), Training Group (TG) and the Control Group (CG).

Study Groups

TG and TLG were submitted to a dynamic strength training program in the leg press twice a week for 12 consecutive weeks. As soon as after the end of each session, the TLG group underwent LLLT in both femoral quadriceps muscles. CG served only as a control, i.e., it did not carry out any form of intervention or treatment. Thus, this group was only evaluated at the beginning and end of the study.

Instruments

The following instruments were used: leg press 45° (ReForce – São Paulo, BRA) to test 1RMleg; goniometer (ISP – São Paulo Institute, São Paulo, BRA) to determine the knee angle flexion in the 1RMleg; digital metronome (Qwick Time – model QT5, JPN) to standardize the timing of concentric and eccentric muscle contraction during training; a computerized isokinetic dynamometer (Biodex, Multi-Joint System III – New York, USA) to record the isokinetic variables of muscle performance (MPID) and a metric tape (3M – model Sanny, BRA) to measure the thigh perimetry of the subjects.

Procedures

The baseline assessments were carried out in the morning and consisted primarily of registering the subjects' thigh perimetry, followed by the evaluation of muscle performance in isokinetic dynamometry (MPID). The MPID recorded the PT.ext. (knee peak torque extensor of the two series of evaluation) and Avg.PT.ext. (knee peak torque extensor, average of the two evaluation series). In the afternoon the same day, the 1RMleg test was performed. All results of these muscle performance assessments were normalized by individual body mass (BM) and multiplied by 100, following the procedure of previous study [20]. All subjects were instructed not to change their usual physical routine or eating habits during the study, not to ingest alcohol and to sleep well (both in quantity and quality).

It was also conducted a pilot study to establish the reliability of 1RMleg test, MPID and thigh perimetry. The two tests were applied randomly to six subjects who were not part of the study by the same investigator, on two separate occasions, separated by a five-day interval. The Intraclass correlation coefficient (ICC 3, 1) was used to assess intra-examiner reliability and the standard error of measurement (SEM) to describe measurement accuracy. The results expressed as ICC (SEM) were: 0.92[(5.00Nm/BM)x100] for Avg.PT.ext.; 0.93[(5.17Nm/BM)x100] for PT.ext.; 0.99[(0.71Kg/BM)x 100] for 1RMleg test and 0.99(0.01cm) for thigh perimetry of the subjects.

Protocols of assessments, training and LLLT

All protocols for muscle performance assessment and workload adjustment were performed by the same evaluator. It is important to note that the baseline and after 12 weeks assessment were conducted on different training days and that the assessment results were normalized by subject body mass (BM) at both the beginning and the end of the study.

Protocol I (thigh perimetry). Thigh perimetry was measured midway between the anterior-superior iliac spine and the base of the patella of the subject's dominant lower limb. The dominant lower limb was determined as that used to kick a ball with greater accuracy. This assessment was performed in orthostatic position and the thigh muscles relaxed. Thigh perimetry was measured only at the baseline and after 12 weeks of strength training program.

Protocol II (isokinetic dynamometry). A brief warm-up was carried out for a period of 5 minutes on a cycle ergometer (*Ergo-FIT* – model Ergo 167 Cycle, Pirmasens, Germany) with 100 W load and speed between 60-70 rpm. Next, the subjects were positioned on the isokinetic dynamometer, which had been previously calibrated. The subjects stood properly aligned and stabilized with straps in order to avoid possible compensatory movements, in accordance with the guidelines' device. The evaluation was performed only on the subject's dominant lower limb, and dynamometer rotation axis was adjusted to the knee axis of the assessed member (at the femur lateral epicondyle) (Figure 1A). The hip was stabilized in 80° flexion and the lever arm of the equipment was set at approximately 1cm above the tibial malleolus. Parameters such as chair height, backrest distance, seat level and dynamometer base were adjusted for each subject.

Before starting isokinetic variables registration, there was a familiarization period with the apparatus that consisted of three submaximal voluntary concentric muscle contractions in the full range of standardized and pre-programmed motion (90° - 20°), with a constant angular velocity of 60 °/s. After a three-minute rest, the test began with two sets (separated by a three-minute interval) of five maximal voluntary concentric and reciprocal quadriceps and hamstring contractions in all ranges of standardized and pre-programmed flexion and extension knee motion (Figure 1B). Verbal and visual encouragement was given for the subjects in order to achieve maximum effort. This evaluation was performed only at the baseline and after 12 weeks of strength training program. The findings of this evaluation were only accepted with a coefficient of variation less than 10% [21].

Protocol III (1RMleg). There was a brief warm-up period of five minutes on a cycle ergometer (*Ergo-FIT* – model Ergo 167 Cycle, Pirmasens, Germany) with 100 W load and speed between 60-70 rpm. Next, load-lifting technique was demonstrated by the evaluator. The test was standardized by defining the subject's lower limb extension, identifying 90° knee flexion (by goniometer) and marking the position (in cm) corresponding to this angle on the leg press machine. The proposed range of motion was 0° (full knee extension, beginning) to 90° (ending). The anatomical references for the identification of the desired angle were the greater femoral trochanter, lateral femur epicondyle and the fibular malleolus of the same lower limb (Figure 1C). Before beginning the test, there was a familiarization period with the apparatus consisting of 10 repetitions with a load estimated less than 60% of 1RM. This subjective load was identified in accordance with physical level effort that subjects performed in familiarization period, following OMNI scale (0 equal extremely easy and 10 equal extremely hard) [22]. The loads increment for identify the 1RMleg was by percentages of loads in familiarization period. Thus, the loads increment for identify the 1RMleg was by percentages of loads applied in apparatus familiarization period and depended of the subjects responses facing the effort in OMNI scale. The load choices were limited to five attempts, separated by intervals (5 minutes) to avoid metabolic disorders and the impairment of test quality. Verbal encouragement was given for the subjects in order to achieve maximum effort.

