

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO – UNINOVE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA
APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE

PAULO ROBERTO VICENTE DE PAIVA

TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO (PBMT) E/OU
CRIOTERAPIA NA RECUPERAÇÃO DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO, O QUE É MELHOR? UM ESTUDO
CLÍNICO RANDOMIZADO PLACEBO CONTROLADO

SÃO PAULO, SP

2016

PAULO ROBERTO VICENTE DE PAIVA

**TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO (PBMT) E/OU
CRIOTERAPIA NA RECUPERAÇÃO DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO, O QUE É MELHOR? UM ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO PLACEBO CONTROLADO**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho para obtenção do título de Mestre em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior

SÃO PAULO, SP

2016

Paiva, Paulo Roberto Vicente de.

Terapia de fotobiomodulação (PBMT) e/ou crioterapia na recuperação do músculo esquelético, o que é melhor? um estudo clínico randomizado placebo controlado./ Paulo Roberto Vicente de Paiva. 2016.

73 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2016.

Orientador (a): Prof. Dr. Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior.

1. Fototerapia. 2. Crioterapia. 3. Recuperação pós-exercício. 4. Esporte.

I. Leal-Junior, Ernesto Cesar Pinto. II. Título

CDU 615.831

São Paulo, 03 de fevereiro de 2016.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): PAULO ROBERTO VICENTE DE PAIVA

Título da Dissertação: "Terapia de fotobiomodulação (PBMT) e/ou crioterapia na recuperação do músculo esquelético, o que é melhor? Um estudo clínico randomizado placebo controlado".

Presidente: PROF. DR. ERNESTO CESAR PINTO LEAL JUNIOR



Membro: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS



Membro: PROF. DR. RODRIGO LEAL DE PAIVA CARVALHO



AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela minha vida e por me abençoar em todos os momentos.

Agradeço aos meus pais por me ensinar não só o conceito, mas também na prática, a ter educação, respeito e responsabilidade.

Agradeço a minha esposa, Andréa, pela paciência e por estar sempre ao meu lado.

Agradeço a todos os integrantes do laboratório que me ajudaram a realizar e concluir esse projeto, em especial ao meu professor e orientador Ernesto, pela confiança e pelos ensinamentos aprendidos ao longo desse tempo.

Agradeço a UNINOVE por disponibilizar espaço e equipamentos necessários para realização desse projeto, assim como pela bolsa de mestrado PROSUP/CAPES.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de mestrado processo 2014/04557-2.

RESUMO

A recuperação pós-exercício é de fundamental importância no esporte de alto rendimento e atualmente vários recursos são utilizados com este intuito, dos quais podemos destacar a recuperação ativa, massagem, terapia de contraste com água fria e água quente, hidroterapia, anti-inflamatórios não esteroidais, crioterapia, laserterapia de baixa potência, entre outros. A crioterapia é um dos recursos mais utilizados e que consiste no uso de gelo ou de água em temperaturas baixas para acelerar a recuperação pós-exercício, contudo, a sua evidência científica é extremamente limitada e controversa. Estudos recentes envolvendo fototerapia têm demonstrado resultados positivos no retardo da fadiga muscular e na recuperação de marcadores bioquímicos relacionados a recuperação muscular. Contudo, diversos fatores ainda permanecem desconhecidos, tais como: doses e parâmetros ideais de aplicação, mecanismos de ação, os efeitos em exercícios de longa duração e os efeitos em longo prazo na recuperação musculoesquelética. Da mesma maneira, ainda não são totalmente conhecidos os efeitos da combinação de diferentes fontes de luz (lasers e LEDs) sobre a performance e recuperação muscular pós-exercício. **Objetivo:** Com estes fatores em mente, o presente projeto de pesquisa tem como objetivo determinar os efeitos da fototerapia com lasers e LEDs e da crioterapia utilizadas isoladamente ou combinadas na recuperação muscular pós-exercício excêntrico de extensores de joelho. **Métodos:** Será realizado um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e duplo-cego, com a participação voluntária de indivíduos saudáveis. Analisaremos parâmetros relativos ao desempenho físico dos voluntários (pico de torque / contração voluntária máxima - CVM), dor muscular tardia (DMT) através da escala visual analógica (EVA) e marcador bioquímico de dano muscular (creatina quinase - CK). **Resultados:** A terapia de fotobiomodulação (PBMT) isolada foi ótima para recuperação pós-exercício com melhora da contração voluntária máxima (MVC), diminuição de dor muscular tardia (DOMS) e atividade de creatina quinase (CK) ($p < 0.05$) de 24 a 96 horas em comparação com Placebo, Crioterapia e Crioterapia+PBMT. No grupo PBMT+Crioterapia, o efeito de PBMT foi diminuído ($p > 0.05$), mas demonstrou melhoras significativas na MVC, diminuiu DOMS e atividade de CK ($p < 0.05$). O tratamento isolado com Crioterapia e Crioterapia+PBMT foi similar ao Placebo ($p > 0.05$). **Conclusão:** Nós concluímos que o uso isolado do tratamento PBMT é a melhor modalidade para acelerar a recuperação pós-exercício, levando a completa recuperação aos níveis basais em 24 horas após contrações excêntricas de alta intensidade.

Palavras-chave: Fototerapia, crioterapia, recuperação pós-exercício, esporte.

ABSTRACT

Background/Aim: Cryotherapy for post-exercise recovery remains widely used despite the lack of quality evidence. Photobiomodulation Therapy (PBMT) studies have demonstrated positive scientific evidence to suggest its use. The study aims to evaluate PBMT and cryotherapy as a single or combined treatment on skeletal muscle recovery after eccentric contractions of knee extensors. **Methods:** Fifty healthy male volunteers were recruited and randomized into five groups (PBMT, Cryotherapy, Cryotherapy+PBMT, PMBT+Cryotherapy or Placebo) for a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial that evaluated exercise performance (maximum voluntary contraction - MVC), delayed onset muscle soreness (DOMS), and muscle damage (Creatine Kinase - CK). Assessments were performed at baseline, immediately after, and at 1, 24, 48, 72 and 96 hours. Comparator treatments was performed 3 minutes after exercise and repeated at 24, 48 and 72 hours. PBMT was applied with GameDay™ (905nm super-pulsed laser, 875nm and 640nm LEDs combined, Multi Radiance Medical™), and cryotherapy by flexible rubber ice packs. **Results:** PBMT alone was optimal for post-exercise recovery with improved MVC, decreased DOMS and CK activity ($p < 0.05$) from 24 to 96 hours compared to placebo, cryotherapy and Cryotherapy+PBMT. In the PBMT+Cryotherapy group, the effect of PBMT was decreased ($p > 0.05$), but demonstrated significant improvement in MVC, decreased DOMS and CK activity ($p < 0.05$). Cryotherapy as single treatment and Cryotherapy+PBMT were similar to placebo ($p > 0.05$). **Conclusions:** We conclude that PBMT used as single treatment is the best modality for enhancement of post-exercise restitution, leading to complete recovery to baseline levels from 24 hours after high-intensity eccentric contractions.

Keywords: phototherapy, low-level laser therapy, light emitting diodes, performance, cryotherapy.

LISTAS DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Parâmetros de irradiação utilizados.....	21
---	----

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1: Valores de $f(\alpha\beta)$	16
Figura 2: Ilustração das áreas de irradiação da fototerapia.....	22
Figura 3: Fluxograma ilustrando os procedimentos do estudo.....	23

LISTAS DE ABREVIATURAS

ATP - Adenosina trifosfato

CK - Creatina quinase

CVM - Contração voluntária máxima

CWIT - Cold water immersion therapy

DOMS - Delayed onset muscle soreness

EVA - Escala analógica visual

IL-6 - Interleucina 6

LBP - Laserterapia de baixa potência

LED - Diodos emissores de luz

PBMT - Photobiomodulation therapy

PRICE - Protect rest ice compression elevation

VAS - Visual analogue scale

SUMÁRIO

1. Contextualização.....	09
2. Objetivos.....	14
3. Métodos.....	15
3.1 Sujeitos.....	15
3.2 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	16
3.3 Randomização.....	16
3.4 Procedimentos.....	17
3.4.1 Alongamento e Aquecimento.....	17
3.4.2 Teste de função muscular.....	17
3.4.3 Protocolo de contrações excêntricas.....	18
3.4.4 Amostras sanguíneas.....	18
3.4.5 Mensuração da dor muscular tardia.....	19
3.5 Tratamentos.....	19
3.5.1 Crioterapia.....	19
3.5.2 Fototerapia.....	20
3.5.3 Tratamento com a associação de crioterapia e fototerapia (ou fototerapia e crioterapia).....	22
3.5.4 Placebo.....	23
3.6 Análise estatística	24
4. Resultados	25
4.1 Artigo	25
5. Discussão.....	26
6. Conclusão.....	30
Referências.....	31
APÊNDICE I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	38
ANEXO I - Termo de aprovação do comitê de ética.....	41
ANEXO II – Artigo.....	43

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A recuperação muscular pós-exercício no esporte de alto rendimento é parte crucial no planejamento da preparação física e por isso, vários recursos são utilizados com este intuito, dentre eles, a recuperação ativa, massagem, terapia de contraste com água fria e quente, hidroterapia, anti-inflamatórios não esteroidais, crioterapia, entre outros (Barnett 2006; Pastre *et al.* 2009; Bieuzen *et al.* 2013).

Dentre os recursos citados acima destacamos a crioterapia como um dos mais utilizados na recuperação pós-exercício e que consiste no uso de gelo ou de água em temperaturas baixas para acelerar a recuperação muscular, retardar a fadiga e prevenir lesões musculares, contudo, a evidência científica para o uso desta modalidade é extremamente limitada (Bleakley *et al.* 2012) e controversa (Pastre *et al.* 2009) devido à falta de entendimento sobre os mecanismos pelos quais a crioterapia interfere na recuperação do exercício de alta intensidade (White and Wells 2013) e os seus efeitos na lesão muscular aguda ainda não estarem totalmente elucidados (Matheus *et al.* 2008).

É sabido que o poder analgésico e anti-inflamatório da crioterapia contribui para um regresso mais precoce dos atletas a suas atividades, talvez seja esta uma possível explicação para que a utilização do gelo seja um dos recursos mais utilizados nas atividades de alta intensidade. A crioterapia tem como outros efeitos a redução da permeabilidade vascular devido à vasoconstrição, diminuição dos batimentos cardíacos e débito cardíaco, aumento da pressão arterial e da resistência periférica, diminuição da transmissão de impulsos nervosos do reflexo de estiramento e analgesia local, redução da dor, aumento da tonicidade muscular, além da diminuição da temperatura corporal (Pastre *et al.* 2009; Ribeiro *et al.* 2006; Silva *et al.* 2010).

Em uma recente revisão sistemática, Pastre *et al.* (2009) encontraram estudos relacionando o uso da crioterapia pós-exercício na recuperação muscular. Diversos protocolos foram utilizados, o que dificulta a investigação dos benefícios ou não da crioterapia.

Quando foram utilizadas bolsas de gelo na crioterapia, a recuperação muscular parece ser prejudicada (Tseng *et al.* 2013; Ruiz *et al.* 1993). No estudo de Nemet *et al.* (2009) ocorreu uma redução dos hormônios anabólicos, sendo prejudicial na performance atlética, mas em contrapartida, também ocorreu redução da citocina pró-inflamatória interleucina-6 (IL-6).

Corrêa *et al.* (2012) não encontraram diferenças significativas na força muscular isométrica da musculatura extensora de joelho após o uso do gelo.

Após uma breve revisão sobre a crioterapia, podemos concluir que apesar de muito utilizada na prática clínica, seus efeitos e mecanismos de ação ainda não estão bem estabelecidos, diferentemente da fototerapia (com laserterapia de baixa potência – LBP, ou diodos emissores de luz – LED), que é outro recurso relativamente recente encontrado na literatura e que vem sendo utilizado na recuperação muscular, com o intuito de melhorar a performance muscular e acelerar a recuperação pós-exercício.

A fototerapia consiste na aplicação da luz (lasers ou LEDs) (com potência entre 1 e 500 mW) a uma condição patológica e, ao contrário de outros procedimentos como o laser médico (cirúrgico), a fototerapia não possui efeitos ablativos ou térmicos, mas sim efeitos fotoquímicos nos quais a luz é absorvida e exerce uma alteração química nos tecidos, sendo normalmente utilizada para promover a regeneração do tecido, reduzir edema e inflamação e aliviar a dor (Huang *et al.* 2011; de Almeida *et al.* 2011).

O primeiro ensaio clínico randomizado para investigação dos efeitos da fototerapia em distúrbios do sistema musculoesquelético foi realizado nos anos 80 em pacientes com artrite reumatóide (Goldman *et al.* 1980). Desde a publicação deste primeiro ensaio clínico, diversos efeitos positivos da fototerapia foram identificados em diversas outras distúrbios, tais como: osteoartrite (Hegedus *et al.* 2009), tendinopatias (Bjordal *et al.* 2006; Stergioulas *et al.* 2008), lombalgias (Bassford *et al.* 1999; Konstantinovic *et al.* 2010) e cervicalgias (Gur *et al.* 2004; Chow *et al.* 2006; Chow *et al.* 2009). Assim, a fototerapia é uma nova forma de terapia que tem sido utilizada para tratar as distúrbios musculoesqueléticas, no entanto, os mecanismos responsáveis pelos seus efeitos ainda não foram completamente elucidados.

No que diz respeito à prática esportiva, a fototerapia quando aplicada previamente ao exercício reduziu o stress oxidativo induzido pelo exercício, provocou um retardo no desenvolvimento da fadiga muscular, melhorou o desempenho e preveniu danos musculares (Baroni *et al.* 2010; De Marchi *et al.* 2012). De acordo com Leal Junior *et al.* (2009), quando aplicada antes do exercício de alta intensidade, a fototerapia pode aumentar a remoção do lactato sanguíneo e pode reduzir os danos musculares, proporcionando aos atletas uma recuperação muscular rápida entre as sessões de exercícios. Ainda com relação à aplicação da fototerapia pré-exercício, Toma *et al.* (2013) verificaram um aumento do número de repetições dos músculos extensores de joelho em mulheres idosas.

Com relação à aplicação pós-exercício, Ferraresi *et al.* (2011) verificaram que a fototerapia levou a uma melhora da performance muscular em indivíduos submetidos a um treinamento de força. Os autores sugerem que esta melhora pode estar relacionada à remoção e à oxidação do ácido láctico produzido anaerobicamente durante o exercício, contribuindo para a redução do lactato e no aumento da disponibilidade de energia durante o exercício. Da mesma maneira, Vieira *et al.* (2012) verificaram em seu estudo que houve melhora da resistência à fadiga de voluntárias que receberam fototerapia após o exercício, sendo que este efeito pode estar relacionado a uma maior quantidade de energia provocada pela fototerapia, aumentando assim a oferta de energia a ser gasta pelas voluntárias, levando conseqüentemente a melhores resultados no treinamento.

