

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
REABILITAÇÃO**

Lucas Capalonga

**Capacidade Funcional em Ratos com
Insuficiência Cardíaca: Caracterização
do Modelo de Infarto do Miocárdio e
Efeitos da Estimulação Elétrica
Neuromuscular e da Terapia com Diodo
Emissor de Luz**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2014**

Lucas Capalonga

**Capacidade Funcional em Ratos com
Insuficiência Cardíaca: Caracterização
do Modelo de Infarto do Miocárdio e
Efeitos da Estimulação Elétrica
Neuromuscular e da Terapia com Diodo
Emissor de Luz**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, com requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Reabilitação.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Dal Lago
Coorientador: Prof. Dr. Marlus Karsten

**Porto Alegre
2014**

Catalogação na Publicação

Capalonga, Lucas

Capacidade Funcional em Ratos com Insuficiência Cardíaca: Caracterização do Modelo de Infarto do Miocárdio e Efeitos da Estimulação Elétrica Neuromuscular e da Terapia com Diodo Emissor de Luz / Lucas Capalonga.

-- 2014.

111 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, 2014.

Orientador(a): Pedro Dal Lago ; coorientador(a): Marlus Karsten.

1. Insuficiência Cardíaca. 2. Eletroterapia. 3. Fototerapia. 4. Consumo de Oxigênio. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado forças durante esta caminhada.

Agradeço à minha família por todo o apoio e compreensão.

Agradeço à família do Sr. Ênio Tiecher, em especial ao Fábio Júnior Tiecher. Sabes que se não fosse pelo teu auxílio nada disso poderia ter acontecido.

À minha namorada Gabriela Tiecher, principalmente pela compreensão, apoio e companhia em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins, sempre com uma palavra inteligente articulada na hora e no momento certo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Dal Lago por toda a confiança depositada desde o início desta jornada. Obrigado pela oportunidade de poder fazer parte deste grupo de enorme renome e por ter acreditado no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Marlus Karsten, que chegou junto comigo na UFCSPA trazendo uma bagagem incrível de conhecimento que, associada à sua disponibilidade e dedicação, me ensinou muito sobre o que é ser um professor e pesquisador.

Ao colega Me. Douglas Dalcin Rossato, por toda a troca de experiências.

Ao colega Me. Vítor Scotta Hentschke, que não mediu esforços para me auxiliar no que fosse preciso, foi um grande mestre não apenas nos ensinamentos dos procedimentos de laboratório, mas também em mostrar que a pessoa, quanto mais sábia, mais humilde deve se tornar.

Ao aluno de iniciação científica Maurício Dornelles, por todo o empenho e dedicação prestados neste período.

RESUMO

Introdução: A insuficiência cardíaca (IC) compromete a capacidade funcional e leva ao surgimento de fadiga, dispneia e intolerância ao exercício. **Objetivos:** (i) caracterizar o modelo de IC em ratos *Wistar* submetidos à cirurgia de indução do infarto do miocárdio (IM) através da capacidade funcional e do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{ máx}}$); e (ii) comparar os efeitos de 8 semanas de intervenção com terapia com diodo emissor de luz (LEDT), isolada ou combinada com a estimulação elétrica neuromuscular (EENM), sobre a função hemodinâmica, capacidade funcional e potência aeróbia de ratos com IC. **Métodos:** Estudo 1) foram utilizados ratos *Wistar* machos (230-280g), distribuídos em dois grupos: *Sham* (n=5) e IC (n=4); Estudo 2: ratos *Wistar* machos foram distribuídos em 4 grupos: *Sham* (n=6), Controle-IC (n=4), LEDT-IC (n=6) e LEDT+EENM-IC (n=7). Os animais foram submetidos a teste de exercício com análise de gases em esteira acoplada à caixa metabólica para ratos (AVS Projetos, São Carlos, SP, Brasil), com protocolo incremental realizado em três momentos (pré-IM, 6 e 14 semanas após IM). O IM foi induzido por ligadura da artéria coronária esquerda. Na análise estatística usou-se teste t não pareado, ANOVA de um fator ou ANOVA de dois fatores para medidas repetidas, seguidos de post hoc (Student-Newman-Keuls), ($p \leq 0,05$). **Resultados:** não houve diferença entre os grupos no momento pré-IM. Estudo 1) comparando-se os ratos *Sham* com os IC na 14ª semana, os ratos *Sham* apresentaram valores maiores de $VO_{2\text{ máx}}$ $57,8 \pm 4,0$ vs. $45,3 \pm 14,4$ ml/kg/min⁻¹ ($p=0,038$), distância percorrida $390,2 \pm 58,9$ vs. $275,1 \pm 95,9$ m ($p=0,023$) e duração do teste $1058,4 \pm 80,6$ vs. $862,7 \pm 180,8$ s ($p=0,035$). Estudo 2) comparando-se a 14ª com a 6ª semana, os grupos LEDT-IC e LEDT+EENM-IC apresentaram comportamento semelhante ao grupo *Sham* nas variáveis velocidade, duração de teste e distância percorrida, que foram maiores ($p \leq 0,05$) do que no grupo Controle-IC. Além disso, o grupo LEDT+EENM-IC apresentou diminuição no $VO_{2\text{ máx}}$ $46,7 \pm 10,7$ vs. $55,3 \pm 6,2$ ml/kg/min⁻¹ ($p=0,045$), e aumento na distância percorrida $256,5 \pm 73,7$ vs. $205,7 \pm 75,9$ m ($p=0,047$) e na duração do teste $819,1 \pm 147,3$ vs. $699,7 \pm 176,6$ s ($p=0,018$). **Conclusões:** este modelo de IC em ratos *Wistar* promove alteração da capacidade funcional e potência aeróbia; as intervenções promoveram atenuação dos efeitos deletérios da IC; e a intervenção LEDT+EENM foi capaz de incrementar a capacidade funcional apesar da diminuição na potência aeróbia em ratos com IC.

Palavras-chave: Insuficiência Cardíaca, Eletroterapia, Fototerapia, Consumo de Oxigênio.

ABSTRACT

Introduction: Heart failure (HF) compromises the functional capacity and leads to the appearance of fatigue, dyspnea, and exercise intolerance. **Aims:** (i) characterize the model of HF in rats undergoing surgical induction of myocardial infarction (MI) through the functional capacity and maximal oxygen consumption ($\text{VO}_{2\text{ max}}$); and (ii) compare the effects of 8 weeks of intervention with light emitting diode therapy (LEDT), alone or combined with neuromuscular electrical stimulation (NMES) on hemodynamic function, functional capacity and aerobic power in rats with HF. **Methods:** *Study 1*) were used male Wistar rats (230-280g) were divided into two groups: *Sham* (n=5) and HF (n=4); *Study 2*) Male Wistar rats were divided into 4 groups: *Sham* (n=6), Control-HF (n=4), LEDT-HF (n=6) and LEDT+NMES-HF (n=7). The animals were subjected to an exercise test with gas analysis coupled in the metabolic box for rats (AVS Projects, São Carlos, SP, Brazil), with incremental protocol performed at three time points (pre-MI, 6 and 14 weeks after MI). The MI was induced by ligation of the left coronary artery. In the statistical analysis using unpaired t test, one-way ANOVA or two-way ANOVA for repeated measures followed by post hoc (Student-Newman-Keuls), ($p \leq 0.05$). **Results:** There was no difference between groups in the pre-MI. *Study 1*) comparing the *Sham* rats with HF at 14 weeks, the *Sham* rats showed higher $\text{VO}_{2\text{ max}}$ 57.8 ± 4.0 vs. 45.3 ± 14.4 ml/kg/min⁻¹ ($p=0.038$), distance traveled 390.2 ± 58.9 vs. 275.1 ± 95.9 m ($p=0.023$) and the test duration 1058.4 ± 80.6 vs. 862.7 ± 180.8 s ($p=0.035$). In *Study 2*, comparing the 14th with the 6th week, the LEDT-HF and LEDT+NMES-HF group was similar to *Sham* group behavior in variable speed, test duration and distance traveled, which were higher ($p \leq 0.05$) than in the Control-HF group. In addition, the LEDT+NMES-HF group showed a decrease in $\text{VO}_{2\text{ max}}$ 46.7 ± 10.7 vs. 55.3 ± 6.2 ml/kg/min⁻¹ ($p=0.045$), and increased distance walked 256.5 ± 73.7 vs. 205.7 ± 75.9 m ($p=0.047$) and the duration of the test 819.1 ± 147.3 vs. 699.7 ± 176.6 s ($p=0.018$). **Conclusions:** This model of HF in rats leads to changes in functional capacity and aerobic power; interventions promoted mitigating the deleterious effects of HF; and intervention LEDT+NMES was able to increase the functional capacity despite a decline in aerobic power in rats with HF.

Keywords: Heart failure, Electrotherapy, Phototherapy, Oxygen uptake

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração demonstrando as formas de propagação da onda de luz com dois comprimentos de onda distintos	39
Figura 2 - Comprimentos de onda que permitem maior absorção da energia luminosa pelos tecidos biológicos	40
Figura 3 - Diagrama conceitual comparando a estrutura da onda de luz contínua e pulsada em diferentes durações de pulso	41
Figura 4 - Representação do mecanismo de ação da fototerapia sobre os tecidos biológicos	44
Figura 1 Artigo – Valores de capacidade funcional pre IM, 6 ^a e 14 ^a semana após o IM, nos grupos <i>Sham</i> (<i>Sham</i> , n=5) e Insuficiência Cardíaca (IC, n=4).....	94
Figura 2 Artigo – Efeito das intervenções (LEDT; LEDT+NMES) sobre a capacidade funcional em diferença de percentual (Δ).....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Protocolos de Terapia com Diodo Emissor de Luz (LEDT) e Estimulação Elétrica Neuromuscular (EENM)	89
Tabela 2 – Características basais da capacidade funcional de ratos Wistar	90
Tabela 3 – Peso corporal, relação entre o peso corporal com o peso dos ventrículos direito e esquerdo, características de área de infarto, congestão pilmonar e hepática de ratos <i>Sham</i> e de ratos IC	91
Tabela 4 – Variáveis hemodinâmicas	92
Tabela 5 – Valores relacionados à capacidade funcional após a 6 ^a e a 14 ^a semana de seguimento	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AET	Treinamento aeróbio (Aerobic exercise training)
ANOVA	Análise da variância (Analysis of variance)
ATP	Trifosfato de adenosina
BW	Peso corporal (Body weight)
CO ₂	Dióxido de carbono
DNA	Ácido desoxirribinucleico
dP/dt max-	Derivada de relaxamento (LV minimum change in pressure over time)
dP/dt max+	Derivada de contração (LV maximum change in pressure over time)
EENM	Estimulação elétrica neuromuscular
FC	Frequência cardíaca
Hz	Hertz
IC	Insuficiência cardíaca
IL-10	Interleucina-10
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IM	Infarto do miocárdio
IMT	Treinamento Muscular Inspiratório (Inspiratory muscle training)
KHz	Quilo Kilohertz
LASER	Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação (Light amplification by stimulated emission of radiation)
LBP	Laser de baixa potência
LED	Diodo emissor de luz (Light emitting diode)
LEDT	Terapia por diodo emissor de luz (<i>Light emitting diode therapy</i>)
LLLT	Terapia por laser de baixa potência (Low level laser therapy)
LV	Ventrículo esquerdo (Left ventricle)
LVEDP	Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (Left ventricle end diastolic pressure)

LVSP	Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (Left ventricle systolic pressure)
MI	Infarto do miocárdio (Myocardial Infarction)
NaCl	Cloreto de sódio
nm	Nanômetro
NMES	Estimulação elétrica neuromuscular (Neuromuscular electrical stimulation)
nNOS	Enzima óxido nítrico sintase neural
O ₂	Oxigênio
PCR	Proteína C reativa
PO ₂	Pressão parcial de oxigênio
PVN	Núcleo paraventricular
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
ROS	Espécie reativa de oxigênio
RV	Ventrículo direito (Right ventricle)
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VCO ₂	Produção de dióxido de carbono
VO _{2 baseline}	Consumo de oxigênio basal
VO _{2 máx}	Consumo máximo de oxigênio
VO _{2 pico}	Consumo de oxigênio de pico
VO ₂	Consumo de oxigênio