Protocol IV (training). TG and TLG subjects began strength training program based in specific scientific literature [23,24] after two days of baseline assessments. The training program was consisted of two weekly trainings sessions in leg press 45° in non-consecutive days. The total training period was twelve consecutive weeks (three months), totaling 24 sessions. The training intensity was always 80% and the training volume was 50 repetitions divided into five sets of ten repetitions each. If the subject could not complete ten repetitions in each set, he would carry out the maximum number of repetitions until concentric muscle failure and was then given a rest interval. The rest interval between sets was two minutes and the exercise speed was governed by a metronome: two seconds eccentric muscle action for each second of concentric action [23]. During all training sessions (leg press exercise and 1RMleg test), the heart rate of subjects and the range of motion of lower limbs were monitored to validate the training and load of 1RMleg test. Moreover, the room temperature also was controlled (between 23 and 26 Celsius degree). Adjustments in workload were made by retesting the 1RMleg

every 8 sessions during normal training (thus replacing the session). Two days after the 24th session, subjects underwent a final thigh perimetry assessment, followed by final MPID and 1RMleg test.

Protocol V (LLLT application). TLG underwent a low level laser photostimulation protocol immediately after each training session. The infrared laser treatment was by contact technique; the beam remained stationary and perpendicular to the skin during the 24 sessions in seven areas distributed throughout muscle belly of femoral quadriceps of each subject in a previously demarcated area. The first region was 10 cm below the superior-anterior iliac spine and the others were every 5 cm below the initial mark (Figure 5A). The pattern of areas was recorded to make the laser application sessions more uniform. The laser parameters were: a near-infrared system (GaAlAs-808nm) with six diodes obliquely arranged and 60mW power each, use in continuous mode, a beam area of 0.0028 cm², 0.6 J energy per point (diode), a per-session energy total in each lower limb of 25.2 J (for a total of 50.4J,), a diode energy density or fluency of 214.28 J/cm², a diode power density of 21.42 W/cm² and an application time in each lower limb of 70 seconds and total application time of 140 seconds (both lower limbs).

Statistical analysis

Normality distribution of data was analyzed through Shapiro-Wilk test and the homogeneity of variances by Levene's test. The training effects on 1RMleg, MPID and thigh perimetry were verified by variance analyses (ANOVA two-way) with repeated measures only on one factor. The independent factors were the group (with 3 levels – Training associated with LLLT Group, Training Group and Control Group) and the time (with 2 levels – baseline and after 12 weeks), which was also considered as repeated measurement. When significant differences were found, *Tukey's* post-hoc test was conducted. The training effect was also analyzed by the percentage change of the variables studied in relation to baseline (considered 100%) and compared among groups by *Kruskal-Wallis* ANOVA test. Significance was set at $P < 0.05$.

Results

The study began with 36 male subjects who met all the inclusion criteria and signed a consent form. However, 6 subjects were excluded during the study for the following reasons: one subject did not agree to the group to which he was randomly allocated, three were injured during trainings and two CG members began a physical training program during the study. Thus, our final sample size was 30 subjects, 10 in each group. TLG had a mean age of 19.7±0.8 years, a mean weight 76.6±11.5kg, a mean height of 1.78±0.06m and a BMI of 23.3±2.1kg/m². TG had a mean age of 21.2±2.5 years, a body weight of 75.7±6.3kg, a mean height of 1.78±0.05m and a BMI of 23.7±1.9kg/m². CG had a mean age 21.8±2.1 years, a body weight of 77.1±13.5kg, a mean height of 1.80±0.05m and a BMI of 22.4±3.1kg/m².

The baseline assessments of 1RMleg, MPID and thigh perimetry were compared among the three groups to identify any statistically significant differences. No significant difference was observed in any variable ($P > 0.05$), demonstrating that the groups were statistically equal at baseline.

Body mass used for muscle performance normalization of the 1RMleg and MPID changed after training program, but it was not significant ($P > 0.05$). TLG increased their body mass in 1.30%, TG 1.50% and CG 0.12%.

The TLG and TG groups increased significantly ($P < 0.001$) the 1RMleg after strength training program. The 1RMleg of the TLG group was higher ($P < 0.001$) compared to CG group and statically equal to TG group ($P = 0.748$). The TG group compared to CG had a 1RMleg higher ($P = 0.008$). In average percentages, the 1RMleg of the TLG group increased 55.59%; TG group 26.83% and CG group 0.27%. Comparing the groups, TLG had higher percentage gain than the TG ($P = 0.033$) and CG ($P < 0.001$). And TG group had higher percentage gain than CG ($P = 0.033$). These changes in the load of 1RMleg test are summarized in Figure 2 and the percentages in table 1.

The MPID was higher for TLG and TG groups after strength training program but only the TLG had statistical significance for Avg.PT.ext. ($P = 0.003$) and PT.ext. ($P = 0.036$). The comparison among the groups no identified statistical differences ($P > 0.05$). In percentages, the TLG increased Avg.PT.ext. in 7.38% and PT.ext. in 4.67%. In percentages comparison the Avg.PT.ext. and PT.ext. of the TLG group was statistically higher than Avg.PT.ext. and PT.ext. of the CG ($P = 0.001$). Comparing the groups TLG versus TG and TG versus CG there was no statistical difference ($P > 0.05$). These changes in the MPID are summarized in Figure 3 and the percentages in table 1.

The thigh perimetry of subject's dominant lower limb increased significantly for TLG and TG groups ($P < 0.001$). CG group decreased thigh perimetry without statistical significance ($P = 0.999$). Considering the changes in percentages of thigh perimetry, the TLG group increased 4.52%; TG group 2.75% and CG group

decreased 0.53%. When comparing these percentages among groups, the TLG group was statistically higher than the control group ($P < 0.001$) and statistically equal to the TG ($P = 0.775$). The TG group was statically higher than CG group ($P = 0.006$). These changes in the thigh perimetry are summarized in Figure 4 and the percentages in table 1.

Discussion

This study investigated whether the Low Level Laser therapy (LLLT) combined to physical strength training (80% of 1RM) would promote higher increase of the muscle performance in CKC, OKC and higher thigh perimetry volume of young males when compared with strength training without LLLT. Thirty subjects who completed the program were randomized into three distinct groups of equal size with no significant differences in the baseline. Subject body mass was used to standardize the force measured in CKC and OKC tests, and it did not significantly change from baseline values ($P > 0.05$). Thus, it did not affect significantly muscle performance in the final assessment.