Alguns autores vêm utilizando ainda a fototerapia (com diodos emissores de luz – LED) durante a realização do exercício em mulheres que se encontram no período pós-menopausa. Os estudos demonstraram que o LED infravermelho acarretou na melhora da tolerância ao exercício e uma maior resistência à fadiga (Paolillo *et al.* 2011; Paolillo *et al.* 2013; Paolillo *et al.* 2013).

Portanto, até o presente momento existem estudos clínicos que demonstram efeitos benéficos da fototerapia (LBP e/ou LED terapia) quando utilizada antes, durante, ou depois dos exercícios. Contudo, recentemente em uma revisão sistemática realizada por Borsa *et al.* (2013) e em uma revisão sistemática com meta-análise realizada por Leal-Junior *et al.* (2015), evidenciou-se que a maioria dos estudos realizados utiliza a aplicação pré-exercício, o que levaria a uma melhora na função contrátil muscular, reduziria o dano muscular induzido pelo exercício e facilitaria a recuperação pós-exercício.

Recentemente, Hayworth *et al.* (2010) e Albuquerque-Pontes *et al.* (2015) demonstraram que a atividade de citocromo c-oxidase em músculo esquelético intacto foi aumentada significativamente através da fototerapia, levando conseqüentemente ao aumento na produção de ATP mitocondrial. É importante ressaltar que nestes estudos os músculos irradiados encontravam-se intactos e não lesionados, diferentemente de estudos anteriores, e ainda que, a atividade de citocromo c-oxidase foi analisada até 24 horas após a aplicação de fototerapia. Estes resultados demonstram que um músculo intacto (saudável) pode ter sua produção de energia potencializada pela fototerapia, o que explicaria um dos mecanismos através dos quais a fototerapia aumenta a performance, atenua a fadiga muscular e melhora a recuperação pós-exercício.

Recentes estudos com fototerapia na fadiga muscular esquelética têm sugerido ainda possíveis efeitos sobre a atividade da enzima creatina quinase (CK) e demonstrado que as fontes de luz LED dentro da faixa terapêutica e com boa coerência alcançam resultados similares quando comparados aos lasers. No entanto, a terapia com LED teria algumas vantagens, tais como maior área de radiação por ponto e o baixo custo, que podem representar uma vantagem principalmente quando grandes áreas precisam ser irradiadas.

Em experimentos com animais e em ensaios clínicos que utilizaram fototerapia com comprimento de onda vermelho (Leal Junior *et al.* 2008; de Almeida *et al.* 2012), infravermelho (Leal Junior *et al.* 2009; Leal Junior *et al.* 2010; Leal Junior *et al.* 2010; de Almeida *et al.* 2011; Paolillo *et al.* 2011; Ferraresi *et al.* 2011; Vieira *et al.* 2012; de Almeida *et al.* 2012; De Marchi *et al.* 2012; Paolillo *et al.* 2013; Paolillo *et al.* 2013; Toma *et al.* 2013) e ambos (Leal Junior *et al.* 2009) observou-se que a terapia provocou retardo no desenvolvimento da fadiga muscular tanto quando foram utilizados lasers quanto LEDs. Portanto, esse fato é o que nos leva a crer que a fototerapia tanto com lasers quanto com LEDs, com comprimentos de onda no espectro tanto no vermelho quanto no infravermelho são eficazes para retardar o desenvolvimento da fadiga e melhorar o desempenho do músculo esquelético.

Com esta perspectiva, acreditamos ser vantajosa terapeuticamente a utilização de aparelhos que combinem não só diferentes comprimentos de onda como também diferentes fontes de luz (laser e LED, por exemplo), é importante mencionar ainda que dispositivos combinando diferentes comprimentos de onda e fontes de luz já estão disponíveis comercialmente, e que estes dispositivos já são amplamente utilizados na prática clínica, principalmente com o objetivo de melhora do desempenho atlético e da recuperação pós-exercício.

Com relação a superioridade terapêutica entre a fototerapia e a crioterapia, um estudo preliminar publicado recentemente verificou que a fototerapia possui efeitos superiores à crioterapia quando aplicada pós-exercício (Leal Junior *et al.* 2011). Contudo, devido ao pequeno tamanho amostral adotado no estudo, bem como pelo fato das terapias terem sido aplicadas apenas uma vez (imediatamente após o exercício) e de maneira isolada (como monoterapia), conclusões robustas não podem ser estabelecidas até o momento.

Sabe-se ainda que em ambiente clínico a combinação de duas ou mais modalidades terapêuticas são normalmente utilizadas e, portanto, é importante conhecer a interação entre duas ou mais modalidades terapêuticas. É importante destacar ainda que até o presente

momento a crioterapia é a terapia mais utilizada na prática clínica, e que apesar da falta de evidências para o seu uso, ela não deixará de ser utilizada a curto/médio prazo. Por outro lado, a fototerapia (com LBP e LEDs) é uma alternativa terapêutica que apesar de recente, já apresenta evidência científica para seu uso (Leal-Junior *et al.* 2015), porém, é necessário demonstrar a sua magnitude ou não em relação à outras terapias.

Contudo, até o presente momento não encontramos na literatura estudos combinando crioterapia e fototerapia, portanto, não podemos estabelecer quais seriam os possíveis efeitos de uma terapia sobre a outra, bem como se uma das terapias potencializaria a outra. Por este motivo, acreditamos que a investigação dos efeitos da fototerapia e da crioterapia de maneira isolada e combinada, poderão vir a contribuir no estabelecimento de terapias mais eficazes para a recuperação muscular pós-exercício, acarretando menor risco de lesões e, conseqüentemente, maior rendimento aos que as utilizam.

2. OBJETIVOS

O presente projeto de pesquisa teve como objetivo determinar os efeitos da fototerapia (com a combinação de lasers e LEDs) e da crioterapia utilizadas isoladamente ou de maneira combinada na recuperação muscular pós-exercício excêntrico de extensores de joelho em indivíduos saudáveis.

3. MÉTODOS

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, placebo controlado e duplo-cego. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) (Protocolo número 470.174), e todos os voluntários que concordaram participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice 1), conforme determina a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

3.1 Sujeitos

O número de participantes por grupo foi calculado com base em um estudo prévio realizado por nosso grupo de pesquisa (Antonialli *et al.* 2014) no qual foi utilizado o mesmo modelo experimental, o mesmo dispositivo de fototerapia, e o mesmo protocolo de exercício proposto no presente estudo. Para o cálculo amostral considerou-se o valor de β de 20% e α de 5%.

No estudo utilizado como referência para o cálculo amostral (Antonialli *et al.* 2014), verificou-se que a fototerapia provocou uma recuperação na contração voluntária máxima -

CVM (nosso desfecho primário) 96 horas após o protocolo de exercício excêntrico para 336,88 N.m (desvio padrão de 27,92), enquanto o valor pré-exercício (*baseline*) foi de 286,63 (desvio padrão de 38,86). Para o cálculo amostral foi utilizada a seguinte fórmula (sendo n = tamanho amostral; SD = desvio padrão (maior desvio padrão); f = 7,9 (com base na tabela abaixo: α 0.05, β 0.2); m2 = média pós-intervenção; m1 = média pré-intervenção):

$$n = \frac{2 \times (SD)^2}{(m2 - m1)^2} \times f(\alpha\beta)$$

		Valores de erro b			
		0,05	0,1	0,2	0,5
Valores do erro a	0,1	10,8	8,6	6,2	2,7
	0,05	13,0	10,5	7,9	3,8
	0,02	15,8	13,0	10,0	5,4
	0,01	17,8	14,9	11,7	6,6

Pocock ST. Clinical trials: a practical approach. Chichester: Wiley; 1983.

Figura 1: Valores de f ($\alpha\beta$)

A partir dos parâmetros explicitados acima, utilizados para o cálculo amostral, obtivemos como resultado o n de 10 voluntários por grupo. Foram recrutados para o estudo 50 voluntários saudáveis, não praticantes de atividade física regular, do gênero masculino, com idade entre 18 e 35 anos. Tendo em vista que o dispositivo de fototerapia utilizado no estudo não provoca efeitos térmicos deletérios (Grandinetti *et al.* 2015), foram recrutados voluntários de diferentes tons de coloração de pele.

Os voluntários foram informados sobre todos os procedimentos do estudo anteriormente a sua realização, seguido da assinatura do TCLE.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos saudáveis, não-atletas ou que praticassem atividade física no máximo 1 vez por semana, de idade entre 18 e 35 anos, do gênero masculino com qualquer tom de pele (Grandinetti *et al.* 2015), que não apresentassem histórico de lesão musculoesquelética nas regiões do quadril e joelho nos 2 meses que antecederam o estudo, não estivessem fazendo uso de agentes farmacológicos e/ou suplementos nutricionais. Foram excluídos do estudo os indivíduos que não atenderam aos critérios supramencionados, os indivíduos que apresentaram lesão musculoesquelética durante a realização do estudo e indivíduos que apresentaram alguma doença crônica articular no membro inferior não dominante.

3.3 Randomização

Os voluntários foram aleatoriamente alocados em 5 grupos experimentais (de 10 voluntários cada). A randomização foi realizada através de um sorteio simples de lotes (A, B, C, D e E), que determinou o grupo experimental do estudo: Placebo (A), Fototerapia 39.37 J (B), Crioterapia (C), Crioterapia + Fototerapia 39.37 J (D) e Fototerapia 39.37 J + Crioterapia (E).

3.4 Procedimentos

3.4.1 Alongamento e aquecimento: Os voluntários realizaram 3 séries de 60 segundos de exercício de alongamento ativo da musculatura extensora de joelho do membro inferior não-dominante. Em seguida, os voluntários realizaram o exercício de aquecimento que consistiu em pedalar durante 5 minutos em um cicloergômetro (Inbramed[®], Brasil), a 100 rpm, e sem carga.

3.4.2 Teste de função muscular: Optamos por utilizar um dinamômetro isocinético para a avaliação da função muscular e para a execução do protocolo de exercício, pois, atualmente esta ferramenta é considerada como o método de maior confiabilidade, fidedignidade e reprodutibilidade para mensuração do desempenho musculoesquelético (Brown 2000, Powers e Howley 2007). Imediatamente após os exercícios de alongamento e aquecimento, os voluntários realizaram o teste de contração voluntária máxima - CVM. Os voluntários foram posicionados sentados no assento do dinamômetro isocinético (System 4, Biodex[®] - EUA) com uma angulação de 100° entre o tronco e o quadril, e a perna não-

dominante posicionada a 60° de flexão de joelho (sendo que 0° corresponde a extensão total de joelho) e fixada ao assento do dinamômetro através de um cinto. A perna dominante também foi posicionada com 100° de flexão de quadril e também foi fixada ao assento com um cinto. Os voluntários também foram presos ao assento do dinamômetro através de dois cintos cruzando seu tronco. Durante os testes os voluntários foram instruídos a posicionar seus braços cruzando o tronco e o eixo do dinamômetro foi posicionado paralelamente ao centro da articulação do joelho. O teste de CVM consistiu na execução de três contrações isométricas de extensores de joelho do membro inferior não dominante com duração de 5 segundos e intervalos de 30 segundos entre as contrações, o maior valor de torque obtido nas três contrações (**pico de torque**) foi utilizado para a análise estatística. A escolha deste parâmetro dá-se pelo fato desta variável refletir a capacidade máxima de geração de força pelo músculo (Brown 2000, Powers e Howley 2007). Durante a execução do teste de CVM os voluntários foram encorajados verbalmente, e as instruções sobre a execução do teste foram fornecidas aos voluntários previamente a sua realização. A escolha deste teste deu-se devido a sua fidedignidade e reprodutibilidade observada em um estudo prévio desenvolvido por nosso grupo de pesquisa (Baroni *et al.* 2010). O teste de CVM foi realizado também imediatamente após (1 minuto) o protocolo de contrações excêntricas, bem como 1, 24, 48, 72 e 96 horas após o protocolo de contrações excêntricas, com o objetivo de avaliar a recuperação da força muscular pós-exercício.

3.4.3 Protocolo de contrações excêntricas: Exatamente 2 minutos após o término do teste de CVM pré-exercício os voluntários executaram o protocolo de contrações excêntricas. O protocolo consistiu na execução de 75 contrações isocinéticas excêntricas da musculatura extensora de joelho do membro inferior não dominante (5 séries de 15 repetições, 30 segundos de intervalo entre cada série) com velocidade de 60°.seg⁻¹ (tanto na fase excêntrica quanto na concêntrica do movimento) com amplitude de movimento de 60° (entre 90° e 30° de flexão de joelho). A cada contração o dinamômetro posicionou automaticamente (passivamente) os joelhos dos indivíduos a 30°, após isso o dinamômetro flexionou os joelhos dos voluntários até atingir 90°. Os voluntários tiveram que resistir ao movimento de flexão de joelho imposto pelo dinamômetro com máxima força. Durante toda a execução do protocolo os sujeitos foram encorajados verbalmente, e as instruções sobre a realização do protocolo foram fornecidas aos voluntários previamente a sua execução. Apesar da diversidade de protocolos propostos para a execução de exercícios excêntricos em dinamômetros isocinéticos, optamos pela utilização do protocolo mencionado anteriormente, pois em um estudo prévio realizado por nosso grupo de

pesquisa (Baroni *et al.* 2010) este protocolo mostrou-se eficiente e reprodutível na indução ao dano muscular gerado por exercício.

3.4.4 Amostras sanguíneas: Foram coletadas amostras sanguíneas (5 ml, através de punção da veia antecubital) previamente ao alongamento e aquecimento, e 1 minuto após a execução do protocolo de contrações excêntricas. Também foram obtidas amostras 1, 24, 48, 72, e 96 horas após a execução do protocolo de contrações excêntricas. As amostras foram coletadas por uma enfermeira que também não teve conhecimento sobre a alocação dos voluntários nos 5 grupos experimentais. Uma hora após a obtenção de cada amostra, as mesmas foram centrifugadas a 3000 rpm durante 20 minutos. O soro foi então empipetado e armazenado em tubos (Eppendorf®) e mantidos a -80° C para posterior análise.

Foi analisada em cada amostra a atividade enzimática de creatina quinase (CK) como marcador indireto de dano muscular (por espectrofotometria e com uso de kits de reagentes específicos fabricados pela Labtest® - Brasil).