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	13
 2 REVISÃO DE LITERATURA - CONTEXTUALIZAÇÃO	18
2.1 FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	18
2.2 SINTOMAS DECORRENTES DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: INTOLERÂNCIA AOS ESFORÇOS E FADIGA	19
2.3 ALTERAÇÕES NO CONTROLE AUTONÔMICO NA IC: MECANISMOS REFLEXOS E HIPÓTESE MUSCULAR	20
2.4 MODELO ANIMAL DE ESTUDO EM IC: VISÃO GERAL E EVIDÊNCIAS SOBRE ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOS CENTRAL ASSOCIADAS À HIPERATIVIDADE SIMPÁTICA, NÍVEIS SISTÊMICOS E MUSCULARES DE CITOCINAS.....	21
2.5 ELETROTERRAPIA.....	24
2.5.1 Princípios Físicos e Fisiologia da Estimulação Neuromuscular.....	26
2.5.1.1 Ativação das fibras musculares	26
2.5.2 Efeitos Dos Diferentes Parâmetros	27
2.5.2.1 Corrente	27
2.5.2.2 Frequência	27
2.5.2.3 Formas de pulso.....	28
2.5.2.4 Duração ou largura de pulso	28
2.5.2.5 Amplitude ou intensidade	29
2.5.2.6 Ciclo de trabalho	29
2.5.2.7 Rampas (subida, sustentação e descida).....	29
2.5.3 NMES (Neuromuscular Electrical Stimulation)	30
2.5.4 NMES no Modelo de Insuficiência Cardíaca	30
2.6 FOTOTERRAPIA	33
2.6.1 Princípios Físicos, Propriedades e Classificação	34
2.6.2 Parâmetros de Tratamento.....	36
2.6.2.1 Potência ou potência de saída	36

2.6.2.2 Energia ou dose	36
2.6.2.3 Área do emissor	37
2.6.2.4 Área de irradiação	37
2.6.2.5 Densidade de potência, intensidade ou irradiância	37
2.6.2.6 Densidade de energia ou fluência	38
2.6.2.7 Comprimento de onda	38
2.6.3 Fatores que Influenciam na Dose da Fototerapia.....	40
2.6.3.1 Modo de aplicação (contínuo ou pulsado).....	40
2.6.3.2 Técnica de aplicação (estacionária ou varredura)	42
2.6.3.3 Tempo de aplicação	42
2.6.4 Interação com o Tecido Biológico	43
2.7 USO COMBINADO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NEUROMUSCULAR E FOTOTERAPIA NA IC.....	48
 3 REFERENCIAS DA REVISÃO	50
4 ARTIGO	64
 5 CONCLUSÃO GERAL.....	96
 ANEXOS	97
ANEXO A – Normas de formatação do periódico <i>Laser in Medical Science</i>	98
ANEXO B – Parecer do CEUA	109

1 INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) é caracterizada pela inadequada função do coração em manter o fluxo sanguíneo necessário às atividades metabólicas do organismo, devido à disfunção ventricular esquerda que resulta em alterações hemodinâmicas e limitação da capacidade funcional, podendo desencadear os fatores limitantes como fadiga, dispneia e intolerância ao exercício (DUSCHA *et al.*, 2008; DE LEON *et al.*, 2011).

Teoricamente, qualquer doença cardíaca pode resultar, em última instância, na IC. Em muitos casos, porém, o insulto causador permanece desconhecido (VON HAEHLING *et al.*, 2009). Inicialmente definida a partir do modelo cardiocirculatório ou hemodinâmico, caracterizado por uma “bomba cardíaca insuficiente”, a IC tem sido relacionada com um modelo mais complexo, que envolve o conceito de ativação de vias neuroendócrinas, imunológicas e metabólicas (PACKER, 1993; KAPADIA *et al.*, 1998). Dessa forma, a IC é, atualmente, reconhecida como uma desordem multissistêmica que afeta, além do sistema cardiovascular, outros sistemas, como o renal, o neuro-humoral e, em especial, o musculoesquelético e o imunológico (SETA *et al.*, 1996; SHARMA *et al.*, 2000; YNDESTAD *et al.*, 2006; VON HAEHLING *et al.*, 2009; PIEPOLI *et al.*, 2010b).

A IC é uma das principais epidemias que afetam a saúde pública e é uma das poucas condições de saúde com aumento da prevalência em países desenvolvidos. É um grande fardo para a sociedade devido a pior qualidade de vida e morte prematura dos indivíduos acometidos, gerando altos custos com cuidados médicos, tornando-se a principal causa de admissão hospitalar naqueles com idade acima dos 65 anos (MAY *et al.*, 2013). Nos Estados Unidos estima-se que 5,7 milhões dos americanos sofram de insuficiência cardíaca e existe uma previsão de que mais três milhões sofrerão de IC até 2030 (ROGER *et al.*, 2012).

No Brasil, a IC é responsável por 31% das internações por doença cardiovascular e 4% do total de internações. Segundo o Ministério da Saúde do

Brasil, o tempo médio de internação hospitalar é de 5,8 dias, com uma taxa de mortalidade por infecções hospitalares em torno de 5,6 a 6%, gerando um custo superior aos 200 milhões de reais (ANDRADE *et al.*, 2013). Portanto, a IC representa um grave problema de saúde pública, sendo considerada uma epidemia emergente (FLAHERTY *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos, cerca de 4% da população sofre de IC, conseqüentemente gerando um custo superior a 20 bilhões de dólares anuais (BOCCHI *et al.*, 2012). Em 2010, cerca de 785 mil norte-americanos tiveram um evento coronariano e cerca de 470 mil sofreram um episódio recorrente. Ao apresentar-se num estágio crônico, com frequentes períodos de agudização, os quais normalmente requerem hospitalização, esta síndrome mostra-se como causa de um enorme consumo de recursos humanos, técnicos e econômicos. Importa destacar que a IC apresenta taxa de mortalidade de 50% nos primeiros 5 anos após o diagnóstico (ROGER *et al.*, 2011).

Em estudo prévio, foi descrito que, quanto maior o nível educacional e a classe ocupacional, menor o risco de IC. Alguns fatores de risco, tais como diabetes, obesidade e hipertensão, foram amplamente associados ao menor nível de educação, além de serem mais prevalentes em donas de casa e aposentados (BENDERLY *et al.*, 2013). Provavelmente, esse fato associa-se com a aquisição de piores hábitos alimentares, bem como com os avanços na ciência e na tecnologia, que promovem mudanças no estilo de vida, levando a um comportamento sedentário.

Sabe-se que 70% dos custos diretos e indiretos gerados por pacientes com IC são produzidos em suas reinternações nas unidades hospitalares, que frequentemente acontecem, não somente pela evolução da doença, mas em grande parte, pela baixa adesão ao tratamento proposto, seja farmacológico ou não-farmacológico (DICKSTEIN *et al.*, 2008). Nas últimas três décadas, o número de altas hospitalares de pacientes com IC triplicou, sendo que esse aumento provavelmente se explique pelo envelhecimento da população, melhora da sobrevida após IAM e melhor prevenção de morte súbita de origem cardíaca (HUGLI *et al.*, 2005; FANG *et al.*, 2008). Além disso, a melhora no

tratamento do infarto do miocárdio (IM) e na prevenção secundária têm resultado no aumento da taxa de sobrevivência dos pacientes que sofrem com doença arterial coronariana (DAC), seguida por um aumento na prevalência de IC ao longo das últimas décadas (BENDERLY *et al.*, 2013).

Apesar do considerável progresso no conhecimento da gênese da IC, não há consenso na literatura quanto ao maior responsável pelos principais sintomas encontrados em pacientes com IC. Partindo dessa premissa, parece haver, de fato, um somatório de eventos, tanto centrais como periféricos, que conduzem estes pacientes para um estado de incapacidade funcional e piora na qualidade de vida.

A maioria dos programas de reabilitação para pacientes com IC está baseada nos exercícios aeróbico e resistido, que continuam sendo um padrão de cuidado destes pacientes (ARENA *et al.*, 2010). No entanto, estes exercícios provocam um aumento no débito cardíaco que não pode ser alcançado por todos os pacientes e, em geral, são adequados apenas para aqueles com um grau de IC moderadamente avançado (DOBSAK *et al.*, 2006b). Entretanto, novas estratégias de treinamento estão sendo descritas, tais como o treinamento muscular inspiratório (DALL'AGO *et al.*, 2006; JAENISCH *et al.*, 2011) e a estimulação elétrica neuromuscular (EENM), que requer menor capacidade funcional do que o treinamento físico clássico (VAQUERO *et al.*, 1998; HARRIS *et al.*, 2003; DOBSAK *et al.*, 2006a; DOBSAK *et al.*, 2006b; DE LEON *et al.*, 2011; DOBSAK *et al.*, 2012).

Importa destacar que novos dados sobre o sucesso da aplicação da estimulação elétrica na reabilitação de pacientes com IC têm sido publicados (KARAVIDAS *et al.*, 2008). Esta modalidade de tratamento aumenta a capacidade funcional, o desempenho e a potência muscular total, bem como a qualidade de vida (HARRIS *et al.*, 2003; DELEY *et al.*, 2008; ARENA *et al.*, 2010).

Além das modalidades terapêuticas supracitadas, cabe destaque a utilização da fototerapia, que pode ser aplicada na forma de LBP (Laser de

Baixa Potência) ou LED (Diodo Emissor de Luz). Esta modalidade tem sido amplamente utilizada na prática clínica com o objetivo de aliviar a dor, reduzir a inflamação e estimular a cicatrização, com uma resposta dose-dependente (AIMBIRE *et al.*, 2006; LOPES-MARTINS *et al.*, 2006). Os principais efeitos relacionados à fototerapia são baseados no metabolismo das mitocôndrias, que desempenham um importante papel na produção de energia. Estudos sugerem que esta terapia, quando aplicada sobre mitocôndrias isoladas, leva a um aumento do potencial eletroquímico, da síntese de RNA e proteínas, do consumo de oxigênio (VO_2), do potencial de membrana mitocondrial e da síntese de NADH (Nicotinamida Adenine Dinucleotídeo Hidreto) e ATP (Trifosfato de Adenosina) (HUANG *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2011). As pesquisas relacionadas à fototerapia estão se expandindo e, recentemente, as suas principais metas incluíram o retardo no desenvolvimento de fadiga muscular e a prevenção de lesões musculares (LEAL-JUNIOR *et al.*, 2013).

Partindo deste pressuposto, muitas das avaliações requerem procedimentos invasivos que impossibilitam a utilização de seres humanos. Por isso, torna-se importante o uso de animais de experimentação para aprimorarmos o conhecimento.

Modelos animais de insuficiência cardíaca são extensivamente usados na literatura científica com o objetivo de estudar a fisiopatologia dessa síndrome e de avaliar drogas experimentais e terapias não-farmacológicas (HASENFUSS, 1998; BATISTA *et al.*, 2010). Várias alterações são evidentes neste modelo, tais como: o comprometimento das funções sistólica e diastólica, aumento da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) em repouso e durante o exercício, menor pressão arterial média, menor frequência cardíaca máxima, menores valores de VO_2 de pico, intolerância ao exercício e remodelamento cardíaco (BATISTA *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2008). Portanto, considera-se que o modelo de ligadura da artéria coronária descendente anterior esquerda desenvolve IC experimental de forma semelhante à IC em humanos (HASENFUSS, 1998).

A justificativa deste estudo baseia-se na necessidade de parâmetros basais de capacidade funcional e medidas de desempenho, que possam ser utilizados na comparação entre animais saudáveis com aqueles que foram submetidos às diferentes terapias empregadas, bem como para demonstrar o efeito real da técnica de indução do IM para induzir ao surgimento, em longo prazo, das principais características clínicas da síndrome, como o comprometimento da capacidade funcional. Portanto, é necessário realizar esta pesquisa para destacar a importância de um acompanhamento ao longo do tempo das mudanças na capacidade funcional, causadas pela indução cirúrgica de infarto do miocárdio, bem como para descrever os parâmetros da linha de base quando se pretende manter o controle em relação a uma determinada intervenção.