After the 12 weeks of strength training, the 1RM in leg press load was significantly higher than the baseline load in both TLG and TG groups. However, CG remained statistically equal ($P > 0.999$) since there was no intervention involved. This increasing in muscle strength followed a strength training program has been well established in the literature [1,2].

There was no statistically significant difference between TGL and TG groups in comparison of their means and variances for 1RMleg after training ($P = 0.748$). Only the differences between TLG vs CG ($P < 0.001$) and TG vs CG ($P = 0.008$) were significant. This may be due the initial average of 1RMleg load of the TLG group be smaller but not statistically ($P = 0.919$) than the initial load of the TG (a difference of 49kg). Thus, despite the TLG group have the final load average of the 1RMleg higher than the TG group, it was not statistically significant ($P = 0.748$). However, considering the increase percentage, TLG group increased 55.5% the 1RMleg and was statistically higher ($P = 0.033$) than the increase of 26.8% of TG after the training program (see table 1).

When these groups were compared in OKC by isokinetic dynamometry (MPID), only the TLG group managed to increase the average knee peak torque extensor and the knee peak torque extensor (Avg.PT.ext. and PT.ext.) in this evaluation (see figure 3). Only TLG group also had a higher MPT.ext. and PT.ext. in comparison to CG. However, no statistical difference was observed between TLG and TG for MPID (see figure 3 and table 1). The low percentages of transfer of muscle performance between isotonic exercises in CKC and isokinetic OKC found in this study have been reported in the literature [4] and are due the specificity of training [25,8] and evaluation form [6].

Some studies that investigated the men muscle performance undergoing physical exercise associated with LLLT did not find significant improvements [11,18]. However, other studies with similar methodologies found highly relevant results for the fatigue reduction and improvement of the muscle performance [17,12,18]. The evaluations carried out previously studied the kinetic of the fatigue biochemical markers (lactate) and muscle damage (creatine kinase). These studies were drawn such as randomized, double-blind, placebo-controlled trial and have showed significant lower levels of these markers and also an increasing in the number of maximal voluntary contractions, indicating reduction of the fatigue induced by exercise [17,12,18]. The hypothesis of these authors for the best physical performance provided by the action of LLLT were lower creatine kinase activity, increased antioxidants levels and improvement of microcirculation and lactate removal.

Adding to previous hypotheses, the present study proposes more three possible physiologic mechanisms for the improvement of the physical human performance when associated with LLLT, all based in the importance of the cellular mitochondria in the energy production. There are strong evidences in the scientific literature that LLLT has a close relationship with the mitochondria, promoting their growth and / or fusion of smaller mitochondria to the formation of giant mitochondria and consequently the increasing of the mitochondrial density in the tissues [15,16]. Greater mitochondria have been associated with higher enzymatic machinery for aerobic ATP production [15,16]. Although these organelles represent a fundamental role in the energy production necessary in endurance training or low intensity [26-28], they also might have contributed to the biggest energetic availability in high-intensity exercise, such as the present study. This issue is based on the hierarchical and in ramp recruitment of the muscle fibers. It has verified that while increases the exercise intensity, the order of muscle fiber recruitment follows necessarily this order: type I (oxidative), type II (glycolytic and oxidative) and finally type IIx (glycolytic) [29] Therefore, it corroborates the existence of a supplementation of aerobic energetic production (oxidative) by anaerobic (glycolytic) as the exercises become intense [30].

The second hypothesis for the muscle performance improvement in the TLG group is the integration between the aerobic and anaerobic ATP production metabolism described by Tonkonogi and Sahlin [27]. This mechanism refers to the phosphocreatine re-synthesis process, which is dependent of the mitochondrial shuttles creatine mechanism, present in greatest quantities in muscle fibers with oxidative characteristics [27]. The

creatine shuttle system captures ADP (adenosine di-phosphate) and Pi (phosphorus inorganic) that result from the use of ATP in muscle contraction, and it transports them to the mitochondrial matrix through the inner membrane organelle by means of adenine nucleotide translocase. The ATP produced by oxidative phosphorylation takes the same route, although in the opposite direction, providing energy to phosphocreatine re-synthesis reaction in the active muscle. This reaction is catalyzed by way of the muscle creatine kinase. Concomitant to this process, the use of phosphocreatine energy generates muscle creatine, ADP and Pi. While the ADP and Pi follow the above-mentioned path, creatine is transported to mitochondrial intermembrane space of the muscle, and then mitochondrial creatine kinase catalyzes the phosphocreatine re-synthesis reaction, also using ATP produced through oxidative phosphorylation. Ultimately, the phosphocreatine is transported to the muscle contraction site, supplies the energy necessary to continue the contractile activity and to increase the ATP/ADP ratio [27] (Figure 5B).

Considering the LLLT effects on mitochondria, the greater mitochondrial density and/or its enzymatic machinery to ATP production [15,16], possibly bigger will be the phosphocreatine re-synthesis. The phosphocreatine re-synthesis, mainly in the rest intervals of high intensity exercise, would be able to supply part of the necessary energy for the next series of muscle contraction, besides providing the re-synthesis of the ATP used during session training, or still in the maximal tests at CKC and OKC.

The third hypothesis for the muscle performance improvement of TLG group is the greatest removal and oxidation of lactic acid produced anaerobically during proposed exercise, because the metabolic acidosis possibly induces muscle fatigue [31,32]. Lactic acid formation in the fiber muscles' cytosol is due to reduction of the pyruvate to lactate, which is catalyzed by cytosolic lactate dehydrogenase enzyme, and occurs mainly in anaerobic and strength exercises. Next, lactate is transported to the mitochondrial matrix via monocarboxylic acid transporters and, by means of the NAD⁺ (oxidized nicotinamide adenine dinucleotide) and mitochondrial lactate dehydrogenase, lactate is oxidized to pyruvate. The reduced NAD (NADH) is oxidized in the electron transport chain and provides the necessary electrons and protons for the aerobic production of ATP. The pyruvate in turn, is oxidized to acetyl-CoA and in the Krebs cycle, it continues to be oxidized to produce ATP aerobically by way the electron transport chain [31,32] (Figure 5C).