3.4.5 Mensuração da dor muscular tardia: A dor muscular tardia foi avaliada através da utilização da escala analógica visual (EVA) de 100 mm. As avaliações foram realizadas previamente ao alongamento e aquecimento, 1 minuto após a execução do protocolo de contrações excêntricas, e também 1, 24, 48, 72, e 96 horas após a execução do protocolo.

3.5 Tratamentos

Todos os tratamentos foram realizados 3 minutos após o protocolo de exercício excêntrico e também após 24, 48 e 72 horas, imediatamente após as reavaliações (coleta sanguínea, EVA e CVM).

3.5.1 Crioterapia: Foi utilizado o Protocolo PRICE (sigla em inglês): *P* (Protect the área: interromper as atividades), *R* (Rest: repouso), *I* (Ice: aplicação de gelo), *C* (Compression: compressão), *E* (Elevation: elevação acima da altura do coração). A terapia teve início aos 3 minutos após o protocolo de exercícios excêntricos (2 minutos após a CVM pós-exercício) com duração de 20 minutos e também foi realizada 24, 48 e 72 horas após o protocolo de exercícios excêntricos.

A aplicação foi feita na área da musculatura extensora do joelho através de duas bolsas de gelo triturado, sendo que cada bolsa possui um volume total de 2,3 litros e 26 cm de diâmetro, com massa de aproximadamente 2,35 kg (bolsa cheia de gelo). A aplicação foi feita

associada à bandagem compressiva semi-rígida, com o voluntário em decúbito dorsal e com o membro inferior elevado sob uma cunha de espuma grande com 50 cm de comprimento, 50 cm de largura e 30 cm de altura.

Com relação à quantidade de compressão exercida pela bolsa de gelo sobre a pele do voluntário, Tomchuk *et al.* (2010) analisaram a magnitude do resfriamento superficial e intramuscular (2 cm abaixo da superfície) do músculo gastrocnêmio e verificaram que a crioterapia exercida com compressão foi mais eficaz na redução da temperatura intramuscular, porém, os autores não quantificaram a pressão exercida pela bolsa de gelo, assim como Tseng *et al.* (2013), Ruiz *et al.* (1993), e Nemet *et al.* (2009) que também utilizaram bolsas de gelo em seus estudos.

Realizamos buscas nas bases de dados Pubmed e LILACS utilizando as palavras-chave "cryotherapy", "compression", "cooling", "cold packs" e "ice", e não foi possível encontrar valores de referência para estimar o valor da compressão da bolsa de gelo com a pele do indivíduo, assim como sugerido pela assessoria da FAPESP. Essa foi uma sugestão muito válida, porém, assim como na prática clínica essa mensuração não é relatada pelos trabalhos científicos deste tema.

No presente projeto, foi utilizado um esfignomanômetro modificado para mensurar a compressão exercida durante a aplicação da crioterapia. Pudemos mensurar que a pressão exercida na compressão da bolsa de gelo com a pele dos voluntários em nosso estudo foi de 40 mmHg ($\pm 6,2$). Portanto, esta medida foi repetida diversas vezes e em diferentes voluntários demonstrando boa reprodutibilidade. Além disso, para melhor padronização, o posicionamento das bolsas de gelo nos voluntários foi realizado sempre por um mesmo pesquisador durante todo o protocolo.

3.5.2 Fototerapia: A fototerapia também teve início aos 3 minutos após o protocolo de exercícios excêntricos (2 minutos após a CVM pós-exercício). Para aplicação da fototerapia foi utilizado um cluster de 9 diodos, sendo 1 diodo de laser com 905 nm (1.25 mW de potência média, 12.5 W de potência de pico para cada diodo, 0.44 cm²), 4 diodos de LED com 875 nm (17.5 mW de potência média para cada diodo, 0.9 cm²) e 4 diodos de LED com 640 nm (15 mW de potência média para cada diodo, 0.9 cm²), tempo de irradiação de 300 segundos por ponto, 39.37 J de energia irradiada por ponto, o equipamento utilizado é fabricado pela Multi Radiance Medical® (Solon, OH - EUA). Optamos pela utilização do equipamento GameDay™ manufaturado pela Multi Radiance Medical® tendo em vista a excelente qualidade do equipamento e também pelo fato de não existirem empresas nacionais que fabriquem *clusters*,

sobretudo com as características que necessitávamos para a execução deste projeto. A descrição dos parâmetros de irradiação utilizados se encontra detalhados na tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de irradiação utilizados

Número de lasers	1 super-pulsado infravermelho
Comprimento de Onda (nm)	905 (± 1)
Frequência (Hz)	1000
Potência de Pico (W) – cada	12.5
Média de saída Ótica (mW) – cada	1.25
Densidade de Potência (mW/cm ²) – cada	2.84
Densidade de Energia (J/cm ²) – cada	0.85
Dose (J) – cada	0.375
Área de saída do feixe (cm ²) – cada	0.44
Número de LEDs	4 vermelhos
Comprimento de onda LEDs (nm)	640 (± 10)

Frequência (Hz)	2
Potência média de saída (mW) – cada	15
Densidade de Potência (mW/cm ²) – cada	16.67
Densidade de Energia (J/cm ²) – cada	5
Dose (J) – cada	4.5
Área de saída do feixe (cm ²) – cada	0.9
Número de LEDs	4 Infravermelhos
Comprimento de onda LEDs (nm)	875 (±10)
Frequência (Hz)	16
Potência média de saída (mW) – cada	17.5
Densidade de Potência (mW/cm ²) – cada	19.44
Densidade de Energia (J/cm ²) – cada	5.83
Dose (J) - cada	5.25
Área de saída do feixe (cm ²) – cada	0.9
Campo Magnético (mT)	35
Tempo de irradiação por área (segundos)	300
Dose total por área (J)	39.37
Dose total aplicada por MMII (J)	236.22
Abertura do dispositivo (cm ²)	4
Modo de aplicação	Cluster mantido em contato com a pele com um ângulo de 90° graus e leve pressão

Tendo em vista a extensa área de irradiação empregada no presente projeto, o uso de *clusters* tornou-se fundamental para a aplicação da terapia. A aplicação da fototerapia foi realizada com o voluntário deitado em decúbito dorsal, com o membro inferior elevado da mesma maneira a ser realizado no protocolo PRICE (crioterapia). O *cluster* ficou em contato direto com a pele com leve pressão em 6 locais distintos da musculatura extensora de joelho do membro inferior não dominante (2 mediais, 2 laterais e 2 centrais) conforme ilustrado na figura 2.



Figura 2: Ilustração das áreas de irradiação da fototerapia.

Tendo em vista que o *cluster* contém 9 diodos e que foram irradiados 6 locais distintos da musculatura extensora do joelho (conforme ilustrado na figura 2), portanto, foram irradiados um total de 54 pontos na referida musculatura. Utilizamos a dose de 39.37 J por local (236.22 J de energia total na coxa), durante 300 segundos por local (1.800 segundos de tempo total por coxa – 30 minutos), pois esta foi a dose mais eficaz no aumento de performance e recuperação muscular pós-exercício observada em um estudo prévio realizado por nosso grupo de pesquisa (Antonialli *et al.* 2014).

3.5.3 Tratamento com a associação de crioterapia e fototerapia (ou fototerapia e crioterapia): Nos grupos tratados com associação de fototerapia e crioterapia, os tratamentos foram realizados exatamente da mesma maneira, porém alternando a ordem dos tratamentos conforme mencionado anteriormente. É importante ressaltar que não houve intervalo entre os tratamentos (crioterapia e fototerapia, ou fototerapia e crioterapia).

3.5.4 Placebo: O tratamento placebo consistiu na aplicação de fototerapia, com os mesmos procedimentos descritos anteriormente, porém, com um aparelho placebo que emite os mesmos sons e exibe as mesmas informações em seu display. O pesquisador responsável pela aplicação dos tratamentos não teve conhecimento sobre qual dos aparelhos utilizados para fototerapia foi o equipamento efetivo ou placebo.

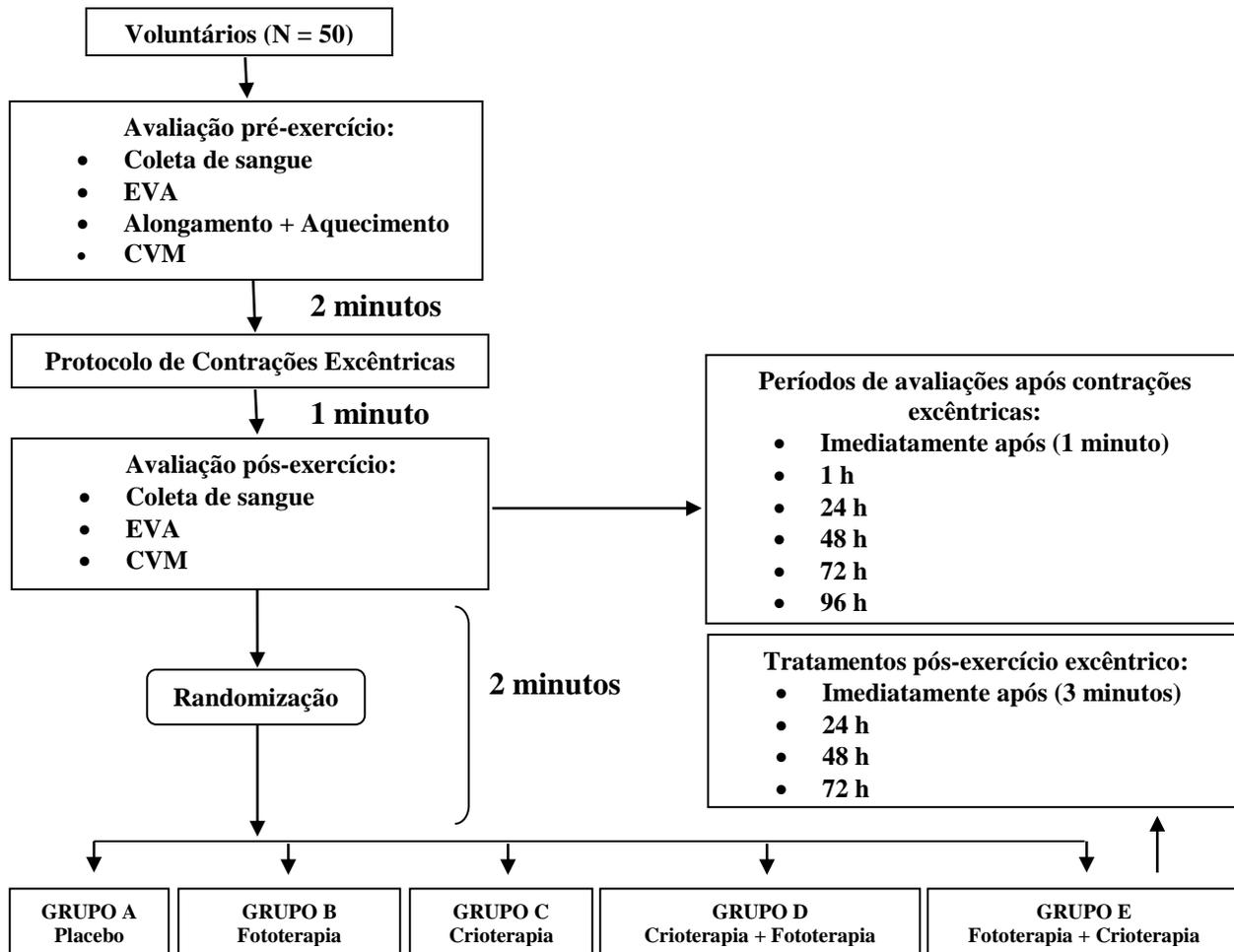


Figura 3: Fluxograma ilustrando os procedimentos do estudo.

3.6 Análise estatística

A intenção de análise de tratamento foi seguida. O desfecho primário foi o pico de torque obtido a partir da CVM em diferentes momentos. Os desfechos secundários foram EVA e CK. O pesquisador que realizou a análise estatística não teve conhecimento da randomização e alocação dos voluntários nos grupos experimentais. Os dados foram primeiramente testados quanto a distribuição normal usando o teste Shapiro-Wilk e foram expressos em média e desvio padrão. O teste ANOVA com medidas repetidas para o fator tempo foi realizado para testar as diferenças entre grupos (seguido pelo teste post-hoc Bonferroni). O nível de significância foi de $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1 Artigo

Os resultados da presente Dissertação serão apresentados no formato de artigo, seguindo as normas do PPG em Biofotônica aplicada as Ciências da Saúde. O artigo intitulado de “Photobiomodulation therapy (PBMT) and/or cryotherapy in skeletal muscle restitution, what is better? A randomized placebo-controlled clinical trial” foi submetido para publicação no periódico British Journal of Sports Medicine (Anexo II).

5. DISCUSSÃO

A fadiga muscular é o declínio na performance dos músculos observada durante períodos de intensa atividade numa ampla variedade de atividades esportivas específicas ou durante uma competição. O consumo de ATP excede a produção durante atividade intensa e ocorrem várias alterações nos metabólitos intracelulares, que pode contribuir para as mudanças na atividade das pontes cruzadas (Allen & Trajanovska 2012). Hayworth *et al.* (2010) demonstrou que a irradiação com PBMT no músculo esquelético intacto acelera a atividade de citocromo c-oxidase que regula a atividade mitocondrial aumentando a produção de ATP e diminuindo o stress oxidativo. Albuquerque-Pontes *et al.* (2015) observou um aumento na atividade de citocromo c-oxidase por imuno-histoquímica após irradiação de múltiplos comprimentos de onda de luz no músculo esquelético intacto ao longo de diferentes intervalos de tempo.

O objetivo da recuperação é acelerar a adaptação do organismo ao estresse físico e psicológico (fadiga) (Barnett 2006). Com uma completa recuperação muitas vezes exigindo vários dias para reverter (Edwards *et al.* 1977). Um programa de treinamento bem-sucedido aumenta a performance atlética usando o princípio de adaptação específica imposta pela demanda (SAID). Como resultado, o programa de treinamento exige alta demanda fisiológica para o corpo, assim, gera fadiga como adaptação do organismo para a demanda (Noakes 2000). Em última análise, o fator importante é se nós podemos encontrar métodos de recuperação que aumentam a capacidade de um atleta para realizar novamente seu padrão anterior, seguinte a uma série exaustiva de exercício ou competição (Barnett 2006).