Com base nas evidências científicas de que: 1) o modelo de infarto do miocárdio leva ao comprometimento da função hemodinâmica, desencadeando os principais sintomas de fadiga, dispneia e intolerância ao exercício; 2) a EENM aplicada à musculatura periférica pode reverter grande parte das alterações observadas na musculatura esquelética e levar ao incremento da capacidade funcional em indivíduos e em modelos experimentais de IC por meio de ações como: hipertrofia, aumento da atividade das enzimas oxidativas, aumento do número e tamanho das mitocôndrias, aumento do fluxo sanguíneo e da capilarização da região estimulada, e indução de modificações na composição das fibras musculares e na expressão do GLUT-4 (Transportador de glicose tipo-4); e 3) a fototerapia (LEDT) tem ação anti-inflamatória, aumenta a performance e retarda o desenvolvimento de fadiga muscular, bem como a circulação para os tecidos, a presente proposta tem como objetivo:

- Caracterizar o modelo de ratos Wistar submetidos à cirurgia de indução do infarto do miocárdio (IM) através da capacidade funcional e do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{ máx}}$);
- Comparar os efeitos de dois programas de intervenção (LEDT isolado e combinado com a EENM) sobre a função hemodinâmica e a capacidade funcional de ratos com IC.

2 REVISÃO DE LITERATURA – CONTEXTUALIZAÇÃO

2.1 FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A visão tradicional de que a IC seja um conjunto de sinais e sintomas causados pelo inadequado funcionamento cardíaco, se concentra em apenas um aspecto da fisiopatologia envolvida nessa síndrome. Atualmente, a IC é considerada uma síndrome clínica, que apresenta em sua progressão um somatório de alterações estruturais, funcionais e biológicas (JESSUP & BROZENA, 2003). Dentre estas modificações, estão presentes alguns mecanismos que ocorrem em virtude da disfunção miocárdica levando a diminuição do débito cardíaco e subsequente baixa perfusão tecidual como, por exemplo, ativação neuro-humoral, representada pelo aumento da atividade simpática e redução parassimpática; aumento da atividade do sistema renina angiotensina aldosterona (FLORAS, 2009; TRIPOSKIADIS *et al.*, 2009; MAY *et al.*, 2013); elevados níveis plasmáticos de norepinefrina (COHN *et al.*, 1984), e dessensibilização dos barorreceptores arteriais, que reduz a capacidade da regulação pressórica momento-a-momento (ZUCKER *et al.*, 2001; IELLAMO *et al.*, 2007).

Embora este mecanismo compensatório auxilie na manutenção da homeostasia em curto prazo, cronicamente o incremento da atividade do sistema neuro-humoral leva a maior deterioração e progressão da insuficiência cardíaca, bem como a um pior prognóstico (MAY *et al.*, 2013).

A resposta inflamatória também está modificada em indivíduos com IC, demonstrada pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina-1 beta (IL-1 β), a interleucina-6 (IL-6) e a proteína C reativa (PCR). Em contrapartida, os níveis de mediadores anti-inflamatórios estão diminuídos na IC, o que resulta em um desequilíbrio do sistema imunológico (GWECHENBERGER *et al.*, 2004;

GULLESTAD & AUKRUST, 2005; NUNES *et al.*, 2008). O monitoramento das concentrações desses fatores pode, inclusive, identificar o risco de agravamento da doença (GWECHENBERGER *et al.*, 2004). Petretta e colaboradores (PETRETTA *et al.*, 2000) demonstraram que a concentração de IL-6 e TNF- α foi mais alta em pacientes cardiopatas da classe funcional IV quando comparados aos pacientes das classes II e III, sendo que a ordem crescente das classes funcionais (I, II, III e IV) está diretamente associada ao maior grau de comprometimento do doente. Por outro lado, experimentos conduzidos em ratos transgênicos com produção excessiva de TNF- α demonstraram que o aumento da atividade pró-inflamatória desenvolveu cardiomiopatia nesses animais, evidenciando o prejuízo cardíaco associado ao desequilíbrio das respostas inflamatórias (KUBOTA *et al.*, 1997).

2.2 SINTOMAS DECORRENTES DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: INTOLERÂNCIA AOS ESFORÇOS E FADIGA

Os principais sintomas da IC são dispneia e fadiga, que podem limitar a tolerância ao exercício, e retenção hídrica, que pode levar à congestão pulmonar, cardíaca e ao edema periférico (JESSUP & BROZENA, 2003; FERREIRA *et al.*, 2009; HUNT *et al.*, 2009). A maioria dos pacientes com IC apresenta experiências de fadiga, fraqueza muscular e intolerância ao exercício (DREXLER *et al.*, 1992; LUNDE *et al.*, 2001; PIEPOLI *et al.*, 2001). Essas características são, em parte, decorrentes das alterações na musculatura esquelética desses pacientes (SELYE *et al.*, 1960; DREXLER *et al.*, 1992; LUNDE *et al.*, 2001).

Anormalidades metabólicas como a dependência precoce do metabolismo anaeróbio, a depleção excessiva das ligações de fosfato, bem como a excessiva e também precoce acidificação intramuscular tem sido descritas (ADAMOPOULOS *et al.*, 1993). Neste sentido, Wilson e colaboradores (WILSON *et al.*, 1993) sugeriram que uma proporção

significativa de pacientes com IC apresenta intolerância ao exercício, sem evidência de diminuição de perfusão tecidual, mas com respostas anormais nos índices de lactato, o que sugere a presença de alterações intrínsecas do músculo esquelético.

2.3 ALTERAÇÕES NO CONTROLE AUTÔNOMICO NA IC: MECANISMOS REFLEXOS E HIPÓTESE MUSCULAR

O aumento na atividade do sistema nervoso simpático (SNS), principal determinante na evolução da IC, é provocado por alterações no *feedback* aferente autonômico, através dos quimiorreceptores, sensibilização dos ergorreceptores e dessensibilização dos barorreceptores (MARIN-NETO *et al.*, 1991).

Um aumento na sensibilidade do quimiorreflexo tanto para o CO₂ (principalmente a nível central – medula) como para a hipóxia (nível periférico – artérias carótidas) é frequentemente encontrado em pacientes com IC em uma prevalência de até 60%, independente do tratamento otimizado (GIANNONI *et al.*, 2008). Este mecanismo reflexo está associado com alterações na resposta ventilatória ao exercício ou respiração de *Cheyne-Stokes*, independente do grau de disfunção sistólica do ventrículo esquerdo (CHUA *et al.*, 1996). O aumento na sensibilidade quimiorreflexa pode desencadear fibrilação atrial e arritmias ventriculares (PONIKOWSKI *et al.*, 2001). Grande parte desses efeitos negativos são mediados por um aumento no *drive* simpático associado com uma retirada parassimpática, tanto no repouso quanto durante o exercício devido à exagerada atividade dos quimiorreceptores (STICKLAND *et al.*, 2008).

O sistema ergorreflexo muscular detecta os produtos metabólicos do músculo esquelético em exercício. Sua principal função é modular as respostas hemodinâmica, ventilatória e autonômica durante o exercício e manter a homeostasia entre o trabalho muscular e a suplementação de energia para

realiza-lo. A resposta desencadeada pelo aumento da atividade dos ergorreceptores é um aumento na ventilação, na pressão arterial e na frequência cardíaca (PIEPOLI *et al.*, 1995). Esse reflexo é, provavelmente, sensibilizado por uma acidose muscular encontrada em pacientes com IC durante o exercício, induzindo a um elevado *drive* ventilatório de forma anormal, com vasoconstrição e ativação simpática. As alterações metabólicas do músculo esquelético na IC podem ser causadas por vários fatores, tais como: atrofia muscular, ativação muscular comprometida, fluxo sanguíneo reduzido, alterações intrínsecas do músculo e efeitos do descondicionamento (PIEPOLI *et al.*, 2010a).

O aumento na atividade do controle ergorreflexo tem sido apontado com uma das possíveis explicações para os sintomas de fadiga e intolerância ao esforço dos pacientes com IC, isso instigou alguns pesquisadores a proporem a *hipótese muscular* para explicar a fadiga precoce nessa população (COATS, 1996; PIEPOLI *et al.*, 2010b).

O barorreflexo arterial é um potente reflexo inibitório com maior controle sobre a atividade do sistema nervoso simpático em repouso (MAY *et al.*, 2013). O comprometimento do sistema barorreflexo leva a um reduzido efeito de tamponamento do componente cardíaco vagal, mantendo a hiperatividade simpática levando à piora da resposta hemodinâmica ao exercício (IELAMO *et al.*, 2007).

As alterações nos sistemas químico, baro e ergorreflexo, além de suas inter-relações, ajudam a explicar a sustentada ativação simpática em repouso, a resposta ventilatória aumentada durante o exercício e a origem da dispneia de esforço em pacientes com IC (PIEPOLI *et al.*, 2010a).

2.4 MODELO ANIMAL DE ESTUDO EM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: VISÃO GERAL E EVIDÊNCIAS SOBRE ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL ASSOCIADAS À HIPERATIVIDADE SIMPÁTICA, NÍVEIS SISTÊMICOS E MUSCULARES DE CITOCINAS

Modelos animais de insuficiência cardíaca são bem aceitos e permitem estudos com tamanho amostral adequado em um relativo curto espaço de tempo, devido ao curto período de desenvolvimento da síndrome, de quatro a seis semanas (HASENFUSS, 1998).

Existem diversos modelos experimentais descritos na literatura. Entre esses modelos, um dos mais difundidos e com maior número de evidências sobre as alterações cardíacas e periféricas em decorrência da IC é o modelo de ligadura da artéria coronária descendente esquerda ou modelo de infarto agudo do miocárdio (IAM).

Após a cirurgia de indução do IAM, evidenciam-se alterações na hemodinâmica cardíaca e na capacidade funcional, que levam à intolerância ao exercício (BATISTA *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2008). Essas alterações são decorrentes da disfunção ventricular esquerda que está diretamente relacionada com a área de infarto (NUNES *et al.*, 2008), demonstrando que esse modelo desenvolve a IC experimental com maiores semelhanças à IC humana (HASENFUSS, 1998).

Este modelo vem sendo utilizado também na investigação das respostas fisiológicas integradas no SNC (FRANCIS *et al.*, 2004). No estado fisiopatológico da IC, a diminuição do débito cardíaco e o aumento da pressão venosa central estimulam receptores cardiopulmonares e induzem um aumento no influxo de informações aferentes para o SNC, incluindo o núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. Nesse sentido, Li e colaboradores (LI *et al.*, 2003) relataram aumento na expressão do receptor glutamatérgico no PVN depois de oito semanas da indução do infarto agudo do miocárdio em ratos. Este aumento na atividade glutamatérgica sugere que o PVN participe da resposta simpática compensatória observada na IC.

Patel e colaboradores (PATEL *et al.*, 1996) demonstraram que ratos com IC apresentavam redução na expressão da enzima óxido nítrico sintase neural (nNOS), e consequentemente diminuição do óxido nítrico no PVN, indicando

perda da regulação do tônus simpático. Além disso, a utilização de um inibidor da síntese de citocinas, a pentoxifilina, administrada sistemicamente, restabelece os níveis de nNOS no PVN e reduz a excitação simpática em ratos com IC (GUGGILAM *et al.*, 2008). (KANG *et al.*, 2008) relataram que o aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias no PVN contribui para excitação neuro-humoral pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Estes estudos sugerem que o SNC tem um papel importante na exacerbação nervosa simpática.

Recentemente, um número crescente de estudos em animais com insuficiência cardíaca pós-infarto vem buscando avaliar os níveis de citocinas sistemicamente, no miocárdio e periféricamente como na musculatura esquelética. Em nosso laboratório observamos que após 12 semanas da indução do infarto, ocorre uma redução nos níveis plasmáticos de IL-10 nos animais IC-sedentários quando comparados com animais *sham*-sedentários, e que o treinamento físico reverte estes níveis para valores próximos da normalidade (NUNES *et al.*, 2008). Além disso, animais submetidos a um protocolo constituído por 10 dias consecutivos de LLLT (*Low Level Laser Therapy*), após 4 semanas da cirurgia de indução do infarto, demonstraram redução nos níveis de TNF- α e IL-6 e na razão IL-6/IL-10, bem como aumento nos níveis de IL-10 e na razão IL-10/TNF- α no músculo gastrocnêmio (HENTSCHKE *et al.*, 2012). Nesse mesmo estudo, houve uma redução nos níveis de IL-6 e na razão IL-6/IL-10, além do aumento nos níveis plasmáticos de IL-10 após LLLT, demonstrando que essa terapia pode modular a resposta pró-inflamatória de animais com IC após IAM, tanto pelas alterações locais como sistêmicas dos marcadores inflamatórios (HENTSCHKE *et al.*, 2012). No estudo de (STUMPF *et al.*, 2008), níveis plasmáticos de TNF- α e IL-6 foram maiores no grupo IC-controle quando comparado com animais *sham*-controle. Duas semanas após a cirurgia de indução de infarto os níveis plasmáticos de IL-1 β e TNF- α encontravam-se aumentados nos animais IC-controle em comparação ao grupo *sham*-controle (YU *et al.*, 2007).