Regarding the thigh perimetry results of TLG, TG and CG groups, only TLG and TG increased the volume of these muscles with statistical significance after the training program. But it was not statistically different among all groups when compared their mean and variances. When regarded the percentages changes in thigh perimetry these groups, TGL and TG increased the thigh perimetry compared with CG group (see table1).

Numerous studies have reported increased cross-sectional area of muscle tissue undergoing to physical strength (see reviews of Fry, 2004; Harris, Cronin and Keogh, 2007 and Wernbom, Augustsson and Thomee, 2007). A hypothesis that attempts to explain this physiological adaptation to strength training is the association between muscle injury degree and supposed greater activation of muscle satellite cells, i.e., situations where microdamage would occur in muscle structure and need repair [33-35]. Microdamage stimulates mononuclear inflammatory cells (neutrophils and macrophages), attracts satellite cells for the site injury by way of chemotactic mechanisms, where they are activated, proliferate and differentiate itself by way of molecular mechanisms [36-38]. After cell differentiation, satellite cells are called myotubes and can be fused with damaged muscle fibers, or originate new contractile proteins [36-38]. In this process, LLLT seems to modulate satellite cell metabolism, directly influencing muscle tissue regeneration [39-41].

We suggest that future work should investigate the possible action of the LLLT on gene expression in humans. Mainly specific genes which encode transcription factors of satellite cells in the quiescent state, such as Pax7 (paired box 7) and c-met (hepatocyte growth factor receptor); and/or activated state (proliferative) for myoblasts formation, such as Myf-5 (myogenic factor 5); and/or myoblast differentiation into myotubes, such as myogenin (myogenic factor 4), MyoD (myogenic differentiation) and MRF4 (muscle-specific regulatory factor 4), which is known as Myf-6 (myogenic factor 6 [38,37,36]. In addition, it is possible that the myostatin (GDF-8) gene expression may have been modulated by LLLT, since this gene is a major atrophy marker and acts against the process of muscle regeneration, leading to an inhibition of satellite cell proliferation and less hypertrophy [36]. Furthermore, in the context of gene expression, the LLLT could alter the muscular hypertrophy gene expression, such as mTOR (mechanistic target of rapamycin) and/or the genes responsible for mitochondrial biogenesis, including NRF-1, NRF-2 (nuclear respiratory factor 1 and 2), Tfam (transcription factor A, mitochondrial) and PCG - 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha) [42,43].

Conclusion

The results of this study aligned with the published data on the interaction of LLLT with mitochondria and human muscle performance suggest that strength training combined with LLLT may be superior to strength training only. But we emphasize that care is needed as to generalize the results. We believe that further studies,

especially those involving LLLT and gene expression are indispensable to elucidate the interaction of this therapeutic resource and the molecular mechanisms of recovery and muscle performance.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Departments of Physical Therapy and Physiological Sciences of the São Carlos Federal University for assistance with this study, the research subjects and also the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)* for partial funding of the research.

References

1. Folland JP, Williams AG (2007) The adaptations to strength training : Morphological and neurological contributions to increased strength. *Sports Med* 37 (2):145-168. doi:3724
2. Fry AC (2004) The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports Med* 34 (10):663-679. doi:34104
3. Tagesson S, Oberg B, Good L, Kvist J (2008) A comprehensive rehabilitation program with quadriceps strengthening in closed versus open kinetic chain exercise in patients with anterior cruciate ligament deficiency: A randomized clinical trial evaluating dynamic tibial translation and muscle function. *Am J Sports Med* 36 (2):298-307. doi:0363546507307867
4. Augustsson J, Esko A, Thomee R, Svantesson U (1998) Weight training of the thigh muscles using closed vs. Open kinetic chain exercises: A comparison of performance enhancement. *J Orthop Sports Phys Ther* 27 (1):3-8
5. Stensdotter AK, Hodges PW, Mellor R, Sundelin G, Hager-Ross C (2003) Quadriceps activation in closed and in open kinetic chain exercise. *Med Sci Sports Exerc* 35 (12):2043-2047. doi:10.1249/01.MSS.0000099107.03704.AE
6. Verdijk LB, van Loon L, Meijer K, Savelberg HH (2009) One-repetition maximum strength test represents a valid means to assess leg strength in vivo in humans. *J Sports Sci* 27 (1):59-68. doi:905973386
7. Wawrzyniak JR, Tracy JE, Catizone PV, Storrow RR (1996) Effect of closed chain exercise on quadriceps femoris peak torque and functional performance. *J Athl Train* 31 (4):335-340
8. Harris N, Cronin J, Keogh J (2007) Contraction force specificity and its relationship to functional performance. *J Sports Sci* 25 (2):201-212. doi:U208644445P21363
9. Rodriguez NR, Di Marco NM, Langley S (2009) American college of sports medicine position stand. Nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc* 41 (3):709-731. doi:10.1249/MSS.0b013e31890eb86
10. Hoffman JR, Kraemer WJ, Bhasin S, Storer T, Ratamess NA, Haff GG, Willoughby DS, Rogol AD (2009) Position stand on androgen and human growth hormone use. *J Strength Cond Res* 23 (5 Suppl):S1-S59. doi:10.1519/JSC.0b013e31819df2e6
11. Gorgey AS, Wade AN, Sobhi NN (2008) The effect of low-level laser therapy on electrically induced muscle fatigue: A pilot study. *Photomed Laser Surg* 26 (5):501-506. doi:10.1089/pho.2007.2161
12. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Vanin AA, Baroni BM, Grosselli D, De Marchi T, Iversen VV, Bjordal JM (2009) Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers Med Sci* 24 (3):425-431. doi:10.1007/s10103-008-0592-9
13. Enwemeka CS (2009) Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. *Photomed Laser Surg* 27 (3):387-393. doi:10.1089/pho.2009.2503
14. Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD (2004) The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: A meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 22 (4):323-329. doi:10.1089/1549541041797841
15. Bakeeva LE, Manteifel VM, Rodichev EB, Karu TI (1993) [formation of gigantic mitochondria in human blood lymphocytes under the effect of an he-ne laser]. *Mol Biol (Mosk)* 27 (3):608-617
16. Manteifel VM, Karu TI (2005) [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* (6):672-683
17. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, Baroni BM, Penna SC, Iversen VV, Bjordal JM (2008) Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg* 26 (5):419-424. doi:10.1089/pho.2007.2160
18. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Taufer D, Manfro DS, Rech M, Danna V, Grosselli D, Generosi RA, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM (2009) Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci* 24 (6):857-863. doi:10.1007/s10103-008-0633-4
19. Caspersen CJ, Pereira MA, Curran KM (2000) Changes in physical activity patterns in the united states, by sex and cross-sectional age. *Med Sci Sports Exerc* 32 (9):1601-1609
20. Nakagawa TH, Muniz TB, Baldon Rde M, Dias Maciel C, de Menezes Reiff RB, Serrao FV (2008) The effect of additional strengthening of hip abductor and lateral rotator muscles in patellofemoral pain syndrome: A randomized controlled pilot study. *Clin Rehabil* 22 (12):1051-1060. doi:22/12/1051
21. Dawn T, Gulick J, Chiappa RJ, Kevin R, Crowley MES, Wescott SR (1998/1999) Predicting 1-rm isotonic knee extension strength utilizing isokinetic dynamometry. *Isokinetics and Exercise Science* 7:145-149
22. Irving BA, Rutkowski J, Brock DW, Davis CK, Barrett EJ, Gaesser GA, Weltman A (2006) Comparison of borg- and omni-rpe as markers of the blood lactate response to exercise. *Med Sci Sports Exerc* 38 (7):1348-1352. doi:10.1249/01.mss.0000227322.61964.d2
23. Wernbom M, Augustsson J, Thomee R (2007) The influence of frequency, intensity, volume and mode of strength training on whole muscle cross-sectional area in humans. *Sports Med* 37 (3):225-264. doi:3734