A terapia de fotobiomodulação (PBMT), embora o seu uso para a recuperação pós-exercício seja novo, tem crescido evidências que apoiam o seu uso (Leal-Junior *et al.* 2015; Borsa *et al.* 2013). Antonialli *et al.* (2014) encontrou que o uso profilático combinado de laser super pulsado e LEDs antes do exercício excêntrico diminui a fadiga muscular, acelera a recuperação e modula a atividade de creatina quinase (CK). Estes primeiros resultados apoiam o novo uso da PBMT na recuperação muscular esquelética como uma provável alternativa a outras modalidades usadas atualmente. PBMT melhora a performance reduzindo a fadiga

experimentada durante a atividade através do aumento da atividade de citocromo C e o ATP presente disponível após a exposição a luz (Hayworth *et al.* 2010; Albuquerque-Pontes *et al.* 2015). Este “pré-tratamento” parece fornecer proteção ao músculo esquelético contra danos teciduais induzidos pelo exercício (Leal-Junior *et al.* 2015).

Embora a crioterapia apresente uma notável influência sobre os principais eventos inflamatórios a um nível celular e fisiológico após uma lesão aguda do tecido mole, no geral, a evidência apoiando a crioterapia como uma modalidade de recuperação é fraca (Hohenauer *et al.* 2015). Há alguma indicação da eficácia da crioterapia durante períodos de recuperação relevantes para intervalos da sessão de treinamento após o exercício que pode ser mais representativo do treinamento do que o utilizado para induzir dor muscular tardia (DOMS) (Yanagisawa *et al.* 2003; Lane and Wenger 2004). Portanto, seu uso e eficácia como um meio de recuperação pode ser questionável.

Num estudo prévio, Leal-Junior *et al.* (2011) compararam os efeitos a curto prazo da terapia de imersão em água gelada (CWIT) e PBMT com LEDs em jogadores de futsal realizando o teste de Wingate. A crioterapia (com CWIT, 5°C de temperatura, por 5 minutos) ou PBMT (com LEDs, 660 nm e 850 nm, 41.7 J em 10 locais da perna por 30 segundos por ponto) foi administrado após o teste. Embora o trabalho realizado por todos os grupos foi o mesmo, as medidas feitas pós intervenção revelaram que a PBMT foi capaz de inibir o aumento esperado pós exercício nos níveis de lactato sanguíneo e na atividade de CK. Foi sugerido que a PBMT foi mais efetiva do que 5 minutos de CWIT para melhorar a recuperação pós exercício a curto prazo. No entanto, um estudo mais robusto foi necessário.

Em nosso experimento, cada um dos 5 grupos experimentaram a mesma quantidade de fadiga a partir do protocolo de exercício excêntrico e não houve diferenças estatísticas entre os grupos acompanhados no pré e pós exercício. Houve uma redução acentuada na performance relacionada a contração voluntária máxima (CVM) do quadríceps entre 11% a 23% dos valores basais após a realização do protocolo de exercício excêntrico para induzir a fadiga. A recuperação começou aproximadamente 1 hora pós intervenção e com os grupos PBMT e PBMT+Crioterapia houve um retorno aos valores basais durante o período de 24 horas e no acompanhamento dos dados coletados, houve uma supercompensação para a adaptação observada.

Ambos os grupos PBMT e PBMT+Crioterapia melhoraram os tempos de recuperação, assim como alcançaram os valores basais de recuperação dentro de 24 horas após o exercício. O pico da adaptação foi alcançado em 24 horas após a recuperação e se manteve em ambos os

grupos até a conclusão do estudo em 96 horas. Os grupos Crioterapia, Crioterapia+PBMT e Placebo não alcançaram a recuperação até 96 horas nem se aproximaram do pico de adaptação. Ambos os grupos PBMT e PBMT+Crioterapia atingiram o pico de adaptação dentro de 24 horas e apresentaram 14% a 20% de aumento sobre os valores basais em comparação com os grupos Placebo, Crioterapia e Crioterapia+PBMT que ainda estavam 12% a 22% inferior a linha de base após 24 horas. A adição de PBMT a um programa de recuperação pós exercício garante que os atletas possam se recuperar completamente antes de uma nova sessão de treinamento, o que pode reduzir a incidência de lesões agudas ou por excesso de uso.

Com relação a CVM, não houve diferença estatística entre os grupos PBMT e PBMT+Crioterapia em qualquer tempo. Diferença estatística foi observada entre os grupos PBMT e PBMT+Crioterapia quando comparados aos grupos Crioterapia, Crioterapia+PBMT e Placebo em todos os tempos pós-exercício, exceto para o grupo Placebo em 1 hora. Um recente estudo indicou que a crioterapia pode ter efeitos negativos na adaptação ao treinamento (Yamane *et al.* 2006), isto pode implicar que o efeito do resfriamento de ambos os grupos Crioterapia e Crioterapia+PBMT prejudicou o início da recuperação como visto nos outros três grupos.

As mensurações de CVM fornecem uma compreensão do ritmo em que a recuperação ocorre e o grau de fadiga que afetou o atleta, porém, os biomarcadores de lesão muscular fornecem uma evidência mais qualitativa. Hohenauer *et al.* (2015) constataram que os dados obtidos a partir de 19 estudos não mostraram resultados significativos favorecendo o resfriamento em comparação a condição de controle durante as 72 horas no tempo de recuperação na atividade de CK.

A análise geral dos nossos resultados mostrou que as intervenções PBMT e PBMT+Crioterapia aceleraram significativamente a recuperação ($p < 0.05$) de 24 a 96 horas em comparação aos grupos Crioterapia, Crioterapia+PBMT e Placebo. Curiosamente, houve também uma significância estatística ($p < 0.05$) do grupo PBMT sobre o grupo PBMT+Crioterapia durante o pico de liberação de CK nos tempos de 24 e 48 horas. Indicando que o grupo PBMT foi melhor em minimizar a resposta catabólica do exercício excêntrico, minimizando a liberação de CK. A atividade de CK do grupo PBMT não teve mudança significativa se comparado a partir dos níveis basais até 96 horas, enquanto que nos grupos Placebo, Crioterapia e Crioterapia+PBMT quase dobrou a atividade de CK com o mesmo protocolo de exercício excêntrico.

Parece que a proteção contra o desenvolvimento do dano no músculo esquelético dos voluntários demonstrado em estudo prévio (Antoniali et al. 2014) com o mesmo dispositivo, configurações e dose foi quando PBMT foi utilizada antes da atividade. Embora o tratamento PBMT tanto pré e pós tenha acelerado o tempo de recuperação dos músculos afetados após exercício excêntrico, somente o tratamento pré foi capaz de reduzir a extensão da fadiga exibida pelo voluntário. No entanto, é possível que um mecanismo de ação diferente ocorra com PBMT realizado após a atividade.

Finalmente, com relação a dor, a pontuação da escala analógica visual (EVA) revelou um quadro diferente de recuperação por auto percepção de DOMS. O grupo PBMT teve significância estatística a partir dos tempos de 1 a 96 horas pós-exercício em comparação ao grupo Placebo. Na verdade, houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo PBMT e todos os grupos nos tempos de 1 a 72 horas pós-exercício com exceção do grupo PBMT+Crioterapia no tempo de 1 hora. O grupo PBMT+Crioterapia também teve significância estatística quando comparado aos grupos Placebo e Crioterapia de 1 a 48 horas e também contra o grupo Crioterapia+PBMT em 48 horas. Além disso, não houve diferenças entre os grupos Crioterapia, Crioterapia+PBMT e Placebo em qualquer tempo.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo, o uso apenas com o tratamento PBMT resultou numa maior recuperação pós-exercício e proporcionou uma maior redução da dor muscular tardia pós-exercício. O tratamento PBMT é seguro e com mínimas contraindicações. Isto pode servir para melhorar a performance atlética, minimizando o tempo de recuperação, reduzindo a resposta da fadiga muscular, retardando o aparecimento da fadiga e proteger os músculos contra o dano induzido pelo exercício enquanto acelera a recuperação pós-exercício.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque-Pontes GM, Vieira R de P, Tomazoni SS, Caires CO, Nemeth V, Vanin AA, Santos LA, Pinto HD, Marcos RL, Bjordal JM, de Carvalho P de T, Leal-Junior EC. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths, and application intervals of low-level laser therapy on cytochrome c oxidase activity in intact skeletal muscle of rats. *Lasers Med Sci.* 2015; 30: 59-66.
- Antoniali FC, De Marchi T, Tomazoni SS, Vanin AA, Dos Santos Grandinetti V, de Paiva PR, Pinto HD, Miranda EF, de Tarso Camillo de Carvalho P, Leal-Junior EC. Phototherapy in skeletal muscle performance and recovery after exercise: effect of combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes. *Lasers Med Sci.* 2014; 29: 1967-1976.
- Barnett, A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med.* 2006; 36: 781-796.
- Baroni BM, Leal Junior EC, De Marchi T, Lopes AL, Salvador M, Vaz MA. Low-level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2010; 110: 789-796.

- Basford JR, Sheffield CG, Harmsen WS. Laser therapy: a randomized, controlled trial of the effects of low-intensity Nd:YAG laser irradiation on musculoskeletal back pain. *Arch Phys Med Rehabil.* 1999; 80: 647-652.
- Bieuzen F, Bleakley CM, Costello JT. Contrast water therapy and exercise induced muscle damage: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE.* 2013; 8: e62356.
- Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Iversen VV. A randomized, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *Br J Sports Med.* 2006; 40: 76-80.
- Bleakley C, McDonough S, Gardner E, Baxter GD, Hopkins JT, Davison GW. Cold-water immersion (cryotherapy) for preventing and treating muscle soreness after exercise. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 2: CD008262.
- Borsa PA, Larkin KA, True JM. Does phototherapy enhance skeletal muscle contractile function and postexercise recovery? A systematic review. *J Athl Train.* 2013; Jan-Feb;48 (1):57-67.
- Brown L. *Isokinetics in human performance.* Champaign, IL: Human Kinetics. 2000.
- Chow RT, Heller GZ, Barnsley L. The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain.* 2006; 124: 201-210.
- Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet.* 2009; 374: 1897-1908.
- Corrêa JB, Pelegri S, Ambrosio RP, Afini LF, Minechelli LF, Liebano RE. Efeitos da crioterapia no momento máximo de força isometria do quadriceps. *Rev Bras Cie Mov.* 2012; 20: 99-105.
- de Almeida P, Lopes-Martins RA, Tomazoni SS, Silva Jr JA, de Carvalho PTC, Bjordal JM, Leal Junior EC. Low-level laser therapy improves skeletal muscle performance, decreases skeletal muscle damage and modulates mRNA expression of COX-1 and COX-2 in a dose-dependent manner. *Photochem Photobiol.* 2011; 87: 1159-1163.
- de Almeida P, Lopes-Martins RAB, De Marchi T, Tomazoni SS, Albertini R, Corrêa JCF, Rossi RP, Machado GP, da Silva DP, Bjordal JM, Leal Junior EC. Red (660 nm) and

infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? *Lasers Med Sci.* 2012; 27: 453-458.

De Marchi T, Leal Junior EC, Bortoli C, Tomazoni SS, Lopes-Martins RAB, Salvador M. Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers Med Sci.* 2012; 27: 231-236.

Edwards RH, Hill DK, Jones DA, et al. Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. *J Physiol.* 1977; 272:769-778.

Ferraresi C, de Brito Oliveira T, de Oliveira Zafalon L, de Menezes Reiff RB, Baldissera V, de Andrade Perez SE, Matheucci Júnior E, Parizotto NA. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers Med Sci.* 2011; 26: 349-358.

Goldman JA, Chiapella J, Casey H, Bass N, Graham J, McClatchey W, Dronavalli RV, Brown R, Bennett WJ, Miller SB, Wilson CH, Pearson B, Haun C, Persinski L, Huey H, Muckerheide M. Laser therapy of rheumatoid arthritis. *Lasers Surg Med.* 1980; 1: 93-101.

Grandinetti V dos S, Miranda EF, Johnson DS, de Paiva PR, Tomazoni SS, Vanin AA, Albuquerque-Pontes GM, Frigo L, Marcos RL, de Carvalho P de T, Leal-Junior EC. The thermal impact of phototherapy with concurrent super-pulsed lasers and red and infrared LEDs on human skin. *Lasers Med Sci.* 2015; 30: 1575-1581.

Gur A, Sarac AJ, Cevik R, Altindag O, Sarac S. Efficacy of 904 nm gallium arsenide low level laser therapy in the management of chronic myofascial pain in the neck: a double-blind and randomize-controlled trial. *Lasers Surg Med.* 2004; 35: 229-235.

Hayworth CR, Rojas JC, Padilla E, Holmes GM, Sheridan EC, Gonzalez-Lima F. In vivo low-level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. *Photochem Photobiol.* 2010 May-Jun; 86(3):673-80.

Hegedus B, Viharos L, Gervain M, Gálfi M. The effect of low-level laser in knee osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27: 577-584.

- Hohenauer E, Taeymans J, Baeyens JP, et al. The effect of post-exercise cryotherapy on recovery characteristics: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2015; 10: e0139028.
- Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low-level light therapy – An update. *Dose Response*. 2011; 9: 602-618.
- Konstantinovic LM, Kanjuh ZM, Milovanovic AN, Cutovic MR, Djurovic AG, Savic VG, Dragin AS, Milovanovic ND. Acute low back pain with radiculopathy: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Photomed Laser Surg*. 2010; 28: 553-560.
- Lane KN, Wenger HA. Effect of selected recovery conditions on performance of repeated bouts of intermittent cycling separated by 24 hours. *J Strength Cond Res*. 2004; 18:855-860.
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Baroni BM, De Marchi T, Rossi RP, Grosselli D, Generosi RA, de Godoi V, Basso M, Mancalossi JL, Bjordal JM. Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. *Photomed Laser Surg*. 2009; 27: 617-623.
- 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. Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers Med Sci*. 2009; 24: 857-863.
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, Baroni BM, Penna SC, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomed Laser Surg*. 2008; 26: 419-424.
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, Ramos L, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. *Eur J Appl Physiol*. 2010; 108: 1083-1088.
- Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Frigo L, De Marchi T, Rossi RP, de Godoi V, Tomazoni SS, da Silva DP, Basso M, Lotti Filho P, Corsetti FV, Iversen VV, Bjordal JM. Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to postexercise recovery. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2010; 40: 524-532.