Um número menor de estudos avaliou os níveis de citocinas no músculo esquelético de ratos com IC subsequente ao infarto do miocárdio. Doze semanas após cirurgia de indução de infarto, indicaram um aumento nos níveis proteicos de TNF- α em ratos IC-sedentários quando comparados com seu controle *sham*-sedentário no músculo sóleo. Os mesmos grupos apresentaram diferença na expressão de TNF- α mRNA no músculo sóleo. Quanto a IL-10, ratos IC-sedentários apresentaram um decréscimo na expressão local de IL-10 quando comparados a animais *sham*-sedentários. Ainda a expressão local de IL-10 mRNA aumentou no músculo sóleo de animais IC-sedentários em comparação com *sham*-sedentários, sem alteração no músculo extensor longo dos dedos. Quanto à razão IL-10/TNF- α , ratos IC-sedentários apresentaram um decréscimo quando comparados a animais *sham*-sedentários apenas no músculo sóleo (BATISTA *et al.*, 2010).

2.5 ELETROTHERAPIA

A eletroterapia está fundamentada em uma ampla trajetória de utilização da corrente elétrica para fins terapêuticos. Há indícios de que a população do antigo Egito utilizava o bagre do Nilo para tratamento de condições dolorosas graves. Da mesma forma, Hipócrates (420 AC) fez valer a ação do raio elétrico, porém o médico romano Scribonius Largus (47 DC) foi o primeiro a prescrever o contato direto com o peixe torpedo para alívio da dor em pacientes com gota, artrite e dores de cabeça (HEIDLAND *et al.*, 2013).

A partir desses primeiros experimentos, outros dispositivos foram criados como: eletricidade friccional, caracterizada por sua alta voltagem e baixa miliamperagem, criada pelo engenheiro alemão Otto von Guericke (1672); mais tarde o armazenamento de carga elétrica foi possível graças a invenção do frasco de Leiden (precursor do capacitor elétrico), utilizado pelo médico alemão Christian Kratzenstein (1744); poucos anos depois (1752), o cientista e político norte-americano Benjamin Franklin inventou o “Quadrado Mágico”, referido

como um condensador simples capaz de dar choques fortes para serem utilizados no tratamento de várias doenças (STILLINGS, 1975; HEIDLAND *et al.*, 2013).

No entanto, uma das mais importantes descobertas da história da eletroterapia aconteceu por volta do ano 1800, através dos estudos realizados pelo fisiologista italiano Luigi Galvani, em que foi mostrado que os músculos das pernas decepadas de uma rã contraíram-se quando estimulados por corrente elétrica. Na mesma época, Alessandro Volta demonstrou que, ao constituir um circuito com dois metais diferentes e um pano embebido na salmoura, uma corrente elétrica pode ser produzida. Este experimento levou à descoberta da pilha voltaica, que caracterizou a primeira forma de uma bateria (STILLINGS, 1975; HEIDLAND *et al.*, 2013).

Alguns anos mais tarde, mais precisamente em 1832, o cientista britânico Michael Faraday descobriu que, ao utilizar a pilha voltaica, o fluxo de eletricidade poderia ser induzido de forma intermitente e em direções alternadas. O médico francês Guillaume Duchenne foi quem difundiu o Faradismo em meados do século 19, sendo por isso considerado o “pai de eletroterapia”, utilizando esta técnica para a estimulação muscular (TURRELL, 1969; HEIDLAND *et al.*, 2013).

O seguimento histórico de descobertas das diferentes formas de estimulação elétrica constituiu-se através dos estudos do médico francês Jacques Arsène d'Arsonval (1900). Ele descobriu que as correntes de alta frequência, ou seja, na faixa dos KHz, eram melhores para gerar contrações musculares fortes e confortáveis (TURRELL, 1969; ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013; HEIDLAND *et al.*, 2013). A partir desse período, novas modalidades foram criadas, como a Terapia Interferencial (Nemec 1959) caracterizada por uma corrente alternada, na frequência dos 4KHz, bem como a Corrente Russa (Kotz 1970), utilizada para o fortalecimento muscular com frequência de 2,5KHz. Estas correntes são utilizadas até hoje na prática clínica (WARD & SHKURATOVA, 2002).

2.5.1 Princípios Físicos e Fisiologia da Estimulação Neuromuscular

Levando-se em consideração que a energia elétrica ao ser aplicada sobre os diferentes tecidos, gera a despolarização de suas membranas, torna-se evidente a compreensão dos potenciais de ação, principalmente das células nervosa e muscular.

2.5.1.1 Ativação das fibras musculares

A alteração do potencial de membrana da célula muscular também leva ao desencadeamento de um distúrbio elétrico responsável pela contração muscular. Todas as fibras musculares esqueléticas são inervadas por fibras nervosas mielínicas de grosso calibre, originárias dos motoneurônios localizados no corno anterior da medula espinhal. Cada uma dessas fibras nervosas possui ramificações que se responsabilizam pelo controle de diversas fibras musculares. Contudo, uma unidade motora é constituída por um único motoneurônio associado às fibras nervosas inervadas por ele. As terminações nervosas estão associadas às fibras musculares formando a junção neuromuscular e toda essa estrutura é chamada de placa motora. Portanto, todo o potencial de ação que trafega pelo motoneurônio até chegar às terminações nervosas, vai liberar um neurotransmissor (acetilcolina – Ach) na fenda sináptica da junção neuromuscular (ROBERTSON, 2009; GUYTON, 2011).

O neurotransmissor acetilcolina, por sua vez, liga-se aos seus receptores promovendo a abertura de canais iônicos, permitindo a entrada de uma quantidade significativa de sódio (Na^+). Esse mecanismo altera a concentração de cargas da membrana, tornando o lado interno da fibra

positivo, provocando o potencial da placa motora (ROBERTSON, 2009; GUYTON, 2011).

2.5.2 Efeitos dos Diferentes Parâmetros

Com os estudos e o conhecimento dos princípios físicos, bem como dos aspectos fisiológicos relacionados ao potencial de ação das fibras nervosa e muscular descritos anteriormente, fica mais clara a compreensão dos efeitos dos diferentes parâmetros da estimulação neuromuscular.

2.5.2.1 Corrente

A definição para corrente pode ser apresentada como a quantidade de carga que é movimentada dentro de um período de 1 segundo, classificando-se em duas formas: Corrente Direta (CD), em que o fluxo dos elétrons segue apenas em uma direção, de forma estável e contínua; Corrente Alternada (CA) bifásica ou bipolar, com seu fluxo variando em ambas as direções, podendo ser simétrico ou assimétrico. Os dois tipos de corrente podem se apresentar como uma série de pulsos separados (Corrente Pulsada) (KITCHEN, 2003; ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013).

2.5.2.2 Frequência

É o número de pulsos desencadeados em 1 segundo, calculada conforme o tempo entre o início de um pulso e o início do próximo pulso e é expressa em hertz (Hz) (KITCHEN, 2003; ROBERTSON, 2009). A frequência

apresenta um grau de significância maior dentro dos parâmetros da eletroestimulação muscular, pois é responsável pela seleção do tipo de fibra muscular que será estimulado, bem como pelo nível de força produzido. Uma das características da fibra muscular é apresentar pequenas ondulações quando estimuladas em baixas frequências (10 a 20 Hz), descrito como tetania parcial. Porém, à medida que a frequência vai aumentando, ou seja, de 20 Hz para 50 Hz, as ondulações desaparecem e a força de contração atinge um platô, definida como contração tetânica (ROBERTSON, 2009).

2.5.2.3 Formas de pulso

Um pulso elétrico pode apresentar-se de diferentes formas, sejam elas: triangulares, senoidais, exponenciais, retangulares e quadradas. A principal atribuição da forma de pulso é a sua capacidade em gerar um potencial de ação e evitar a acomodação (ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013).

2.5.2.4 Duração ou largura de pulso

Definida como o tempo de duração de cada um dos pulsos, simbolizada por (T). Ela é medida em microssegundos (μ s) ou milissegundos (ms). Está diretamente relacionada com a amplitude ou intensidade do estímulo, pois para que o potencial de ação seja desencadeado, é necessário que o pulso elétrico alcance uma quantidade mínima de movimentação de cargas, ou seja, para pulsos de curta duração, a amplitude ou intensidade terá que ser alta, seguindo a curva de intensidade-duração das diferentes fibras musculares (ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013).

2.5.2.5 Amplitude ou intensidade

Representa a magnitude do estímulo que será aplicado, seus valores podem ser expressos em miliampéres (mA) ou em volts (V), dependendo se o estimulador produz saída com corrente constante ou voltagem constante. Os valores clinicamente utilizados giram em torno de 10 a 100 mA ou 10 a 100 V, normalmente ajustados de acordo com o nível de conforto do paciente, porém o suficiente para causar uma contração muscular involuntária (ROBERTSON, 2009; KARAVIDAS *et al.*, 2010a).

2.5.2.6 Ciclo de trabalho

Durante a aplicação da eletroestimulação muscular a corrente passa por momentos de estimulação e de repouso, por isso o tempo torna-se muito importante. O ciclo de trabalho define o tempo de estímulo que realmente está agindo sobre o tecido, como por exemplo, se os pulsos são aplicados com 8 s *ON* seguidos de 4 s *OFF*, o ciclo de trabalho de cada pulso será de 66,6% (ROBERTSON, 2009).

2.5.2.7 Rampas (subida, sustentação e descida)

As principais funções atribuídas a este parâmetro são: evitar uma reação de susto e simular uma contração voluntária o mais próximo do normal. A rampa de subida define-se como o aumento da amplitude de pulso com recrutamento progressivo das fibras musculares. A partir do final da rampa de subida é iniciado o período de sustentação, também chamado de tempo *ON*, com maior número de fibras musculares recrutadas. Passado o período de

sustentação, dá-se início à rampa de descida, onde a força muscular diminui de maneira progressiva até zero. Ao chegar à amplitude zero, inicia-se o tempo de repouso ou tempo *OFF*, momento de descanso das fibras musculares (ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013).

2.5.3 NMES (*Neuromuscular Electrical Stimulation*)

NMES é o acrônimo para Estimulação Elétrica Neuromuscular, ou do inglês, *neuromuscular electrical stimulation*. Deve-se ter cautela ao utilizar este termo, assim como FES (Estimulação Elétrica Funcional) e FNS (Estimulação Neuromuscular Funcional), visto que não se refere a um tipo específico de corrente, mas à forma pela qual é aplicada clinicamente. Na verdade, tanto NMES quanto FES são classificadas dentro das correntes farádicas, ou seja, são correntes pulsadas com frequência abaixo de 100 Hz, com pulsos monofásicos ou bifásicos de duração menor do que 1 ms. Alguns autores diferenciam NMES da FES descrevendo que, para a maioria das aplicações da FES, há o envolvimento de alguma lesão no sistema nervoso central (KITCHEN, 2003; ROBERTSON, 2009).

2.5.4 NMES no Modelo de Insuficiência Cardíaca

A utilização da NMES como uma alternativa ao exercício físico é uma vantagem por promover a estimulação de grandes grupos musculares promovendo aumento da força muscular e melhora da qualidade de vida em pacientes com IC. Estudos experimentais com NMES podem ser aplicados mesmo em pacientes com limitações ao exercício, que estão inaptos a participar de outro tipo de treinamento físico por causa da gravidade da

doença, sendo um método que requer uma capacidade funcional mínima para ser realizado (PETTE & VRBOVA, 1999; HARRIS *et al.*, 2003).