24. Ratamess NA, Alvar BA, Kibler WB, Kraemer WJ, Triplett NT (2009) American college of sports medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 41 (3):687-708. doi:10.1249/MSS.0b013e3181915670
25. Stone M, Plisk S, Collins D (2002) Training principles: Evaluation of modes and methods of resistance training--a coaching perspective. *Sports Biomech* 1 (1):79-103
26. Tonkonogi M, Walsh B, Svensson M, Sahlin K (2000) Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: Effects of endurance training and oxidative stress. *J Physiol* 528 Pt 2:379-388. doi:PHY_1192
27. Tonkonogi M, Sahlin K (2002) Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 30 (3):129-137
28. Sahlin K, Mogensen M, Bagger M, Fernstrom M, Pedersen PK (2007) The potential for mitochondrial fat oxidation in human skeletal muscle influences whole body fat oxidation during low-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292 (1):E223-230. doi:00266.2006
29. Hodson-Tole EF, Wakeling JM (2009) Motor unit recruitment for dynamic tasks: Current understanding and future directions. *J Comp Physiol B* 179 (1):57-66. doi:10.1007/s00360-008-0289-1
30. Goreham C, Green HJ, Ball-Burnett M, Ranney D (1999) High-resistance training and muscle metabolism during prolonged exercise. *Am J Physiol* 276 (3 Pt 1):E489-496
31. Brooks GA, Dubouchaud H, Brown M, Sicurello JP, Butz CE (1999) Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (3):1129-1134
32. Hashimoto T, Hussien R, Brooks GA (2006) Colocalization of mct1, cd147, and ldh in mitochondrial inner membrane of l6 muscle cells: Evidence of a mitochondrial lactate oxidation complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290 (6):E1237-1244. doi:00594.2005
33. Harridge SD (2007) Plasticity of human skeletal muscle: Gene expression to in vivo function. *Exp Physiol* 92 (5):783-797. doi:expphysiol.2006.036525
34. Vierck J, O'Reilly B, Hossner K, Antonio J, Byrne K, Bucci L, Dodson M (2000) Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. *Cell Biol Int* 24 (5):263-272. doi:10.1006/cbir.2000.0499
35. Petrella JK, Kim JS, Mayhew DL, Cross JM, Bamman MM (2008) Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: A cluster analysis. *J Appl Physiol* 104 (6):1736-1742. doi:01215.2007
36. Charge SB, Rudnicki MA (2004) Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 84 (1):209-238. doi:10.1152/physrev.00019.2003
37. Hawke TJ, Garry DJ (2001) Myogenic satellite cells: Physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* 91 (2):534-551
38. Holterman CE, Rudnicki MA (2005) Molecular regulation of satellite cell function. *Semin Cell Dev Biol* 16 (4-5):575-584. doi:S1084-9521(05)00085-6
39. Weiss N, Oron U (1992) Enhancement of muscle regeneration in the rat gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. *Anat Embryol (Berl)* 186 (5):497-503
40. Shefer G, Partridge TA, Heslop L, Gross JG, Oron U, Halevy O (2002) Low-energy laser irradiation promotes the survival and cell cycle entry of skeletal muscle satellite cells. *J Cell Sci* 115 (Pt 7):1461-1469
41. Ben-Dov N, Shefer G, Irintchev A, Wernig A, Oron U, Halevy O (1999) Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1448 (3):372-380
42. Coffey VG, Hawley JA (2007) The molecular bases of training adaptation. *Sports Med* 37 (9):737-763. doi:3791
43. Hawley JA (2009) Molecular responses to strength and endurance training: Are they incompatible? *Appl Physiol Nutr Metab* 34 (3):355-361. doi:h09-023

Figure captions

Figure 1 – A) Subjects positioning in the Isokinetic Dynamometer assessment. B) Range of motion developed in the Isokinetic Dynamometer assessment. C) Subjects positioning in the 1RM leg press test and definition of the knee angle flexion.

Figure 2 – Load of 1RM leg press test for the three study groups at the baseline and after 12 weeks of strength training program. Abbreviations: TLG: Training associated with Low Level Laser Therapy Group; TG: Training Group; CG: Control Group; BM: Body Mass; *: statistical significance.