- Leal Junior EC, Lopes-Martins RAB, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, de Godoi V, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM. Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers Surg Med.* 2009; 41: 572-577.
- Leal Junior EC, de Godoi V, Mancalossi JL, Rossi RP, De Marchi T, Parente M, Grosselli D, Generosi RA, Basso M, Frigo L, Tomazoni SS, Bjordal JM, Lopes-Martins RA. Comparison between cold water immersion therapy (CWIT) and light emitting diode therapy (LEDT) in short-term skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes--preliminary results. *Lasers Med Sci.* 2011; 26: 493-501.
- Leal Junior EC, Vanin AA, Miranda EF, de Carvalho P de T, Dal Corso S, Bjordal JM. Effect of phototherapy (low-level laser therapy and light-emitting diode therapy) on exercise performance and markers of exercise recovery: a systematic review with meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2015; 30: 925-939.
- Matheus JPC, Milani JGPO, Gomide LB, Volpon JB, Shimano AC. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. *Rev Bras Med Esporte.* 2008; 14: 372-375.
- Nemet D, Meckel Y, Bar-Sela S, Zaldivar F, Cooper DM, Eliakim A. Effect of local cold-pack application on systemic anabolic and inflammatory response to sprint-interval training: a prospective comparative trial. *Eur J Appl Physiol.* 2009; 107: 411-417.
- Noakes, TD. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand J Med Sci Sports* 2000; 10:123-145.
- Paolillo FR, Milan JC, Aniceto IV, Barreto SG, Rebelatto JR, Borghi-Silva A, Parizotto NA, Kurachi C, Bagnato VS. Effects of infrared-LED illumination applied during high-intensity treadmill training in postmenopausal women. *Photomed Laser Surg.* 2011; 29: 639-645.
- Paolillo FR, Corazza AV, Borghi-Silva A, Parizotto NA, Kurachi C, Bagnato VS. Infrared LED irradiation applied during high-intensity treadmill training improves maximal exercise tolerance in postmenopausal women: a 6-month longitudinal study. *Lasers Med Sci.* 2013; 28: 415-422.

- Paolillo FR, Corazza AV, Paolillo AR, Borghi-Silva A, Arena R, Kurachi C, Bagnato VS. Phototherapy during treadmill training improves quadriceps performance in postmenopausal women. *Climacteric*. 2013.
- Pastre CM, Bastos FN, Júnior JN, Vanderlei LCM, Hoshi RA. Métodos de recuperação pós-exercício: uma revisão sistemática. *Rev Bras Med Esporte*. 2009; 15: 138-144.
- Powers SK, Howley ET. *Exercise physiology: theory and application to fitness and performance*. New York, NY: McGraw-Hill. 2007.
- Ribeiro RS, Monteiro TV, Abdon APV. Estudo do efeito da utilização simultânea da crioterapia e do TENS nos pacientes portadores de lombalgia. *Rev Terapia Manual*. 2006; 4: 552-555.
- Ruiz DH, Myrer JW, Durrant E, Fellingham GW. Cryotherapy and sequential exercise bouts following cryotherapy on concentric and eccentric strength in the quadriceps. *J Athl Train*. 1993; 28: 320-323.
- Silva SA, Oliveira DJ, Jaques MJN, Araújo RC. Efeito da crioterapia e termoterapia associados ao alongamento estático na flexibilidade dos músculos isquiotibiais. *Rev Motricidade*. 2010; 6: 55-62.
- Stergioulas A, Stergioula M, Aarskog R, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Effects of low-level laser therapy and eccentric exercises in the treatment of recreational athletes with chronic achilles tendinopathy. *Am J Sports Med*. 2008; 36: 881-887.
- Toma RL, Tucci HT, Antunes HK, Pedroni CR, de Oliveira AS, Buck I, Ferreira PD, Vassão PG, Renno. Effect of 808 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in elderly women. *Lasers Med Sci*. 2013; 28(5): 1375-1382.
- Tomchuk D, Rubley MD, Holcomb WR, Guadagnoli M, Tarno JM. The magnitude of tissue cooling during cryotherapy with varied types of compression. *J Athl Train*. 2010; 45: 230-237.
- Tseng CY, Lee JP, Tsai YS, Lee SD, Kao CL, Liu TC, Lai C, Harris MB, Kuo CH. Topical cooling (icing) delays recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. *J Strength Cond Res*. 2013; 27: 1354-1361.
- Vieira WH, Ferraresi C, Perez SE, Baldissera V, Parizotto NA. Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2012; 27: 497-504.

- White GE, Wells GD. Cold-water immersion and other forms of cryotherapy: physiological changes potentially affecting recovery from high-intensity exercise. *Extrem Physiol Med.* 2013; 2: 26.
- Yamane M, Teruya H, Nakano M, et al. Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation. *Eur J Appl Physiol.* 2006; 96:572-580.
- Yanagisawa O, Miyanaga Y, Shiraki H, et al. The effects of various therapeutic measures on shoulder strength and muscle soreness after baseball pitching. *J Sports Med Phys Fitness* 2003; 43:189-201.

APÊNDICE I

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

I - Dados de identificação do Projeto

Título do Projeto: Efeitos isolados e combinados da fototerapia e crioterapia na recuperação muscular pós-exercício.

Pesquisador Responsável: Ernesto Cesar Pinto Leal Junior.

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE).

Telefone para contato: (11) 3385-9134.

II - Identificação do voluntário:

Nome_____.

Identidade (R.G.)_____Telefone: _____.

Sexo_____ Data de nascimento ____/____/____.

Endereço_____.

Cidade _____ Estado_____.

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa “Efeitos isolados e combinados da fototerapia e crioterapia na recuperação muscular pós-exercício”, de responsabilidade do pesquisador Ernesto Cesar Pinto Leal Junior.

III - Informações sobre a pesquisa:

1. Justificativa: Estudos recentes do nosso grupo de pesquisa com fototerapia têm demonstrado resultados positivos no retardo da fadiga do muscular e na recuperação de marcadores bioquímicos relacionados a recuperação muscular quando essas terapias foram aplicadas previamente ao exercício. Portanto, o estudo pretende induzir um músculo a fadiga através de um protocolo de exercício excêntrico acarretando a produção de fadiga, para que ocorra um aumento na concentração de uma enzima marcadora de lesão muscular para posterior análise sanguínea.

2. Objetivos: Identificar a sequência e/ou terapia ideal de tratamento na recuperação muscular pós-exercício, assim como avaliar os efeitos de diferentes terapias na recuperação muscular pós-exercício.

3. Métodos a serem utilizados: Serão selecionados 50 indivíduos saudáveis não-atletas do gênero masculino, caucasianos e com idade entre 18 e 35 anos, que aleatoriamente serão separados em 5 grupos experimentais de acordo com a terapia que forem receber. Os

grupos serão: (A) Placebo, (B) Fototerapia 39.37 J, (C) Crioterapia, (D) Crioterapia + Fototerapia 39.37 J e (E) Fototerapia 39.37 J + Crioterapia, sendo todos os tratamentos realizados 3 minutos após o protocolo de exercício excêntrico. Os indivíduos deverão realizar um alongamento com o joelho não dominante em extensão e após realizarão um aquecimento. Em seguida, será realizado o teste de contração voluntária máxima - CVM, que consistirá na execução de 3 contrações sem o movimento da articulação do joelho não-dominante com duração de 5s. Durante a execução da CVM os voluntários serão encorajados verbalmente, sendo realizado também imediatamente após (1 minuto) o protocolo de contrações excêntricas, bem como 1, 24, 48, 72 e 96 horas após o mesmo protocolo. Será realizada uma coleta sanguínea por um profissional de enfermagem, sempre fazendo uso de luvas esterilizadas, seringas e agulhas descartáveis. O material sanguíneo retirado em cada coleta sanguínea será de 5 ml, tanto na coleta basal quanto 1 minuto após o exercício de alongamento e aquecimento, e também 1, 24, 48, 72 e 96 horas. A dor muscular tardia será avaliada através da utilização da escala analógica visual de 100 mm. As avaliações serão realizadas previamente ao alongamento e aquecimento, 1 minuto após a execução do protocolo de contrações excêntricas, e também 1, 24, 48, 72, e 96 horas após a execução do protocolo.

4. Desconforto ou Riscos Esperados: O protocolo de exercício pode gerar desconforto muscular leve.

5. Informações: Em caso de eventuais dúvidas sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa, o voluntário deverá consultar o responsável deste estudo para os devidos esclarecimentos. A participação é voluntária e este consentimento poderá ser retirado a qualquer tempo, sem nenhum tipo de penalização ao voluntário.

6. Aspecto Legal: Este estudo foi elaborado de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução N.º196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

7. Garantia do Sigilo: Serão utilizados apenas os dados referentes à avaliação e intervenção, bem como imagens (não revelando a identidade do voluntário), porém, sempre respeitando a confidencialidade das informações geradas e a privacidade do voluntário na pesquisa.

8. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: O estudo não inclui qualquer despesa ou bônus ao participante.

9. Local da Pesquisa: O presente estudo será realizado no Laboratório de Fototerapia no Esporte e Exercício, da Universidade Nove de Julho, localizada na Rua Vergueiro, 235 – Liberdade, em São Paulo – SP. CEP: 01504-000. (11) 3385-9134.

10. Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da Uninove: Rua Vergueiro, 235 – Liberdade, em São Paulo – SP. CEP: 01504-000. Telefone: (11) 3385-9198.

IV – Consentimento pós-informado

Eu, _____, portador da Carteira de identidade nº. _____ expedida pelo Órgão _____, por me considerar devidamente informado (a) e esclarecido (a) sobre o conteúdo deste termo e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente expresse meu consentimento para inclusão, como sujeito da pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de 20_____.

Voluntário

Prof. Dr. Ernesto Cesar Pinto Leal Junior
Pesquisador Responsável

ANEXO I



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos isolados e combinados da fototerapia e crioterapia na recuperação muscular pós-exercício.

Pesquisador: Ernesto Cesar Pinto Leal Junior

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 24396313.8.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 470.174

Data da Relatoria: 25/11/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto tem como objetivo determinar os efeitos da fototerapia com lasers e LEDs e da crioterapia utilizadas isoladamente ou combinadas na recuperação muscular pós-exercício excêntrico de extensores de joelho em atletas de futebol. Será realizado um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e duplo-cego, com a participação voluntária de atletas de futebol de alto rendimento. Analisaremos parâmetros relativos ao desempenho físico dos voluntários (pico de torque /contração voluntária máxima - CVM), dor muscular tardia (DMT) através da escala visual analógica (EVA), marcador bioquímico de dano muscular (creatino quinase - CK), e marcador inflamatório (interleucina-6 ζ IL-6). As análises serão realizadas previamente ao protocolo de exercício excêntrico que será realizado para induzir a fadiga e o dano muscular, 1 minuto após, e após 1, 24, 48, 72 e 96 horas do término do protocolo. Os tratamentos com crioterapia e fototerapia (combinados ou isoladamente) serão realizados 3 minutos após a realização do exercício excêntrico e também após 24, 48 e 72 horas.

Objetivo da Pesquisa:

O presente projeto de pesquisa tem como objetivo determinar os efeitos da fototerapia com lasers e LEDs e da crioterapia utilizadas isoladamente ou combinadas na recuperação muscular pós exercício excêntrico de extensores de joelho em atletas de futebol de alto rendimento.

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9059

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 470,174

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O protocolo de exercício pode gerar desconforto muscular leve.

Benefícios: O voluntário não receberá nenhum tipo de remuneração referente à participação na pesquisa, não estando previstos nenhum tipo de indenização além das previstas por lei.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto muito bem desenhado metodologicamente que garante os aspectos éticos que envolvem as pesquisas com seres humanos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados de maneira adequada.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado

SAO PAULO, 27 de Novembro de 2013

Assinador por:
Stella Regina Zamuner
(Coordenador)

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9059

E-mail: comitedeetica@uninove.br

ANEXO II

ARTIGO:

de Paiva PR, Tomazoni S, Johnson D, Vanin A, Albuquerque-Pontes G, de Carvalho PT, Leal-Junior EC. Photobiomodulation therapy (PBMT) and/or cryotherapy in skeletal muscle restitution, what is better? A randomized placebo-controlled clinical trial. Br J Sports Med. 2016.

British Journal of Sports Medicine

British Journal of
Sports Medicine

Photobiomodulation therapy (PBMT) and/or cryotherapy in skeletal muscle restitution, what is better? A randomized placebo-controlled clinical trial

Journal:	<i>British Journal of Sports Medicine</i>
Manuscript ID	bjsports-2015-095888
Article Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	12-Dec-2015
Complete List of Authors:	de Paiva, Paulo Roberto; Nove de Julho University, Laboratory of Phototherapy in Sports and Exercise Tomazoni, Shaiane; University of Sao Paulo, Department of Pharmacology Johnson, Douglas; Multi Radiance Medical Vanin, Adriane; Nove de Julho University, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences Albuquerque-Pontes, Gianna; Nove de Julho University, Laboratory of Phototherapy in Sports and Exercise de Carvalho, Paulo de Tarso; Nove de Julho University, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences Leal-Junior, Ernesto Cesar; Nove de Julho University, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences

SCHOLARONE™
Manuscripts

Photobiomodulation therapy (PBMT) and/or cryotherapy in skeletal muscle restitution, what is better? A randomized placebo-controlled clinical trial

Paulo Roberto Vicente de Paiva^{1, 2}, Shaiane Silva Tomazoni³, Douglas Scott Johnson⁴,
Adriane Aver Vanin^{1, 5}, Gianna Mões Albuquerque-Pontes^{1, 2},
Paulo de Tarso Camillo de Carvalho^{1, 2, 5}, Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior^{1, 2, 5*}

1 - Laboratory of Phototherapy in Sports and Exercise, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo - SP, Brazil.

2 - Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE). São Paulo - SP, Brazil.

3 - Department of Pharmacology, University of São Paulo. São Paulo - SP, Brazil.

4 - Multi Radiance Medical, Solon - OH, USA.

5 - Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE). São Paulo - SP, Brazil.

*** Author for correspondence:**

Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior, Prof. Ph. D., PT.

Laboratory of Phototherapy in Sports and Exercise

Universidade Nove de Julho - UNINOVE.

Rua Vergueiro 235 - Postal Code: 01504-001, São Paulo - SP, Brazil

Telephone and Fax: + 55 11 3385-9134, E-mail: ernesto.leal.junior@gmail.com

Keywords: phototherapy, low-level laser therapy, light emitting diodes, performance, cryotherapy.

Word

count:

2997.

[https://mc.
manuscript
central.com
/bjasm](https://mc.manuscriptcentral.com/bjasm)

ABSTRACT

Background/Aim: Cryotherapy for post-exercise recovery remains widely used despite the lack of quality evidence. Photobiomodulation Therapy (PBMT) studies have demonstrated positive scientific evidence to suggest its use. The study aims to evaluate PBMT and cryotherapy as a single or combined treatment on skeletal muscle recovery after eccentric contractions of knee extensors.