Dentre as vantagens de sua utilização podemos destacar o fato de que a NMES poder ser utilizada no domicílio, necessitar menor motivação para ser usada e não promove a exacerbação dos sintomas da falência cardíaca ou outras comorbidades, o que é comum durante a prática de exercício físico por pacientes com IC e capacidade funcional muito baixa (DELITTO *et al.*, 1988; WIGERSTAD-LOSSING *et al.*, 1988; PETTE & VRBOVA, 1999). A estimulação elétrica da musculatura periférica aumenta a atividade das enzimas oxidativas (SKORJANC *et al.*, 2001), aumenta o número e o tamanho das mitocôndrias, aumenta o fluxo sanguíneo e a capilarização periférica, e induz modificações das fibras musculares (THOMAS & HUDLICKA, 1999) em ratos. A NMES aumenta a capacidade funcional representada pelo aumento do consumo de oxigênio no pico do exercício durante o teste cardiopulmonar (VAQUERO *et al.*, 1998).

Na atrofia muscular desencadeada pela IC, observa-se uma diminuição das fibras oxidativas dos tipos I e IIa. A NMES, quando aplicada em baixas frequências parece ser mais eficaz nestes pacientes, uma vez que estimula as unidades motoras lentas do tipo I (DOBSAK *et al.*, 2006b; KARAVIDAS *et al.*, 2010a). A aplicação da NMES de forma crônica em baixas frequências produz um aumento na capacidade oxidativa e redução da fadiga, com pequeno aumento da força muscular. Entretanto, protocolos de aplicação da NMES em altas frequências podem manter a resistência à fadiga através do aumento da capacidade aeróbica e, ao mesmo tempo, aumentar a força muscular (KARAVIDAS *et al.*, 2010a).

Durante a atividade muscular voluntária, o recrutamento das unidades motoras segue uma hierarquia, porém a contração muscular induzida pela NMES ativa todas as unidades motoras simultaneamente. Em outras palavras, a NMES pode promover um trabalho muscular mais intenso do que outro tipo de exercício. A NMES, quando aplicada de forma crônica, induz mudanças na regulação e no controle neural de recrutamento das unidades motoras, o que

resulta no aumento do número de fibras lentas resistentes à fadiga (oxidativas), estimula a neoangiogênese e aumenta a densidade de capilares, contribuindo para elevar a capacidade ao exercício e o fluxo nutritivo para o músculo estimulado (DOBSAK *et al.*, 2006b).

No estudo realizado por Nuhr e colaboradores (NUHR *et al.*, 2004), utilizando um protocolo de estimulação elétrica bilateral do quadríceps e dos isquiotibiais em pacientes com IC, houve melhora na qualidade de vida. Também houve aumento da distância percorrida no teste de caminhada de 6 minutos, aumento das concentrações de miosina lenta, diminuição da rápida e aumento da atividade da enzima citrato sintase (NUHR *et al.*, 2004).

O uso da NMES ou exercício físico, durante seis semanas proporcionou ganhos semelhantes na distância percorrida durante o teste de caminhada de 6 minutos, no tempo de exercício durante o teste de esteira e no índice de fadiga do quadríceps. Da mesma forma houve melhora da qualidade de vida quando os pacientes foram analisados em conjunto (HARRIS *et al.*, 2003). Em um único estudo realizado por Thomas & Hudlická, no qual um protocolo de NMES foi aplicado em ratos após infarto do miocárdio, houve aumento na capilarização periférica e normalização do diâmetro dos vasos como consequência da NMES (THOMAS & HUDLICKA, 1999).

Em estudo realizado por Deley e colaboradores, 24 pacientes com IC foram submetidos a um protocolo de NMES ou exercício aeróbico por 5 semanas. Eles descreveram um aumento no consumo de oxigênio de pico ($VO_{2\text{ pico}}$), na carga de trabalho de pico, bem como ao nível do limiar ventilatório em ambos os grupos, além de relatarem um aumento na força máxima do quadríceps e na distância percorrida no teste de caminhada de 6 minutos (DELEY *et al.*, 2005), o que vem ao encontro dos resultados encontrados em outras pesquisas (DOBSAK *et al.*, 2006a; DOBSAK *et al.*, 2006b; BANERJEE *et al.*, 2009). No entanto, estudos mostraram que, após um protocolo de 8 semanas de NMES ou exercício aeróbico, houve um aumento na velocidade de fluxo sanguíneo 15 minutos após a sessão, porém o grupo que realizou exercício aeróbico obteve maiores valores de VO_2 no limiar ventilatório, nos

índices de qualidade de vida e na frequência cardíaca de pico quando comparado ao grupo NMES (DOBSAK *et al.*, 2006a; DOBSAK *et al.*, 2006b).

Seguindo na mesma linha, Karavidas e colaboradores (KARAVIDAS *et al.*, 2006) submeteram 16 pacientes com IC a um programa de 6 semanas de treinamento com NMES, e outros 8 pacientes fizeram parte do grupo controle. Desta forma foi possível perceber que o grupo NMES aumentou a distância percorrida no teste de caminhada de 6 minutos, melhorou os índices de qualidade de vida, de função endotelial e atenuou a reação inflamatória sistêmica, referida por uma significativa redução nos valores circulantes de TNF- α , de ICAM-1 Molécula de adesão intracelular-1 (Intracellular adhesion molecule-1) e VCAM-1 Molécula de adesão celular vascular-1 (Vascular cell adhesion molecule-1), com aumento na razão IL-10/TNF- α em favor da ação anti-inflamatória.

Os mesmos autores realizaram outro estudo avaliando o impacto da NMES sobre a qualidade de vida e estresse emocional em 30 pacientes com IC. Assim, conseguiram perceber que a NMES exerce efeitos benéficos sobre a capacidade funcional e a qualidade de vida, e que esses efeitos estão de fato associados à melhora significativa no estresse emocional dos pacientes com IC (KARAVIDAS *et al.*, 2008). Dando seguimento ao mesmo estudo, os pacientes do grupo NMES foram encorajados a seguirem no programa por mais 3 meses com o intuito de avaliar a eficácia da terapia. Ao concluírem o período do estudo, os pacientes com um maior grau de comprometimento (*New York Heart Association* - NYHA III-IV) demonstraram maior aderência ao programa do que aqueles com menor grau (NYHA II) (KARAVIDAS *et al.*, 2010b).

2.6 FOTOTERAPIA

“Fototerapia” é um termo adequado para descrever de forma mais abrangente as intervenções envolvendo a energia proveniente de fontes

luminosas monocromáticas com objetivos terapêuticos (ENWEMEKA, 2005). A denominação LASER que é o acrônimo de “Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação” (*Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation*), é uma fonte de luz eletromagnética de alta concentração, não ionizante, que resulta em efeito sobre os diferentes tecidos, dependendo do comprimento de onda emitido e das propriedades ópticas do tecido irradiado (KITCHEN & BAZIN, 1998.). Atualmente, outras fontes luminosas como LED (*Light Emitting Diode*), SLD (*Superluminous Diode*) e PL (*Polarized Light*) estão sendo desenvolvidas e suas propriedades terapêuticas testadas. Estudos científicos nas mais diversas áreas vêm demonstrando que estas fontes “alternativas” de luz apresentam efeitos terapêuticos muito semelhantes ao LASER, ratificando a premissa de que o potencial terapêutico da fototerapia não depende unicamente da fonte geradora de energia, mas de parâmetros de tratamento adequados (ENWEMEKA, 2005; BARONI, 2010).

2.6.1 Princípios Físicos, Propriedades e Classificação

Caracterizado como uma forma de emissão luminosa, o LASER faz parte do espectro de emissão eletromagnético, ou seja, é constituído por campos elétricos e magnéticos. O espectro eletromagnético é formado por um conjunto de ondas eletromagnéticas, formadas a partir da variação de seus comprimentos de onda e, conseqüentemente, de suas frequências. A maior parte dos LASERs trabalha dentro de uma pequena fatia desse espectro, delimitada entre as faixas infravermelha, luz visível e ultravioleta, conforme o comprimento de onda característico no LASER em questão.

O feixe de luz LASER possui algumas propriedades próprias que o diferenciam das luzes geradas por lâmpadas domésticas comuns, tais quais: monocromaticidade (comprimento de onda único), colimação ou direcionalidade (feixes paralelos, unidirecionais, sem divergência, permitindo direcionamento para um ponto específico com mínima dispersão, sem perder

intensidade em relação à distância percorrida), coerência (refere-se à organização perfeita em relação ao deslocamento ordenado de suas ondas de luz no tempo (coerência temporal) e no espaço (coerência espacial), ou seja, possui a mesma frequência, a mesma fase e a mesma polarização; a frequência se refere ao fato de todas as ondas possuírem o mesmo comprimento de onda, a mesma fase se refere ao fato das cristas das ondas serem coincidentes entre si e a mesma polarização ocorre porque as ondas caminham na mesma direção (AGNE, 2004; ROBERTSON, 2009; AGNE, 2013).

O LED é uma luz monocromática, semelhante ao LASER, emitindo um único comprimento de onda, entretanto, não existe coerência espacial, mas existe coerência temporal. Essa diferença não altera os efeitos pretendidos, pois a não-coerência do LED mantém suas propriedades terapêuticas semelhantes ao LASER, bem como o paralelismo entre suas ondas, havendo apenas um deslocamento no plano temporal (AGNE, 2013).

A classificação dos emissores de LASER, considerando sua potência e seu comprimento de onda, é dada nas seguintes categorias: I, II, IIIA, IIIB e IV. As categorias I e II são de potência muito baixa que emitem luz em diferentes espectros, tais como: verde, vermelho e infravermelho. Não aquecem nem produzem efeitos na pele (ex: leitores de código de barras, leitores de CD, impressoras laser). A categoria IV é de potência elevada e maior comprimento de onda, e seus representantes são utilizados em cirurgias para coagulação ou corte, para tratamento de tumores, sendo equipamentos de uso médico (ex: laser de dióxido de carbono, comprimento de onda de 10.600 nm e potência de 50 W). Por fim, as categorias IIIA e IIIB de baixa ou média potência, geralmente inferior a 70 mW, com luz em diferentes espectros, vermelho visível e infravermelho (não visível) e são os tipos de LASER utilizados na Fisioterapia e Veterinária. São conhecidos como Laser de baixa intensidade; *Low Level Laser Therapy (LLLT)*, *cold laser* (Laser frio) ou ainda *soft laser* (Laser suave). Os equipamentos mais comumente utilizados são Hélio-Neônio (HeNe - 632,8 nm); Alumínio Gálio Índio Fósforo (AlGaInP, 660-670 nm); Arseneto de Gálio-

Alumínio (AsGaAl, 780-830 nm) e Arseneto de Gálio (AsGa – 904 nm) (LOPES-MARTINS *et al.*, 2006; AGNE, 2013).

2.6.2 Parâmetros de Tratamento

Os parâmetros de tratamento mais importantes a serem ajustados durante a aplicação da fototerapia são: potência, energia, área de irradiação, área do emissor, densidade de potência, densidade de energia e comprimento de onda.

2.6.2.1 Potência ou potência de saída

Refere-se à quantidade de energia emitida em função do tempo, mensurada em Joules por segundo (J/s). Por vezes representa-se através da unidade de medida Watts (W), em que 1 W corresponde à 1 J/s^{-1} . Porém, na fototerapia, devido à menor quantidade de potência necessária para alcançar os benefícios terapêuticos, é frequentemente medida em miliwatts ($1 \text{ mW} = 0,001 \text{ W}$). Normalmente, este parâmetro é fixo e invariável nos aparelhos terapêuticos de LLLT (ENWEMEKA, 2009; HUANG *et al.*, 2009).

2.6.2.2 Energia ou dose

Corresponde à quantidade de energia transferida ao tecido durante a aplicação da fototerapia, tornando-se um dos parâmetros que mais influencia no sucesso do tratamento. Sua unidade de medida é o Joule (J) e calcula-se pela seguinte equação (ENWEMEKA, 2009; HUANG *et al.*, 2009).

$$\text{Energia (J)} = \text{Potência (W)} \times \text{Tempo (s)}$$

2.6.2.3 Área de irradiação

A unidade de área é sempre centímetro quadrado (cm²) e para a área de irradiação não é diferente. Também conhecida como área de radiação efetiva ou, em inglês, *Effective Radiating Area* (ERA), define a área recoberta pelo feixe desde a ponta do aplicador até qualquer distância além desse ponto. Diferencia-se da área do emissor dependendo da técnica de aplicação empregada. Uma vez que seja utilizada a técnica de aplicação do equipamento diretamente em contato com a pele, exercendo leve pressão, maior quantidade de energia será transferida para o tecido. Casos em que o equipamento não encontrar-se em contato com o tecido, a área de irradiação será maior e o número de fótons atuando por unidade de área será menor, acarretando na perda de energia por reflexão e dispersão. Portanto menor energia penetrará nos tecidos (ENWEMEKA, 2009).