Figure 3 – Results of Isokinetic Dynamometer assessment for the three study groups at the baseline and after 12 weeks of strength training program. Abbreviations: TLG: Training associated with Low Level Laser Therapy Group; TG: Training Group; CG: Control Group; Avg.PT.ext.: knee peaks torque extensor, average of the two series evaluation; PT.ext.: knee peak torque extensor of the two series evaluation; BM: Body Mass; Nm: Newton-meter; *: statistical significance

Figure 4 – A) Thigh perimetry assessment for the three study groups at the baseline and after 12 weeks of strength training program. Abbreviations: TLG: Training associated with Low Level Laser Therapy Group; TG: Training Group; CG: Control Group; Cm: centimeters, *: statistical significance.

Figure 5 – A) Application points of Low Level Laser Therapy on the femoral quadriceps muscle. B) Mitochondrial creatine shuttle mechanism. In this mechanism, creatine (Cr) is transported from the point use (myofibrils) for the mitochondria and the phosphocreatine (PCr) is transported in the opposite direction. Due to the presence of creatine kinase (CK) in the inner mitochondrial membrane, the Cr reacts with ATP (adenosine tri-phosphate) produced in the oxidative phosphorylation and re-synthesizes PCr. This process increases the ADP concentration (adenosine di-phosphate) and it turn stimulates respiration. However, the PCr decreases the ADP concentration and the respiration. Abbreviation: ANT (adenine nucleotide translocase) (modified from Tonkonogi & Sahlin, 2002). C) Lactate Oxidation by mitochondrial pathway. The lactate can be transported to the intermembrane space or directly to mitochondrial matrix, where it is oxidized to pyruvate by NAD^+ (oxidized nicotinamide adenine dinucleotide) and this reaction is catalyzed by the lactate dehydrogenase mitochondrial enzyme (mLDH). The reduced NAD (NADH) is oxidized by way the electron transport chain (ETC) and provides electrons and protons required for the aerobic ATP production. Abbreviations: mMCT (mitochondrial Monocarboxylate Transporters) (modified from Brooks *et al.*, 1999).