Methods: Fifty healthy male volunteers were recruited and randomized into five groups (PBMT, Cryotherapy, Cryotherapy+PBMT, PBMT+Cryotherapy or Placebo) for a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial that evaluated exercise performance (maximum voluntary contraction - MVC), delayed onset muscle soreness (DOMS), and muscle damage (Creatine Kinase - CK). Assessments were performed at baseline, immediately after, and at 1, 24, 48, 72 and 96 hours. Comparator treatments was performed 3 minutes after exercise and repeated at 24, 48 and 72 hours. PBMT was applied with GameDay™ (905nm super-pulsed laser, 875nm and 640nm LEDs combined, Multi Radiance Medical™), and cryotherapy by flexible rubber ice packs.

Results: PBMT alone was optimal for post-exercise recovery with improved MVC, decreased DOMS and CK activity ($p < 0.05$) from 24 to 96 hours compared to placebo, cryotherapy and Cryotherapy+PBMT. In the PBMT+Cryotherapy group, the effect of PBMT was decreased ($p > 0.05$), but demonstrated significant improvement in MVC, decreased DOMS and CK activity ($p < 0.05$). Cryotherapy as single treatment and Cryotherapy+PBMT were similar to placebo ($p > 0.05$).

Conclusions: We conclude that PBMT used as single treatment is the best modality for enhancement of post-exercise restitution, leading to complete recovery to baseline levels from 24 hours after high-intensity eccentric contractions.

ht
tp
s:
//
m
c.
m
a
n
u
s
cr
ip
tc
e
nt
ra
l.
c
o
m
/b
js
m

INTRODUCTION

From professional to recreational, athletic performance whether training or competing requires imposes a large physiological demands on the body. Enoka and Duchateau [1] describe the development of muscle fatigue as a quantified decline in the maximal force or power capacity of muscle. Physiological recovery from fatigue is necessary to prevent overtraining and minimizing injuries and an often overlooked aspect of athletic performance.

While supportive evidence may be scarce or limited, massage,[2] water immersion,[3] contrast baths,[4] compressive garments, stretching [5] and cryotherapy [6] have been employed in clinical practice and generally accepted as beneficial. In clinical practice, it is not uncommon for suggested modalities to be performed as monotherapies or as adjuncts to other method, modalities or treatments.

Cryotherapy remains one of most popular and more often used modalities in the management of acute musculoskeletal injuries. A recently published systematic review [7] has challenged the effectiveness of cryotherapy for aiding in post exercise recovery. Despite the lack of scientific evidence for its use related to recovery, various cooling procedures are widely utilized by physicians, clinicians and laymen as a first means of reducing the delay on onset muscle soreness (DOMS) and minimizing muscular damage.

Two recent systematic reviews [8, 9] support the positive ergogenic effects of pre-activity exposure to photobiomodulation therapy (PBMT) by both low-level lasers and light emitting diode (LED) light sources. Furthermore, recent studies [10, 11] suggest that combining the use of multiple wavelengths and light sources before exercise can improve performance. The presence of strong positive evidence suggests a paradigm shift from using PBMT only following an injury for rehabilitation but now also as a means for prophylactic protection of skeletal muscles. With minimal contraindications, photobiomodulation offers a unique, non-invasive, non-pharmacological means to accelerate recovery from muscular fatigue and exercise-induced damage.

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjasm>

A few direct comparisons between PBMT and other physical agents [12, 13] have been published, but to our knowledge only one small animal trial [14] and one preliminary clinical trial [15] have directly compared cryotherapy to PBMT. With this perspective in mind, the aim of this study was to evaluate the effects of cryotherapy and PBMT on post-exercise recovery.

MATERIALS AND METHODS

Study design and ethics statement

A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial was performed at the Laboratory of Phototherapy in Sports and Exercise at Nove de Julho University in the city of São Paulo, Brazil. The project has received approval from the research ethics committee of Nove de Julho University (protocol number 470.174). This clinical trial was registered at clinicaltrials.gov with protocol number NCT02622971.

Characterization of sample

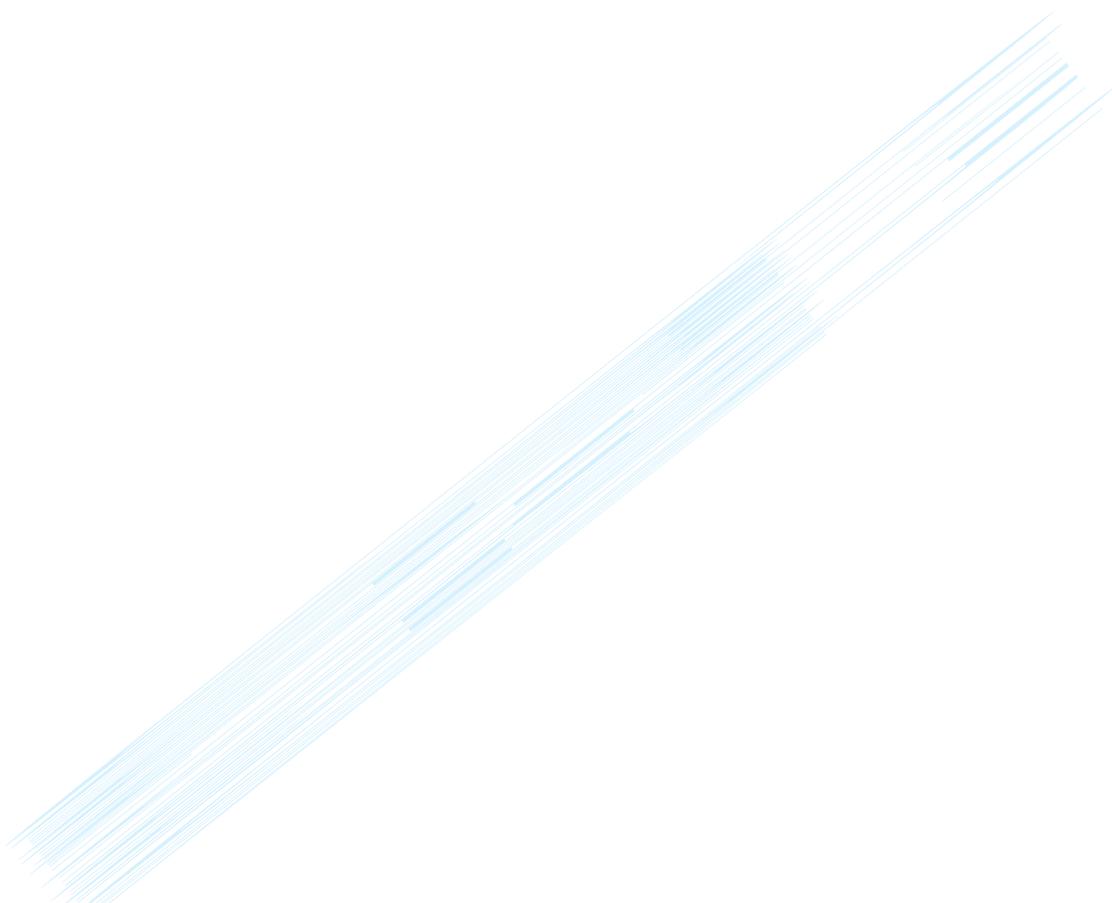
Sample size calculations were based on a previous study [11] that utilized the same PBMT device that observed positive significant improvement in maximum voluntary contraction (MVC), DOMS, and creatine kinase (CK). Fifty healthy untrained male subjects were recruited from university staff and students to participate in the study. All participants voluntarily agreed to participate and signed the informed consent statement. Despite no dropouts occurred in study, the intention-to-treat analysis was followed. CONSORT flowchart summarizing experimental procedures and subjects are showed in figure 1.

<<Figure 1>>

Inclusion criteria and exclusion criteria

Males between the ages of 18 and 25 were included in the study if they performed less than 2 exercise session per week. In some instances, the outcomes of PBMT may be

h
t
t
p
s
:
/
/
m
c
.
m
a
n
u
s
c
r
i
p
t
c
e
n
t
r
a
l
.
c
o
m
/
b
j
s
m



they presented with any musculoskeletal injury to hips or knees within the previous two months, were currently using pharmacological agents or nutritional supplements regularly, if a musculoskeletal injury during the study occurred or if they reported use of either alcohol or tobacco.

Composition of groups and randomization process

The volunteers were randomly allocated to five experimental groups (n=10 per group) according to the applied comparator. Randomization was carried out by a simple drawing of lots (A, B, C, D or E). The placebo PBMT devices were identical to the active devices and displayed the same settings and emitted the same sound regardless of the comparator. Randomization labels were created using a randomization table at a central office where a series of sealed, opaque, and numbered envelopes were used to ensure confidentiality. The researcher who programmed the PBMT devices according to the randomization results was instructed to not disclose the identity of the devices to anyone involved in the study. A different researcher applied the various comparators and was blinded to which devices provided active or placebo treatments to the volunteers.

Experimental protocol

Blood samples and biochemical analyses

Following the informative process and randomization, blood samples (10 ml) were taken by a qualified nurse blinded to the allocation of the volunteers to the five experimental groups from the antecubital vein to establish baseline values. Additional samples were collected at one minute, 1, 24, 48, 72 and 96 hours after the eccentric contraction protocol.

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjasm>

One hour after collection each sample was centrifuged at 3000 rpm for 20 minutes. Pipettes were used to transfer the serum to Eppendorf[®] tubes, which were stored at -80° C until analysis.

Spectrophotometry and specific reagent kits (Labtest[®], São Paulo - SP, Brazil) were utilized to analyze CK activity as an indirect marker of muscle damage. The researcher performing the blood analysis was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups.

Evaluation of Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS)

A visual analogue scale (VAS) of 100 mm was used as a self-rating of volunteers DOMS intensity, with assistance of a blinded researcher. DOMS assessments were performed at baseline, immediately after eccentric exercise protocol (1 minute), and were repeated at 1, 24, 48, 72 and 96 hours after the exercise protocol.

Stretching and warm up

Prior to the isokinetic protocol, each volunteers performed three 60-second sets of active stretching of the knee extensors of the non-dominant lower limb followed by a light warm up consisting of pedaling a stationary bike (Inbramed[®], Porto Alegre - RS, Brazil) at 100 rpm for five minutes without resistance.

Maximum voluntary contraction (MVC)

Immediately following the stretching and warm-up exercises, an eccentric exercise protocol was performed on an isokinetic dynamometer to measure MVC and evaluate muscle function. Volunteers were seated upright on the isokinetic dynamometer (System 4, Biodex[®], USA) with an angle of 100° between the trunk and hip and fixated by two straps crossing the trunk. The non-dominant leg was positioned with the knee at 60° of flexion (0° corresponds to complete knee extension) and fixated to the seat of the dynamometer by

straps. The dominant leg was positioned at 100° of hip flexion and fixated as well. The volunteers were instructed to cross their arms over the trunk and the axis of the dynamometer was positioned parallel to the center of the knee. The MVC test consisted of three five-second isometric contractions of the knee extensors of the non-dominant leg. The highest torque value of the three contractions (peak torque) was used for the statistical analysis. Instructions on how to execute the test were given first and the volunteers received verbal encouragement during the execution of the test. Despite the diversity of protocols proposed for the execution of eccentric exercises on isokinetic dynamometers, previous studies [17, 11] employing PBMT have utilized the same protocol and demonstrated reliability and reproducibility for exercise-induced muscle damage. The researcher that performed assessment of MVC was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups.

Eccentric exercise protocol

Precisely three minutes after baseline MVC, volunteers performed the eccentric contraction protocol which consisted of 75 eccentric isokinetic contractions of the knee extensor musculature in the non-dominant leg (5 sets of 15 repetitions, 30-second rest interval between sets) at a velocity of $60^{\circ}.\text{seg}^{-1}$ in both the eccentric and concentric movements with a 60° range of motion (between 90° and 30° of knee flexion). At each contraction, the dynamometer automatically (passively) positioned the knee at 30°; the dynamometer then flexed the knee until reaching 90°. The volunteers were instructed to resist against knee flexion movement imposed by the dynamometer with maximum force. Instructions on how to execute the maneuver were given first and the volunteers received verbal encouragement throughout the protocol. The researcher in charge was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups.

Treatments

All comparators tested were applied three minutes after eccentric exercise protocol. Comparators were repeated at 24, 48, and 72 hours following the collection of additional blood samples for CK analyses and MVC and DOMS assessments.

Photobiomodulation therapy (PBMT)

PBMT was applied employing a cordless, portable GameDay™ Super-Pulsed Laser (manufactured by Multi Radiance Medical, Solon – OH, USA) to 6 sites of quadriceps femoris in direct contact with the skin (2 centrally - rectus femoris and vastus intermedius; 2 laterally - vastus lateralis; and 2 medially - vastus medialis) (Figure 2). PBMT parameters were chosen based on parameters tested in a previous study.[11] The description of parameters is provided in table 1.

ht
tp:
s:
//
m
c.
m
a
n
u
s
cr
ip
tc
e
nt
ra
l.
c
o
m
/b
js
m

Table 1. Parameters for GameDay™ device.

Number of lasers	1 Super-pulsed infrared
Wavelength (nm)	905 (± 1)
Frequency (Hz)	1000
Peak power (W) - each	12.5
Average mean optical output (mW) - each	1.25
Power density (mW/cm^2) - each	2.84
Energy density (J/cm^2) - each	0.85
Dose (J) - each	0.375
Spot size of laser (cm^2) - each	0.44
Number of red LEDs	4 Red
Wavelength of red LEDs (nm)	640 (± 10)
Frequency (Hz)	2
Average optical output (mW) - each	15
Power density (mW/cm^2) - each	16.67
Energy density (J/cm^2) - each	5
Dose (J) - each	4.5
Spot size of red LED (cm^2) - each	0.9
Number of infrared LEDs	4 Infrared
Wavelength of infrared LEDs (nm)	875 (± 10)
Frequency (Hz)	16
Average optical output (mW) - each	17.5
Power density (mW/cm^2) - each	19.44
Energy density (J/cm^2) - each	5.83
Dose (J) - each	5.25
Spot Size of LED (cm^2) - each	0.9
Magnetic Field (mT)	35
Irradiation time per site (sec)	300
Total dose per site (J)	39.37
Aperture of device (cm^2)	4
Application mode	Cluster probe held stationary in skin contact with a 90-degree angle and slight pressure

<<Figure 2>>

The optical power was checked before irradiation in each volunteer using a Thorlabs thermal power meter (Model S322C, Thorlabs[®], Newton - NJ, USA). The researcher that performed PBMT was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental

groups.

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjasm>

Cryotherapy

Two flexible rubber ice packs filled with ice cubes and water (with a volume of 1.15 liters each) were used in order to cover the entire quadriceps. Rubber belts were used to apply compression and to affix the packs tightly to the volunteers' quadriceps. As for duration of cryotherapy, there is good [18, 19] and fair evidence [20] that support cryotherapy should not exceed 20 minutes. Therefore, the application of ice was limited to 20 minutes total. The researcher that performed cryotherapy was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups.