2.6.2.4 Área do emissor

A área do emissor corresponde à área de secção transversa do aplicador da fibra óptica (ENWEMEKA, 2009).

2.6.2.5 Densidade de potência, intensidade ou irradiância

Esta variável pode ser definida como a relação entre a potência de saída com a área de radiação efetiva do equipamento, ou seja, é a potência por

unidade de área do equipamento. Sua unidade de medida é dada em Watts por centímetro quadrado (W/cm^2), raramente ultrapassa os $50 \text{ mW}/\text{cm}^2$, calculada através da seguinte fórmula (ENWEMEKA, 2009; HUANG *et al.*, 2009).

$$\text{Densidade de Potência } (\text{W}/\text{cm}^2) = \text{Potência útil } (W) \div \text{Área } (\text{cm}^2)$$

2.6.2.6 Densidade de energia ou fluência

Definida através da relação entre a quantidade total de energia transferida ao tecido com área efetiva de irradiação do equipamento, ou seja, é a energia transmitida por unidade de área. Sua unidade de medida é expressa em Joules por centímetro quadrado (J/cm^2) e calculada pela seguinte equação (ENWEMEKA, 2009; HUANG *et al.*, 2009).

$$\text{Densidade de energia } (\text{J}/\text{cm}^2) = [\text{Potência } (W) \times \text{Tempo } (s)] \div \text{Área } (\text{cm}^2)$$

2.6.2.7 Comprimento de onda

Caracterizado como uma fonte luminosa, as partículas de LASER se propagam pelo espaço em formato de ondas. O comprimento de onda é definido como a distância entre duas sucessivas cristas ou picos do feixe luminoso. A unidade de medida que define o comprimento de onda é o nanômetro (nm).

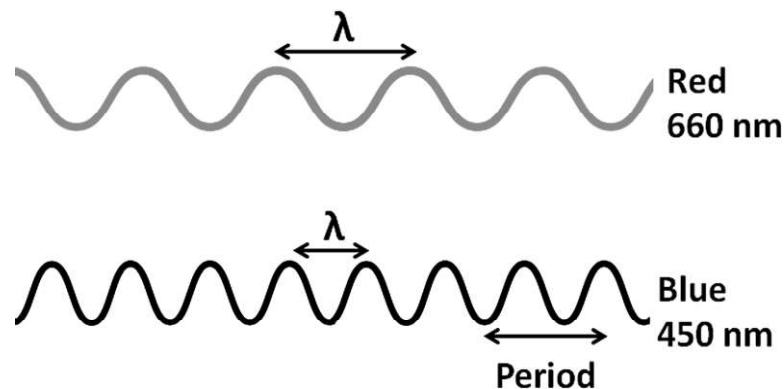


Figura 1. Ilustração demonstrando as formas de propagação da onda de luz com dois comprimentos de onda distintos (ENWEMEKA, 2009).

Apresenta características distintas entre duas fontes luminosas, como por exemplo, vermelho (660nm) e infravermelho (880nm). Quanto maior for o comprimento de onda, menor será a frequência de vibração da partícula luminosa, por isso a radiação infravermelha atinge os tecidos mais profundos com maior efetividade. Entretanto, isso não significa que um comprimento de onda de 880nm não será absorvido pela superfície do tecido; isso simplesmente demonstra que, da sua absorção no tecido superficial, as ondas continuam em frente até atingirem níveis mais profundos do tecido (ENWEMEKA, 2009).

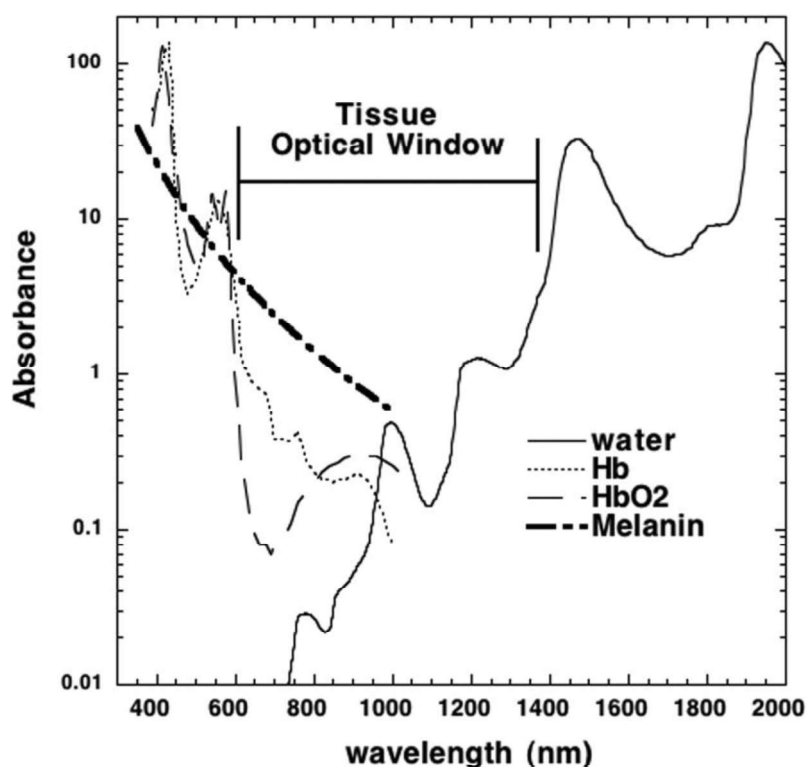


Figura 2. Comprimentos de onda que permitem maior absorção da energia luminosa pelos tecidos biológicos (HUANG *et al.*, 2009).

2.6.3 Fatores que Influenciam na Dose da Fototerapia

Além dos parâmetros característicos da fototerapia, existem alguns fatores que influenciam no ajuste preciso da dose a ser aplicada. Dentre estes fatores cabe destacar o modo de aplicação, a técnica de aplicação e o tempo de aplicação.

2.6.3.1 Modo de aplicação (contínuo ou pulsado)

Atualmente existe um consenso quanto ao melhor comprimento de onda de luz e à dose mais adequada para ser praticada, porém ainda não há

evidência informando sobre qual das ondas de luz, contínua (CW) ou pulsada (PW), é mais apropriada para as várias aplicações da fototerapia. Ao utilizarmos as fontes de luz pulsadas, existem cinco parâmetros que devem ser especificados: a Largura ou Duração do Pulso (PD), também chamado de tempo ON; o Intervalo de Pulso (PI) ou tempo OFF, que são medidos em segundos; a taxa de repetição de pulso ou Frequência (F) que é medida em Hz; o Ciclo de Trabalho (DC), medido em percentual (%); e a Potência de Pico ou Potência Média, que são medidos em Watts (HASHMI *et al.*, 2010).

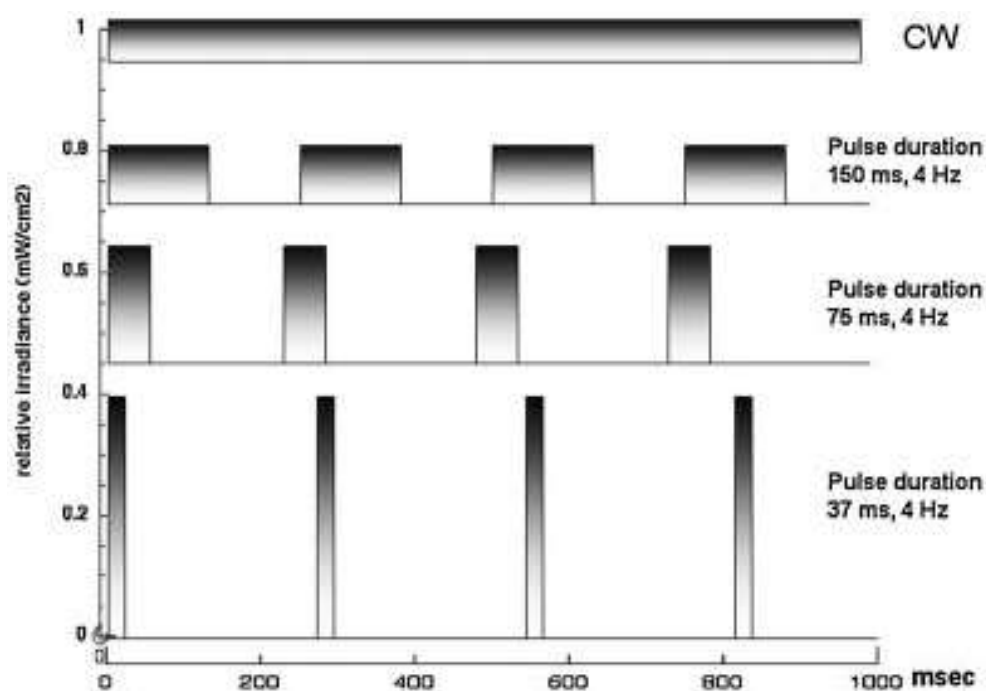


Figura 3. Diagrama conceitual comparando a estrutura da onda de luz contínua e pulsada em diferentes durações de pulso (HASHMI *et al.*, 2010).

A onda luz pulsada (PW) oferece numerosos benefícios com relação à onda de luz contínua (CW). Por apresentarem períodos da atenuação (tempo OFF) após os pulsos (tempo ON), os Lasers pulsados proporcionam menor aquecimento ao tecido. Para os casos em que o objetivo é atingir tecidos mais profundos, necessita-se de um aumento da potência a fim de fornecer a

energia adequada ao tecido alvo. Entretanto, o aumento da potência pode causar aquecimento da camada superficial e, nestes casos, as ondas de luz pulsadas podem ser muito úteis. As ondas de luz contínuas causam aumento da temperatura dos órgãos e tecidos irradiados, ao passo que a luz pulsada não tem demonstrado nenhuma alteração na temperatura das áreas irradiadas com a mesma densidade de energia entregue. Sobretudo, as PW permitem a utilização de maiores densidades de potência de pico com ralação às CW, fazendo com que os fótons ultrapassem os tecidos sem aquecê-los, possibilitando o alcance e o tratamento de tecidos mais profundos (HASHMI *et al.*, 2010).

2.6.3.2 Técnica de aplicação (estacionária ou varredura)

Sempre que possível, recomenda-se a aplicação de forma estacionária em contato com a pele, a fim de assegurar que todas as unidades de área recebam a mesma dose de energia luminosa, com mínima perda de energia, pois cada fóton proveniente do aplicador atingirá a pele ou o tecido alvo (ENWEMEKA, 2009). Ao contrário, o método de varredura acarreta em maior perda de energia por reflexão e refração, consequentemente, menor absorção da luz devido ao aumento do ângulo e da distância relativa entre o feixe de luz e a pele humana (ENWEMEKA, 2009; LEAL-JUNIOR *et al.*, 2013).

2.6.3.3 Tempo de aplicação

Cada situação deve ser analisada de forma individualizada, a fim de proporcionar a dose adequada para cada sessão de tratamento, bem como obter a quantidade certa de energia cumulativa. Como exemplo, podemos lançar mão da seguinte situação: precisamos tratar uma área de 50 cm² com

densidade de energia de 5 J/cm^2 , três vezes por semana durante um período de duas semanas. Sabendo que a área do aplicador é de 5 cm^2 , será necessária a aplicação de 10 pontos para assegurar a estimulação de cada centímetro da área alvo, ou seja, $(50 \text{ cm}^2 \div 5 \text{ cm}^2 = 10 \text{ pontos})$. Portanto, a quantidade de energia cumulativa em cada sessão será de 250 J ($5 \text{ J/cm}^2 \times 50 \text{ cm}^2$). Somando-se as 6 sessões de tratamento, o paciente receberá 1500 J de energia para alcançar o resultado esperado da fototerapia. Assim, com uma densidade de potência de 50 W/cm^2 e energia de 5 J/cm^2 , teremos um tempo de 100 s em cada ponto, somados os 10 pontos, o tempo total de cada sessão será de 1000 s ou 16,67 minutos. Sobretudo, todos estes parâmetros são muito importantes e devem ser levados em conta durante a aplicação, com o intuito de alcançar os efeitos benéficos da fototerapia (ENWEMEKA, 2009).