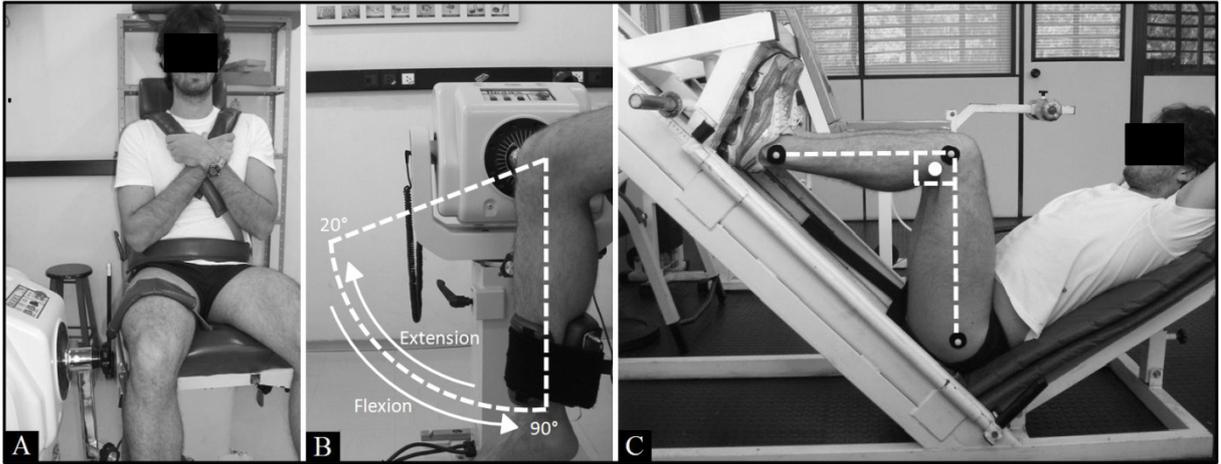


Figure 1

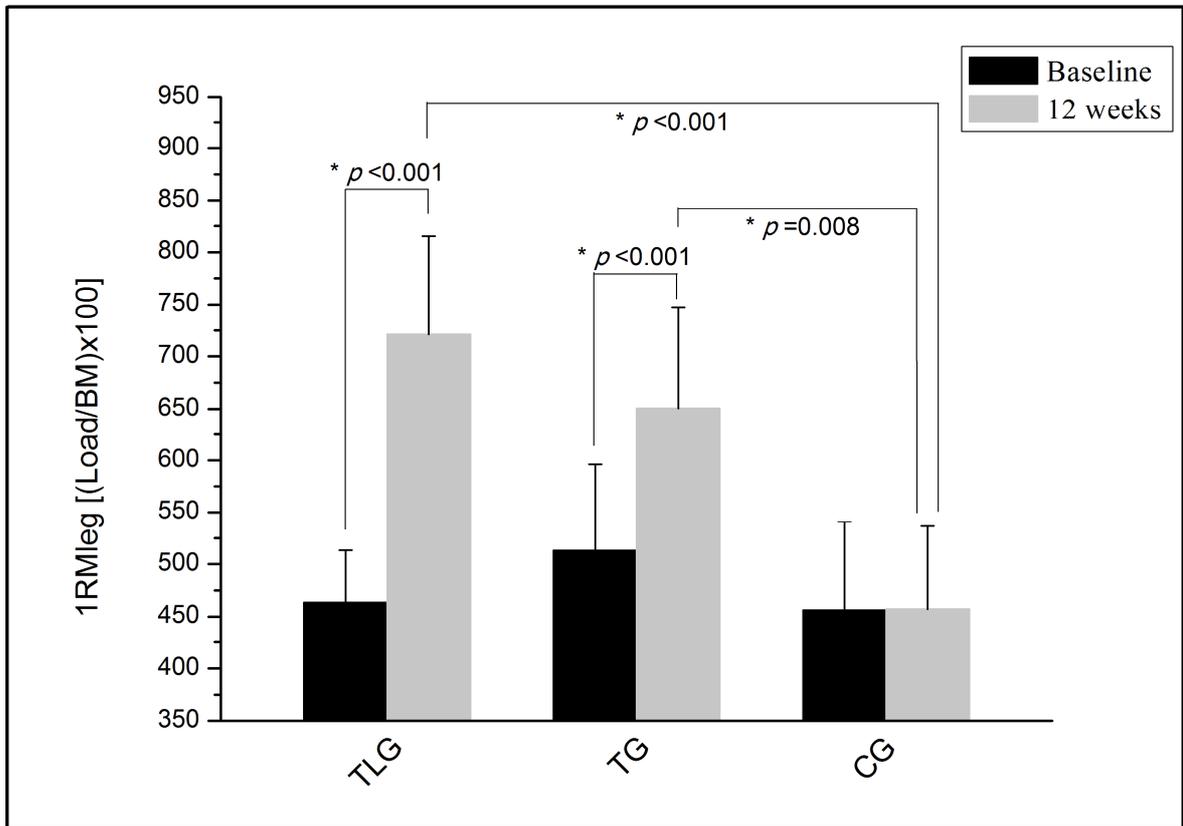


Figure 2

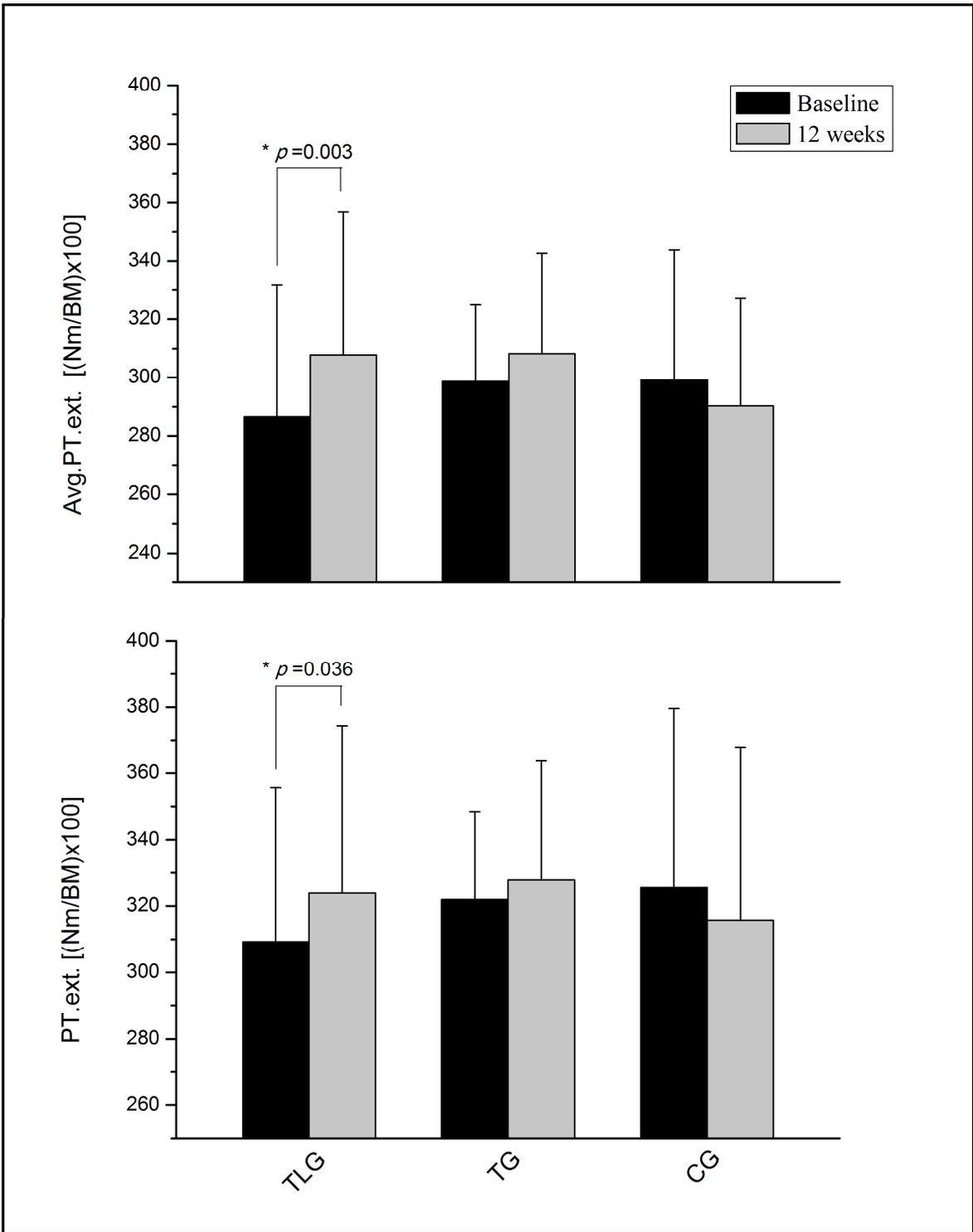


Figure 3

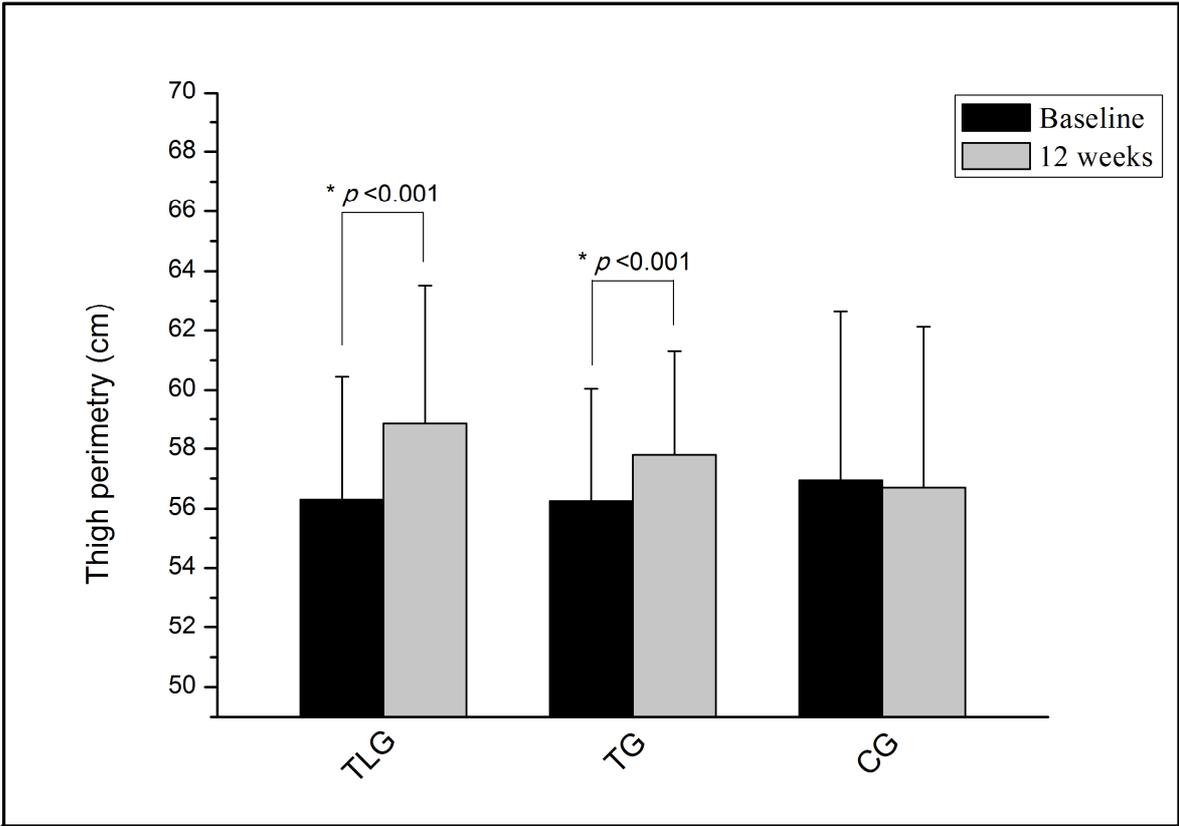


Figure 4

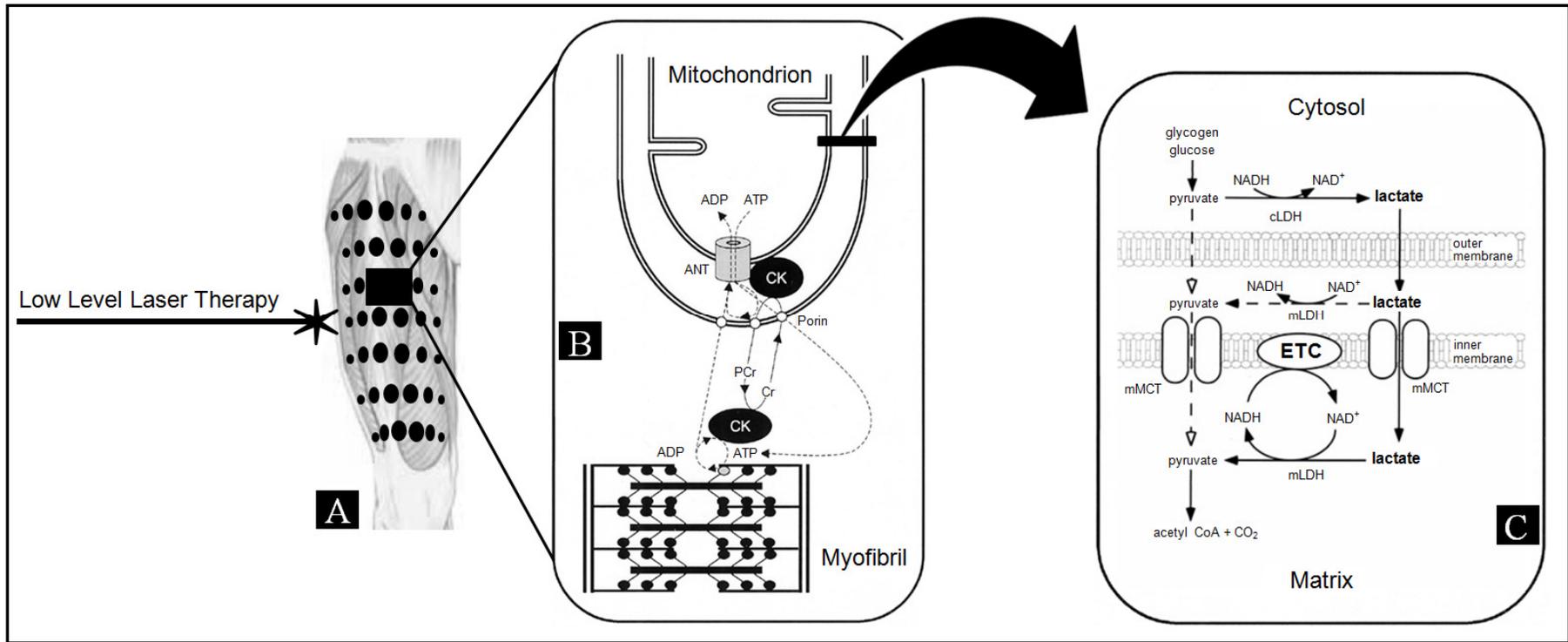


Figure 5

Table 1 – Percentages gains and losses of muscle performance in isokinetic dynamometry assessment (MPID) and in one-repetition maximum test in the leg press (1RMleg). Comparisons among groups.

Variable	Gains and losses (%)			Comparison between		
	after training			groups (<i>p</i> valor)		
	TLG	TG	CG	TLG <i>x</i> CG	TLG <i>x</i> TG	TG <i>x</i> CG
1RMleg	55.59	26.83	0.27	<i>P</i> <0.001*	<i>P</i> =0.033*	<i>P</i> =0.033*
Avg.PT.ext.	7.38	3.16	-2.97	<i>P</i> <0.001*	<i>P</i> =0.639	<i>P</i> =0.092
PT.ext.	4.67	1.82	-2.98	<i>P</i> =0.001*	<i>P</i> =0.401	<i>P</i> =0.126
Perimetry	4.52	2.75	-0.5	<i>P</i> <0.001*	<i>P</i> =0.775	<i>P</i> =0.006*

Abbreviations. Avg.PT.ext. : knee peaks torque extensor, average of the two series evaluation; PT.ext.: knee peak torque extensor of the two series evaluation; TLG: Training associated with Low Level Laser Therapy Group; TG: Training Group; CG: Control Group. *: statistical significance (*Kruskal-Wallis* ANOVA test).