Combined comparators (Cryotherapy+PBMT and PBMT+Cryotherapy groups)

Two of the five groups had combined comparators, however they were delivered sequentially and not concurrently. Each modality was applied as described in earlier section, however, the sequence of comparators was changed to verify if the order of the application did have an impact on the outcomes. Therefore, one group had PBMT applied before cryotherapy and the other had the order reversed (PBMT+Cryotherapy or Cryotherapy+PBMT). The researcher that performed combined was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups.

Placebo treatment

The placebo PBMT device was identical to the active devices and displayed the same settings and emitted the same sound regardless of the comparator. The treatment was performed by a blinded researcher.

Statistical analysis

The intention-to-treat analysis was followed. The primary outcome was the peak torque obtained from MVC at different time-points. Secondary outcomes were VAS and

CK. The researcher that performed statistical analysis was blinded to randomization and allocation of volunteers in experimental groups. Data were firstly tested regarding normal distribution using Shapiro-Wilk test and were expressed as mean and standard deviation. ANOVA test with repeated measurements for the time factor were performed to test between-groups differences (followed by Bonferroni *post hoc* test). The significance level was set at $p < 0.05$.

RESULTS

Fifty healthy, untrained male subjects were recruited in our study and completed all procedures, there weren't dropouts. They had average age of 24.98 years old (± 5.90), height of 176.00 cm (± 7.00) e and body weight of 76.77 kg (± 12.26). Table 2 reports all outcomes regarding functional and biochemical aspects of performance and recovery that we observed in our study.

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjsm>

Table 2. Functional and biochemical markers of performance and recovery (mean \pm SD).

	Pre	Post	1 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
MVC (N.m)	Placebo	258.24 (\pm 30.81)	211.59 (\pm 29.50)	210.84 (\pm 20.76)	221.24 (\pm 22.93)	224.18 (\pm 16.16)	234.25 (\pm 22.12)	250.05 (\pm 21.91)
	PBMT	256.31 (\pm 12.51)	228.64 (\pm 12.91)	234.88 (\pm 31.08) ^{b,c}	289.34 (\pm 34.88) ^{a,b,c}	287.24 (\pm 32.71) ^{a,b,c}	275.91 (\pm 27.56) ^{a,b,c}	293.71 (\pm 32.32) ^{a,b,c}
	Cryotherapy	241.34 (\pm 20.82)	204.65 (\pm 8.87)	186.69 (\pm 24.09)	213.89 (\pm 17.37)	209.41 (\pm 16.96)	215.39 (\pm 23.26)	234.38 (\pm 34.40)
	Cryotherapy + PBMT	232.13 (\pm 30.90)	199.53 (\pm 29.71)	181.88 (\pm 15.85)	183.36 (\pm 20.05) ^{a,b}	196.69 (\pm 16.52)	204.25 (\pm 22.88) ^a	217.54 (\pm 28.01) ^a
	PBMT + Cryotherapy	253.46 (\pm 30.17)	215.65 (\pm 18.47)	208.96 (\pm 15.12)	283.59 (\pm 26.61) ^{a,b,c}	265.26 (\pm 20.90) ^{a,b,c}	266.55 (\pm 17.49) ^{a,b,c}	305.46 (\pm 35.08) ^{a,b,c}
VAS (mm)	Placebo	0.00 (\pm 0.00)	3.84 (\pm 1.73)	3.68 (\pm 1.84)	4.10 (\pm 1.94)	4.68 (\pm 2.09)	2.36 (\pm 1.94)	1.66 (\pm 1.80)
	PBMT	0.00 (\pm 0.00)	3.76 (\pm 1.10)	1.36 (\pm 1.03) ^{a,b,c}	0.91 (\pm 0.87) ^{a,b,c,d}	0.45 (\pm 0.71) ^{a,b,c,d}	0.19 (\pm 0.37) ^{a,b,c,d}	0.06 (\pm 0.14) ^a
	Cryotherapy	0.00 (\pm 0.00)	4.30 (\pm 1.90)	4.18 (\pm 1.81)	4.79 (\pm 1.57)	5.89 (\pm 1.30)	2.93 (\pm 2.42)	1.41 (\pm 1.26)
	Cryotherapy + PBMT	0.00 (\pm 0.00)	3.19 (\pm 0.94)	3.03 (\pm 0.98)	3.83 (\pm 1.49)	4.59 (\pm 0.96)	1.93 (\pm 0.85)	0.75 (\pm 0.64)
	PBMT + Cryotherapy	0.00 (\pm 0.00)	3.16 (\pm 0.86)	1.89 (\pm 1.35) ^{a,b}	2.53 (\pm 0.44) ^{a,b}	2.86 (\pm 0.69) ^{a,b,c}	1.81 (\pm 1.30)	0.45 (\pm 0.44)
CK (U.L-1)	Placebo	44.11 (\pm 7.77)	51.30 (\pm 6.79)	56.92 (\pm 16.86)	100.84 (\pm 13.66)	118.91 (\pm 12.45)	99.55 (\pm 10.38)	99.47 (\pm 11.01)

PBMT	51.01 (± 12.35)	55.53 (± 15.58)	56.69 (± 16.03)	54.63 (± 16.65) ^{a,b,c,d}	56.55 (± 17.63) ^{a,b,c,d}	52.35 (± 16.26) ^{a,b,c}	43.66 (± 16.30) ^{a,b,c}
Cryotherapy	43.96 (± 7.43)	42.85 (± 7.42)	46.37 (± 6.03)	118.62 (± 13.85)	118.61 (± 18.77)	100.72 (± 16.78)	89.90 (± 13.17)
Cryotherapy + PBMT	46.02 (± 11.46)	43.97 (± 15.04)	58.19 (± 20.90)	105.56 (± 18.60)	106.87 (± 17.70)	97.60 (± 23.04)	91.93 (± 17.40)
PBMT + Cryotherapy	44.54 (± 19.72)	49.49 (± 17.70)	46.45 (± 19.23)	78.99 (± 22.97) ^{a,b,c}	78.97 (± 21.43) ^{a,b,c}	67.94 (± 19.06) ^{a,b,c}	58.53 (± 15.61) ^{a,b,c}

Different of placebo (p<0.05); ^b Different of cryotherapy (p<0,05); ^c Different of cryotherapy + PBMT (p<0,05); ^d Different of PBMT + cryotherapy (p<0,05).

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjasm>

Figure 3 demonstrates that PBMT significantly increased ($p < 0.05$) MVC compared to placebo from 24 to 96 hours. PBMT+Cryotherapy presented similar outcomes, however, cryotherapy used as single treatment and Cryotherapy+PBMT were similar to the placebo ($p > 0.05$).

<<Figure 3>>

Significant differences ($p < 0.05$) were observed between PBMT as single treatment and placebo-control group regarding DOMS from 1 to 96 hours after eccentric exercise protocol ($p < 0.05$). PBMT+Cryotherapy just showed positive results in decreased pain from 1 to 48 hours after eccentric exercise contractions compared to placebo-control. Cryotherapy used as single treatment and Cryotherapy+PBMT were similar ($p > 0.05$) to placebo (Figure 4).

<<Figure 4>>

Volunteers treated with PBMT as single treatment did not experience the expected increase in CK activity following the eccentric exercise protocol with significant difference ($p < 0.05$) compared to placebo-control from 24 to 96 hours. When PBMT was followed by cryotherapy (PBMT+Cryotherapy), there was a noted decrease in efficacy compared to PBMT only, however, it was still significantly better than placebo ($p < 0.05$). Cryotherapy used as single treatment and Cryotherapy+PBMT were similar ($p > 0.05$) to the effects seen by the placebo group (Figure 5).

<<Figure 5>>

ht
tp
s:
//
m
c.
m
a
n
u
s
cr
ip
tc
e
nt
ra
l.
c
o
m
/b
js
m

DISCUSSION

The aim of recovery is to accelerate the body adaptation to physical and psychological stress (fatigue).[21] With full recovery often requiring several days to reverse.[22] A successful training program increases athletic performance using SAID (specific adaptation imposed demand) principles. As the result, the training program requires high physiological demand to the body thus it creates fatigue as the body's adaptation to the demand.[23] The important factor ultimately is whether we can find recovery methods that enhance the ability of an athlete to perform again to their previous standard, following a fatiguing bout of exercise or competition.[21]

PBMT, while the use for post exercise recovery is novel, has growing evidence to support its use.[8,9] Antonialli et al.[11] found that prophylactic used of combined super-pulsed laser and LEDs prior to eccentric exercise decreased muscular fatigue, accelerated recovery and modulated the CK activity. These early findings support the novel use of PBMT in skeletal muscle recovery as a probable alternative to other currently used modalities. PBMT improves performance by reducing the fatigue experienced during activity by increasing cytochrome c activity and the available ATP present following exposure to light.[24, 25] This "pre-treatment" appears to provide skeletal muscle protection from exercise-induced tissue damage.[8]

While cryotherapy exhibits a notable influence on key inflammatory events at a cellular and physiological level after an acute soft tissue injury, overall, the evidence supporting cryotherapy as a recovery modality is weak.[7] There is some indication of cryotherapy effectiveness over recovery periods relevant to training session intervals following exercise that may be more representative of the training than that used to induce DOMS.[26, 27] Therefore, its use and effectiveness as a means of recovery may be questionable.

In a prior study, Leal-Junior et al.[15] compared the short-term effects of cold-water immersion therapy (CWIT) and PBMT with LEDs on futsal players performing Wingate

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjssm>

cycle test. The cryotherapy (with CWIT, 5°C of temperature, for five minutes) or PBMT (with LEDs, 660 and 850 nm, 41.7 J for ten locations of the leg for 30 seconds per point) was administered following the test. While the work performed by all groups was the same, measurements taken post intervention revealed that the PBMT was able to inhibit the expected post-exercise increase in blood lactate levels and CK activity. It was suggested that PBMT was more effective than 5 minutes of CWIT for improving short-term post exercise recovery. However, a larger more robust trial was needed.

In our experiment, each of the five groups experienced the same amount of fatigue from the eccentric exercise protocol and there were no statistical differences between groups at pre and post-exercise follow-up. There was a marked drop in performance relating MVC of the quadriceps between 11 to 23% of baseline following the eccentric exercise protocol to induce fatigue was performed. Recovery began approximately 1-hour post intervention and with the PBMT and PBMT+Cryotherapy groups there was a return to baseline during the 24 hours period and at the follow up data collection, there was a super compensation for adaption noted.

Both PBMT and PBMT+Cryotherapy groups improved recovery times as both groups reached baseline recovery within 24 hours following the exercise. The peak of adaption was reached at 24 hours following the recovery and was maintained in both groups until the conclusion of the study at 96 hours. The Cryotherapy, Cryotherapy+PBMT and Placebo groups did not reach recovery until 96 hours nor did they approach the adaptation peak. Both PBMT and PBMT+Cryotherapy groups reached peak adaption within 24 hours and exhibited 14 to 20% increases over baseline as compared to the Placebo, Cryotherapy and Cryotherapy+PBMT groups that were still 12% to 22% under baseline at 24 hours. The addition of PBMT to a post-exercise recovery program ensures athletes can recover fully prior to the commencement of a new training session, which may reduce the incidence of acute or overuse injuries.

Statistical difference was noted between the PBMT and PBMT+Cryotherapy groups compared to Cryotherapy, Cryotherapy+PBMT and Placebo at all post-exercise time points with the exception of the Placebo group at 1 hour. A recent study indicated that cryotherapy may have negative effects on adaption to training,[28] this may implicate that the cooling effect of both Cryotherapy and Cryotherapy+PBMT groups has impaired the start of recovery as seen in the other three groups.

Regarding CK, the overall analysis of our outcomes shows that PBMT and PBMT+Cryotherapy interventions significantly accelerated recovery ($p<0.05$) from 24 to 96 hours compared to Cryotherapy, Cryotherapy+PBMT, and Placebo groups. Interestingly, there was also a statistical significance ($p<0.05$) of the PBMT group over the PBMT+Cryotherapy group during peak CK release at the 24 and 48 hours time points. Indicating that the PBMT group was better able to minimize the catabolic response to the eccentric exercise by minimizing the release of CK.

Finally, with regards to pain, VAS scores reveal a different picture of recovery by self-perception of DOMS. The PBMT group has statistical significance from 1 to 96 hours post-exercise time points compared to placebo group. Indeed, there was statistical significant difference between PBMT group and all groups from 1 to 72 hours post-exercise time points with the exception of PBMT+Cryotherapy group at the 1 hour time point. The PBMT+Cryotherapy group also has statistical significance when measured against the Placebo and Cryotherapy groups from 1 to 48 hours, and also against the Cryotherapy+PBMT group at 48 hours.

CONCLUSION

In this study, the use of PBMT as single treatment provided superior post-exercise recovery and provided the greatest reduction in DOMS post-exercise. PBMT treatment is safe and with minimal contraindications. This may serve to improve athletic performance by minimizing recovery time by reducing the muscular fatigue response, delay the onset of

fatigue, and protect muscles from exercise-induced damage while accelerating post exercise recovery.

FUNDING

Professor Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior would like to thank Sao Paulo Research Foundation - FAPESP (grant number 2010/52404-0) and Brazilian Council for Science and Technology Development - CNPq (grants number 472062/2013-1 and 307717/2014-3). Paulo Roberto Vicente de Paiva would like to thank Sao Paulo Research Foundation-FAPESP master degree scholarship (grant number 2014/04557-2). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

COMPETING INTERESTS

Professor Ernesto Cesar Pinto Leal-Junior receives research support from Multi Radiance Medical (Solon, OH - USA), a laser device manufacturer. Douglas Scott Johnson is an employee and shareholder of Multi Radiance Medical (Solon, OH - USA). Multi Radiance Medical didn't have any role in trial planning, data collection or data interpretation. The remaining authors declare that they have no conflict of interests.