2.6.4 Interação com o Tecido Biológico

A interação dos fótons com os tecidos depende da absorção da luz por estruturas específicas nas células que são conhecidas como cromóforos (KARU & KOLYAKOV, 2005; KARU, 2010). Um cromóforo é uma molécula, ou parte dela, que determina uma cor específica para o composto do qual é um ingrediente. Alguns exemplos de cromóforos são: clorofila (utilizada pelas plantas para a fotossíntese), hemoglobina, citocromo c oxidase (Cox), mioglobina, flavinas, flavoproteínas e porfirinas (HUANG *et al.*, 2009).

A utilização da fototerapia é baseada na teoria bioquímica, caracterizada por uma cadeia de eventos. A conversão de energia eletromagnética em energia bioquímica ocorre concomitante ao aumento da atividade das mitocôndrias, o que gera alterações nos níveis de estresse oxidativo. Isto se dá pelo aumento das ligações de oxigênio, da taxa de respiração celular, bem como da produção de trifosfato de adenosina (ATP), o que evita a liberação de elevados níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) (KARU *et al.*, 2004; DE MARCHI *et al.*, 2012).

Suscintamente, o mecanismo de ação da fototerapia pode ser descrito da seguinte forma: o feixe de luz incidindo diretamente sobre as células fotorreceptoras, será absorvido pelos cromóforos específicos (citocromo c oxidase) presentes na membrana mitocondrial, desencadeando os efeitos fotoquímicos (HUANG *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2010). Esse fenômeno é chamado de fotobiomodulação (MESTER *et al.*, 1968).

No entanto, a interação entre a radiação luminosa e o tecido irradiado sofre influência de fenômenos, tais como: reflexão (parte da radiação é refletida e perdida), refração (parte da radiação se espalha pelo tecido e perde potência), transmissão (parte da radiação atravessa o tecido sem ser absorvida) e absorção por parte do tecido biológico (LOW & REED, 2001; AGNE, 2004).

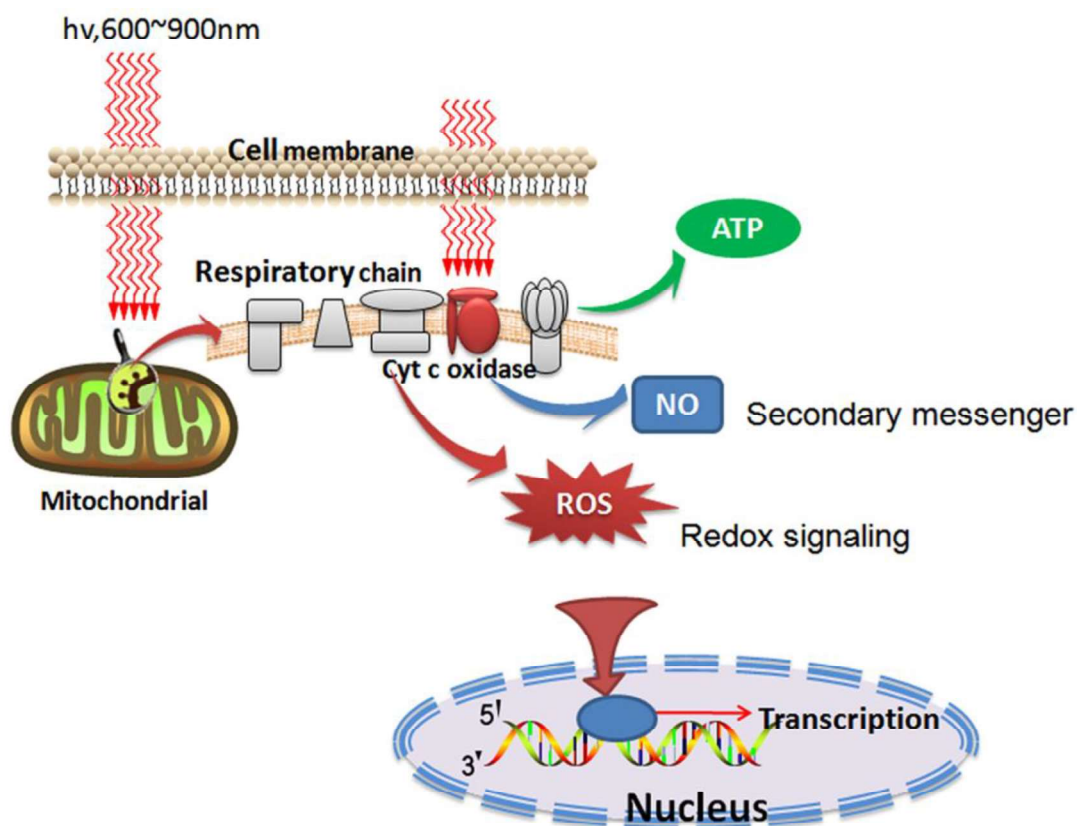


Figura 4. Representação do mecanismo de ação da fototerapia sobre os tecidos biológicos (HUANG *et al.*, 2011).

Dentre as diferentes formas de aplicação da fototerapia podemos destacar: o LLLT (Low Level Laser Therapy) e o LEDT (Light Emitting Diode Therapy). As principais diferenças entre eles são a monocromaticidade e a coerência, uma vez que o feixe de Laser (LLLT) possui coerência espacial e temporal, bem como uma estreita largura espectral quando comparado aos LED's (ENWEMEKA, 2005; HUANG *et al.*, 2009). O LEDT apresenta rendimento semelhante, além de oferecer um excelente custo-benefício em curto prazo de aplicação, pelo fato de lançar mão de uma maior quantidade de LED's em seus dispositivos (PAOLILLO *et al.*, 2013). Em relação ao LLLT, além do baixo custo, a densidade de energia do LEDT é distribuída em amplo espectro, irradiando uma área maior do músculo devido aos clusters com multi-diodos, possibilitando a interação com um maior número de fotorreceptores específicos com maior janela de absorção nos tecidos biológicos (DACOSTA *et al.*, 2003; LEAL JUNIOR *et al.*, 2009c; LEAL JUNIOR *et al.*, 2011).

A radiação LASER possui um comprimento de onda dependente capaz de alterar o comportamento celular mesmo na ausência de aquecimento significativo. Inicialmente, as investigações propunham que a radiação LASER estimulava os processos biológicos, fenômeno que ficou conhecido por bioestimulação. Tal conceito passou a ser fundamentado pela ideia de que a radiação LASER poderia inibir e também estimular a atividade celular. Atualmente, se expressa essa radiação como de baixa intensidade ou baixa potência, enfatizando seu efeito não térmico e de baixa energia durante a aplicação (BASFORD, 1995; BAXTER, 1997).

O laser de baixa potência (LBP) atua por meio de reações NÃO TÉRMICAS da luz com o tecido, ocasionando efeitos comparáveis à fotossíntese em plantas, por meio dos quais a luz é absorvida e exerce alterações fotoquímicas (HONMURA *et al.*, 1992; HUANG *et al.*, 2011). São radiações com baixa densidade de potência $0,01 \text{ W/cm}^2$ a 1 W/cm^2 e também baixa densidade de energia 1 a 10 J/cm^2 (SCHINDL *et al.*, 2000). Aplicações com objetivos clínicos encontram-se geralmente entre $1-4 \text{ J/cm}^2$. Nesses

limites se produz um pequeno e não significativo aumento de temperatura, entre 0,5 e 0,75 °C (BASFORD, 1995).

O LBP atua nos níveis celulares, aumentando síntese de ATP e a função mitocondrial, incrementando a produção molecular de oxigênio, estimulando a síntese (transcrição e replicação) de DNA e, conseqüentemente, a proliferação celular (KARU, 1987; BASFORD, 1995).

Ainda não há certeza sobre os mecanismos responsáveis pela melhora da capacidade funcional, especialmente no desempenho aeróbico, associado ao consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{ máx}}$), após aplicação da fototerapia. Acredita-se na hipótese de que o aumento na atividade mitocondrial e na síntese de ATP tanto aeróbica como anaeróticamente, no efeito anti-inflamatório (LEAL JUNIOR *et al.*, 2009c; HENTSCHKE *et al.*, 2012; LEAL JUNIOR *et al.*, 2014), na remoção e oxidação do ácido láctico através do aumento da microcirculação local (IHSAN, 2005; LEAL JUNIOR *et al.*, 2009a) e no equilíbrio do estresse oxidativo (BIASIBETTI *et al.*, 2014; FERRARESI *et al.*, 2014) como os principais mecanismos responsáveis pela melhora na capacidade funcional.

As mitocôndrias desempenham um papel importante na geração de energia e estão envolvidas na atual pesquisa sobre os mecanismos de efeito da fototerapia. Estudos sugerem que, quando aplicado sobre mitocôndrias isoladas, leva ao aumento do potencial eletroquímico, da síntese de RNA e proteínas, do consumo de oxigênio (VO_2), do potencial de membrana e da síntese de NADH e ATP (HUANG *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2011).

Estudos recentes têm demonstrado os efeitos benéficos da fototerapia sobre a performance muscular de atletas, envolvendo exercícios de força (BARONI *et al.*, 2010; FERRARESI *et al.*, 2011) e resistência a fadiga (LEAL JUNIOR *et al.*, 2009d; LEAL JUNIOR *et al.*, 2010; VIEIRA *et al.*, 2012), bem como efeitos protetores contra o dano muscular induzido pelo exercício (BARONI *et al.*, 2010; BORSA *et al.*, 2013) e a diminuição da dor muscular após o exercício de indivíduos saudáveis submetidos a um protocolo de

exercício excêntrico (ANTONIALLI *et al.*, 2014). Além disso, a fototerapia pode ser utilizada para prevenir a fadiga muscular, diminuir a sensação de dispneia, aumentando assim o tempo de resistência em pacientes com DPOC (MIRANDA *et al.*, 2014; MIRANDA *et al.*, 2015). Recentemente, uma revisão sistemática com meta-análise realizada por (LEAL-JUNIOR *et al.*, 2013) evidenciou que a fototerapia aumenta a performance e acelera a recuperação muscular, principalmente quando aplicada antes do exercício.

Embora os estudos anteriores tenham demonstrado os efeitos benéficos da fototerapia em seres humanos, estudos com ratos saudáveis também têm demonstrado que a fototerapia é eficaz no aumento do desempenho muscular, do metabolismo mitocondrial e ATP, no equilíbrio do estresse oxidativo e na reparação do dano muscular (HAYWORTH *et al.*, 2010; FERRARESI *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2014). No entanto, estudos realizados em nosso laboratório foram os primeiros a utilizarem a fototerapia sobre animais com Insuficiência Cardíaca. Até o momento, foi possível verificar que a fototerapia possui efeitos anti-inflamatórios, tanto a nível sistêmico quanto muscular periférico, e auxilia no equilíbrio do estresse oxidativo de ratos Wistar com IC (HENTSCHKE *et al.*, 2012; BIASIBETTI *et al.*, 2014). Além disso, a Fototerapia também tem demonstrado efeitos protetores contra alterações morfológicas, inflamação e dano muscular, apresentando um potencial para retardar a progressão da distrofia muscular de camundongos *mdx* com Distrofia Muscular de Duchenne (LEAL-JUNIOR *et al.*, 2014).

Apesar desses dados iniciais que apontam para a Fototerapia como técnica terapêutica para minimizar os efeitos da fadiga muscular, a comprovação dos efeitos benéficos sobre a fadiga muscular, sobre o pico de torque, sobre a capacidade funcional, sobre o perfil inflamatório, sobre a sensação de dispneia e do esforço percebido em membros inferiores poderia ampliar o uso deste recurso simples, não-invasivo e de baixo custo, à pacientes portadores de insuficiência cardíaca. Nesse contexto, considera-se que, por ser uma tecnologia relativamente nova, ainda se encontram em fase de determinação os reais efeitos, as aplicações efetivas, as limitações da

Fototerapia e seus mecanismos de ação (ALBERTINI *et al.*, 2004; ARRUDA *et al.*, 2007).

2.7 USO COMBINADO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NEUROMUSCULAR E FOTOTERAPIA NA IC

Até o presente momento, sabe-se que o treinamento físico aumenta a funcionalidade cardiovascular, metabólica e osteomuscular (KEMMLER *et al.*, 2004; DI BLASIO *et al.*, 2010). Da mesma maneira, o emprego de estimulação elétrica em pacientes com IC tem sido relacionado com incremento na capacidade funcional, na função endotelial e na modulação autonômica (DOBSAK *et al.*, 2012).