REFERENCES

1. Enoka RM, Duchateau J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *J Physiol* 2008;586:11-23.
2. Lightfoot JT, Char D, McDermott J, et al. Immediate postexercise massage does not attenuate delayed onset muscle soreness. *J Strength Cond Res* 1997;11:119-124.
3. Halson Shona L, Bartram J, West N, et al. Does hydrotherapy help or hinder adaptation to training in competitive cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 2014;46:1631-1639.
4. Cochrane DJ. Alternating hot and cold water immersion for athlete recovery: a review. *Phys Ther Sport* 2004;5:26-32.
5. Nelson AG, Driscoll NM, Landin DK, et al. Acute effects of passive muscle stretching on sprint performance. *J Sports Sci* 2005;23:449-454.
6. Isabell WK, Durrant E, Myrer W, et al. The effects of ice massage, ice massage with exercise, and exercise on the prevention and treatment of delayed onset muscle soreness. *J Athl Train* 1992;27:208-217.
7. Hohenauer E, Taeymans J, Baeyens JP, et al. The effect of post-exercise cryotherapy on recovery characteristics: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2015;10:e0139028.
8. Leal-Junior EC, Vanin AA, Miranda EF, et al. Effect of phototherapy (low-level laser therapy and light-emitting diode therapy) on exercise performance and markers of exercise recovery: a systematic review with meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2015;30:925-939.
9. Borsa PA, Larkin KA, True JM. Does phototherapy enhance skeletal muscle contractile function and postexercise recovery? A systematic review. *J Athl Train* 2013;48:57-67.

10. Miranda EF, Leal-Junior EC, Marchetti PH, et al. Acute effects of light emitting diodes therapy (LEDT) in muscle function during isometric exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease: preliminary results of a randomized controlled trial. *Lasers Med Sci* 2014;29:359-365.
11. Antonialli FC, De Marchi T, Tomazoni SS, et al. Phototherapy in skeletal muscle performance and recovery after exercise: effect of combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes. *Lasers Med Sci* 2014;29:1967-1976.
12. Núñez SC, Garcez AS, Suzuki SS, et al. Management of mouth opening in patients with temporomandibular disorders through low-level laser therapy and transcutaneous electrical neural stimulation. *Photomed Laser Surg* 2006;24:45-49.
13. Oliveira P, Sperandio E, Fernandes KR, et al. Comparison of the effects of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound on the process of bone repair in the rat tibia. *Rev Bras Fisioter* 2011;15:200-205.
14. Da Costa Santos VB, de Paula Ramos S, Milanez VF, et al. LED therapy or cryotherapy between exercise intervals in wistar rats: anti-inflammatory and ergogenic effects. *Lasers Med Sci* 2014;29:599-605.
15. Leal Junior EC, de Godoi V, Mancalossi JL, et al. Comparison between cold water immersion therapy (CWIT) and light emitting diode therapy (LEDT) in short-term skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes--preliminary results. *Lasers Med Sci* 2011;26:493-501.
16. Grandinetti Vdos S, Miranda EF, Johnson DS, et al. The thermal impact of phototherapy with concurrent super-pulsed laser and red and infrared LEDs on human skin. *Lasers Med Sci* 2015;30:1575-1581.
17. Baroni BM, Leal Junior EC, De Marchi T, et al. Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *Eur J Appl Physiol* 2010;110:789-796.

18. Graham CA, Stevenson J. Frozen chips: an unusual cause of severe frostbite injury. *Br J Sports Med* 2000;34:382-383.
19. Moeller JL, Monroe J, McKeag DB. Cryotherapy-induced common peroneal nerve palsy. *Clin J Sport Med* 1997;7:212-216.
20. Bassett FH 3rd, Kirkpatrick JS, Engelhardt DL, et al. Cryotherapy-induced nerve injury. *Am J Sports Med* 1992;20:516-518.
21. Barnett, A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports Med* 2006;36:781-796.
22. Edwards RH, Hill DK, Jones DA, et al. Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. *J Physiol* 1977;272:769-778.
23. Noakes, TD. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand J Med Sci Sports* 2000;10:123-145.
24. Hayworth CR, Rojas JC, Padilla E, et al. In vivo low-level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. *Photochem Photobiol* 2010;86:673-680.
25. Albuquerque-Pontes GM, Vieira Rde P, Tomazoni SS, et al. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths, and application intervals of low-level laser therapy on cytochrome c oxidase activity in intact skeletal muscle of rats. *Lasers Med Sci* 2015;30:59-66.
26. Yanagisawa O, Miyanaga Y, Shiraki H, et al. The effects of various therapeutic measures on shoulder strength and muscle soreness after baseball pitching. *J Sports Med Phys Fitness* 2003;43:189-201.
27. Lane KN, Wenger HA. Effect of selected recovery conditions on performance of repeated bouts of intermittent cycling separated by 24 hours. *J Strength Cond Res* 2004;18:855-860.

28. Yamane M, Teruya H, Nakano M, et al. Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation. *Eur J Appl Physiol* 2006;96:572-580.

LEGENDS OF FIGURES

Figure 1: CONSORT flowchart.

Figure 2: Sites of PBMT irradiation on quadriceps.

Figure 3: MVC in absolute and percentage values. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). ^a indicates significant difference compared to placebo ($p<0.05$), ^b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p<0.05$), ^c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p<0.05$).

Figure 4: DOMS assessment using 100 mm VAS. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). ^a indicates significant difference compared to placebo ($p<0.05$), ^b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p<0.05$), ^c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p<0.05$), ^d indicates significant difference compared to PBMT+Cryotherapy ($p<0.05$).

Figure 5: CK activity. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). ^a indicates significant difference compared to placebo ($p<0.05$), ^b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p<0.05$), ^c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p<0.05$), ^d indicates significant difference compared to PBMT+Cryotherapy ($p<0.05$).

<https://mc.manuscriptcentral.com/bjsm>

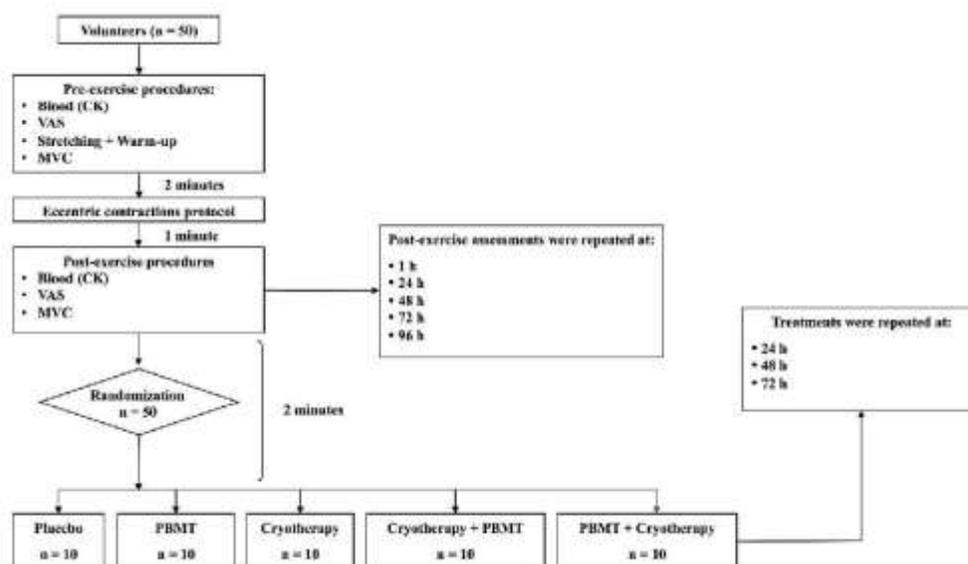


Figure 1: CONSORT flowchart.
266x161mm (300 x 300 DPI)

ht
tp
s:
//
m
c.
m
a
n
u
s
cr
ip
tc
e
nt
ra
l.
c
o
m
/b
js
m



Figure 2: Sites of PBMT irradiation on quadriceps. 136x237mm (300 x 300 DPI)

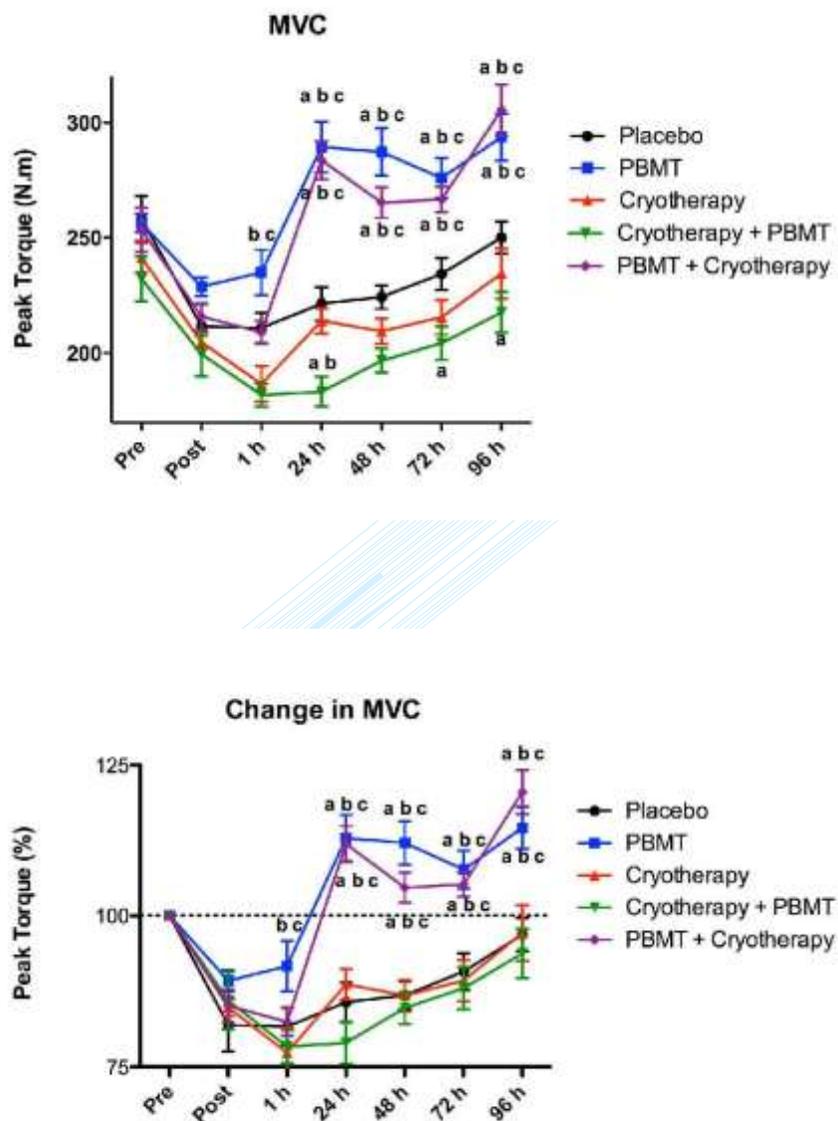


Figure 3: MVC in absolute and percentage values. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). a indicates significant difference compared to placebo ($p < 0.05$), b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p < 0.05$), c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p < 0.05$).
224x300mm (300 x 300 DPI)

ht
tp
s:
//
m
c.
m
a
n
u
s
c
r
i
p
t
c
e
n
t
r
a
l.
c
o
m
/b
j
s
m

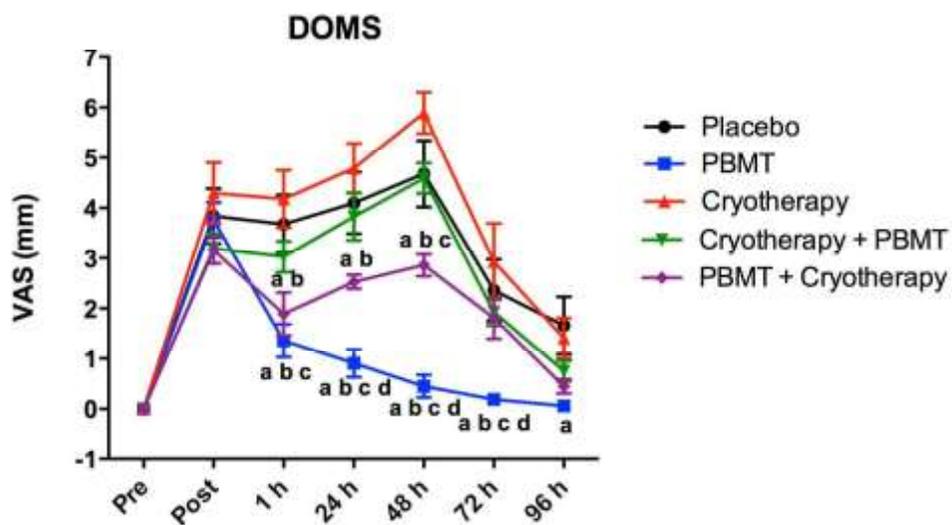


Figure 4: DOMS assessment using 100 mm VAS. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). a indicates significant difference compared to placebo ($p < 0.05$), b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p < 0.05$), c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p < 0.05$), d indicates significant difference compared to PBMT+Cryotherapy ($p < 0.05$).

155x94mm (300 x 300 DPI)

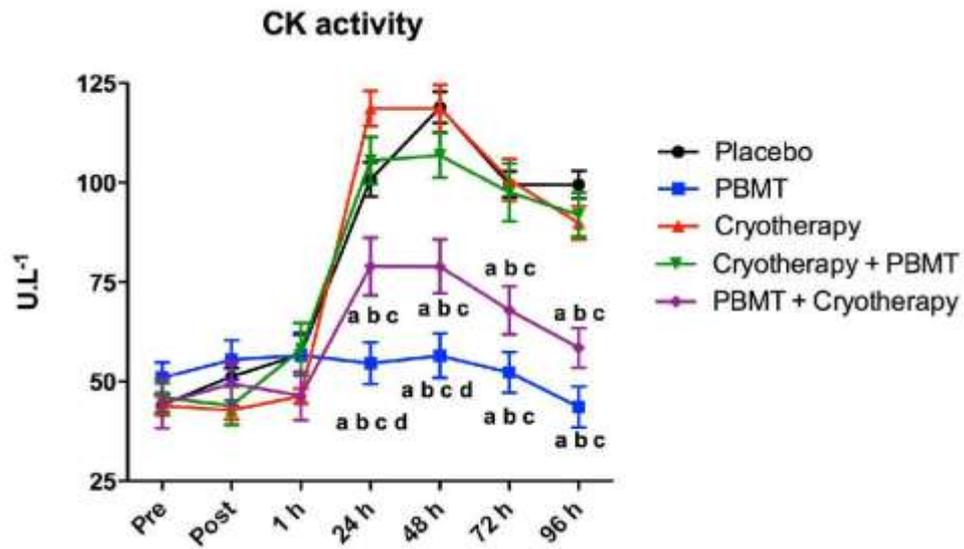


Figure 5: CK activity. Values are mean and error bars are standard error of the mean (SEM). a indicates significant difference compared to placebo ($p < 0.05$), b indicates significant difference compared to Cryotherapy ($p < 0.05$), c indicates significant difference compared to Cryotherapy+PBMT ($p < 0.05$), d indicates significant difference compared to PBMT+Cryotherapy ($p < 0.05$).

158x94mm (300 x 300 DPI)