A estimulação elétrica da musculatura periférica aumenta a atividade das enzimas oxidativas, além disso, reverter a hipotrofia muscular e a diminuição do número de mitocôndrias e de capilares sanguíneos, características observadas em humanos e em modelos experimentais de IC. A estimulação elétrica de baixa frequência aumenta o número e tamanho das mitocôndrias, aumenta o fluxo sanguíneo e a capilarização da região, induz modificações na composição das fibras musculares, alterando seu metabolismo de fibras glicolíticas rápidas em oxidativas lentas, além de melhorar a expressão do GLUT-4. Este conjunto de ações é benéfico e melhora o quadro fisiopatológico da IC.

Por outro lado, embora não haja estudos sobre fototerapia de baixa potência em pacientes com IC, os dados disponíveis na literatura permitem inferir que a fototerapia aplicada antes, durante e após a atividade física, melhora a performance muscular (LEAL JUNIOR *et al.*, 2009a; LEAL JUNIOR *et al.*, 2009b; FERRARESI *et al.*, 2011; PAOLILLO *et al.*, 2011), regula o sistema imunológico (CORAZZA *et al.*, 2013; XAVIER *et al.*, 2013) e reduz o

dano muscular pós exercício (LEAL JUNIOR *et al.*, 2009a; BARONI *et al.*, 2010; LEAL JUNIOR *et al.*, 2011; CAMARGO *et al.*, 2012).

No entanto, decidimos testar a hipótese de que a associação das terapias (EENM e LEDT) possa levar à potencialização dos efeitos intrínsecos de cada modalidade, melhorando a capacidade funcional (representada através das variáveis de distância percorrida, tempo e velocidade máxima), bem como o metabolismo aeróbico (representado pelo $VO_{2\text{ máx}}$) de ratos *Wistar* com IC.

3 REFERÊNCIAS DA REVISÃO

ADAMOPOULOS, S., *et al.* Physical training improves skeletal muscle metabolism in patients with chronic heart failure. **J Am Coll Cardiol**, v.21, n.5, p.1101-6. Apr, 1993.

AGNE, J. E. Eletroterapia: teoria e prática. Santa Maria. 2004

AGNE, J. E. Eletrotermofototerapia: O Autor. Santa Maria - RS. 2013

AIMBIRE, F., *et al.* Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNFalpha levels in acute inflammation. **Photomed Laser Surg**, v.24, n.1, p.33-7. Feb, 2006.

ALBERTINI, R., *et al.* Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. **J Photochem Photobiol B**, v.74, n.2-3, p.101-7. May 27, 2004.

ANDRADE, J. P., *et al.* National Physician Qualification Program in Cardiovascular Disease Prevention and Integral Care. **Arq Bras Cardiol**, v.100, n.3, p.203-11. Mar, 2013.

ANTONIALLI, F. C., *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**, v.29, n.6, p.1967-76. Nov, 2014.

ARENA, R., *et al.* Neuromuscular electrical stimulation and inspiratory muscle training as potential adjunctive rehabilitation options for patients with heart failure. **J Cardiopulm Rehabil Prev**, v.30, n.4, p.209-23. Jul-Aug, 2010.

ARRUDA, E. R. B., *et al.* Influência de diferentes comprimentos de onda da Laserterapia de Baixa Intensidade na regeneração tendínea do rato após tenotomia. **Rev. bras. fisioter.**, v.11, n.4, p.283-288, 2007.

BANERJEE, P., *et al.* Prolonged electrical muscle stimulation exercise improves strength, peak VO₂, and exercise capacity in patients with stable chronic heart failure. **J Card Fail**, v.15, n.4, p.319-26. May, 2009.

BARONI, B. M. Efeito da Fototerapia Prévia ao Exercício Isocinético sobre a Fadiga e o Dano Muscular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. 96 p.

BARONI, B. M., *et al.* Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. **Eur J Appl Physiol**, v.110, n.4, p.789-96. Nov, 2010.

BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers Surg Med**, v.16, n.4, p.331-42, 1995.

BATISTA, M. L., JR., *et al.* Exercise training changes IL-10/TNF-alpha ratio in the skeletal muscle of post-MI rats. **Cytokine**, v.49, n.1, p.102-8. Jan, 2010.

BATISTA, M. L., JR., *et al.* Endurance training modulates lymphocyte function in rats with post-MI CHF. **Med Sci Sports Exerc**, v.40, n.3, p.549-56. Mar, 2008.

BAXTER, G. D. Therapeutic laser: theory and practice. New York: Churchill Livingstone. 1997

BENDERLY, M., *et al.* Socioeconomic status indicators and incidence of heart failure among men and women with coronary heart disease. **J Card Fail**, v.19, n.2, p.117-24. Feb, 2013.

BIASIBETTI, M., *et al.* The influence of low-level laser therapy on parameters of oxidative stress and DNA damage on muscle and plasma in rats with heart failure. **Lasers Med Sci**, v.29, n.6, p.1895-906. Nov, 2014.

BOCCHI, E. A., *et al.* [Updating of the Brazilian guideline for chronic heart failure - 2012]. **Arq Bras Cardiol**, v.98, n.1 Suppl 1, p.1-33. Jan, 2012.

BORSA, P. A., *et al.* Does phototherapy enhance skeletal muscle contractile function and postexercise recovery? A systematic review. **J Athl Train**, v.48, n.1, p.57-67. Jan-Feb, 2013.

CAMARGO, M. Z., *et al.* Effects of light emitting diode (LED) therapy and cold water immersion therapy on exercise-induced muscle damage in rats. **Lasers Med Sci**, v.27, n.5, p.1051-8. Sep, 2012.

CHUA, T. P., *et al.* Relation between chemosensitivity and the ventilatory response to exercise in chronic heart failure. **J Am Coll Cardiol**, v.27, n.3, p.650-7. Mar 1, 1996.

COATS, A. J. The "muscle hypothesis" of chronic heart failure. **J Mol Cell Cardiol**, v.28, n.11, p.2255-62. Nov, 1996.

COHN, J. N., *et al.* Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. **N Engl J Med**, v.311, n.13, p.819-23. Sep 27, 1984.

CORAZZA, A. V., *et al.* Phototherapy and resistance training prevent sarcopenia in ovariectomized rats. **Lasers Med Sci**. Jan 10, 2013.

DACOSTA, R. S., *et al.* Molecular fluorescence excitation-emission matrices relevant to tissue spectroscopy. **Photochem Photobiol**, v.78, n.4, p.384-92. Oct, 2003.

DALL'AGO, P., *et al.* Inspiratory muscle training in patients with heart failure and inspiratory muscle weakness: a randomized trial. **J Am Coll Cardiol**, v.47, n.4, p.757-63. Feb 21, 2006.

DE LEON, E. B., *et al.* Neuromuscular electrical stimulation improves GLUT-4 and morphological characteristics of skeletal muscle in rats with heart failure. **Acta Physiol (Oxf)**, v.201, n.2, p.265-73. Feb, 2011.

DE MARCHI, T., *et al.* Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. **Lasers Med Sci**, v.27, n.1, p.231-6. Jan, 2012.

DELEY, G., *et al.* Do low-frequency electrical myostimulation and aerobic training similarly improve performance in chronic heart failure patients with different exercise capacities? **J Rehabil Med**, v.40, n.3, p.219-24. Mar, 2008.

DELEY, G., *et al.* Comparison of low-frequency electrical myostimulation and conventional aerobic exercise training in patients with chronic heart failure. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v.12, n.3, p.226-33. Jun, 2005.

DELITTO, A., *et al.* Electrical stimulation versus voluntary exercise in strengthening thigh musculature after anterior cruciate ligament surgery. **Phys Ther**, v.68, n.5, p.660-3. May, 1988.

DI BLASIO, A., *et al.* Effects of the time of day of walking on dietary behaviour, body composition and aerobic fitness in post-menopausal women. **J Sports Med Phys Fitness**, v.50, n.2, p.196-201. Jun, 2010.

DICKSTEIN, K., *et al.* ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). **Eur Heart J**, v.29, n.19, p.2388-442. Oct, 2008.

DOBSAK, P., *et al.* Electrical stimulation of skeletal muscles. An alternative to aerobic exercise training in patients with chronic heart failure? **Int Heart J**, v.47, n.3, p.441-53. May, 2006a.

DOBSAK, P., *et al.* Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure. **Circ J**, v.70, n.1, p.75-82. Jan, 2006b.

DOBSAK, P., *et al.* Effects of neuromuscular electrical stimulation and aerobic exercise training on arterial stiffness and autonomic functions in patients with chronic heart failure. **Artif Organs**, v.36, n.10, p.920-30. Oct, 2012.

DREXLER, H., *et al.* Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. **Circulation**, v.85, n.5, p.1751-9. May, 1992.

DUSCHA, B. D., *et al.* Implications of chronic heart failure on peripheral vasculature and skeletal muscle before and after exercise training. **Heart Fail Rev**, v.13, n.1, p.21-37. Feb, 2008.

ENWEMEKA, C. S. Light is light. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.2, p.159-60. Apr, 2005.

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

FANG, J., *et al.* Heart failure-related hospitalization in the U.S., 1979 to 2004. **J Am Coll Cardiol**, v.52, n.6, p.428-34. Aug 5, 2008.

FERRARESI, C., *et al.* Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. **Lasers Med Sci**, v.26, n.3, p.349-58. May, 2011.

FERRARESI, C., *et al.* Light-emitting diode therapy in exercise-trained mice increases muscle performance, cytochrome c oxidase activity, ATP and cell proliferation. **J Biophotonics**, v.9999, n.9999. Nov 6, 2014.

FERREIRA, M. P., *et al.* Effect of low-energy gallium-aluminum-arsenide and aluminium gallium indium phosphide laser irradiation on the viability of C2C12 myoblasts in a muscle injury model. **Photomed Laser Surg**, v.27, n.6, p.901-6. Dec, 2009.

FLAHERTY, J. D., *et al.* Acute heart failure syndromes in patients with coronary artery disease early assessment and treatment. **J Am Coll Cardiol**, v.53, n.3, p.254-63. Jan 20, 2009.

FLORAS, J. S. Sympathetic nervous system activation in human heart failure: clinical implications of an updated model. **J Am Coll Cardiol**, v.54, n.5, p.375-85. Jul 28, 2009.

FRANCIS, J., *et al.* Acute myocardial infarction induces hypothalamic cytokine synthesis. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.286, n.6, p.H2264-71. Jun, 2004.

GIANNONI, A., *et al.* Clinical significance of chemosensitivity in chronic heart failure: influence on neurohormonal derangement, Cheyne-Stokes respiration and arrhythmias. **Clin Sci (Lond)**, v.114, n.7, p.489-97. Apr, 2008.

GUGGILAM, A., *et al.* Cytokine blockade attenuates sympathoexcitation in heart failure: cross-talk between nNOS, AT-1R and cytokines in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Eur J Heart Fail**, v.10, n.7, p.625-34. Jul, 2008.

GULLESTAD, L. & P. AUKRUST. Review of trials in chronic heart failure showing broad-spectrum anti-inflammatory approaches. **Am J Cardiol**, v.95, n.11A, p.17C-23C; discussion 38C-40C. Jun 6, 2005.

GUYTON, A. C., HALL, J.E. Tratado de fisiologia média. Rio de Janeiro: Elsevier. 2011

GWECHENBERGER, M., *et al.* Interleukin-6 and B-type natriuretic peptide are independent predictors for worsening of heart failure in patients with progressive congestive heart failure. **J Heart Lung Transplant**, v.23, n.7, p.839-44. Jul, 2004.

HARRIS, S., *et al.* A randomised study of home-based electrical stimulation of the legs and conventional bicycle exercise training for patients with chronic heart failure. **Eur Heart J**, v.24, n.9, p.871-8. May, 2003.

HASENFUSS, G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. **Cardiovasc Res**, v.39, n.1, p.60-76. Jul, 1998.

HASHMI, J. T., *et al.* Effect of pulsing in low-level light therapy. **Lasers Surg Med**, v.42, n.6, p.450-66. Aug, 2010.

HAYWORTH, C. R., *et al.* In vivo low-level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. **Photochem Photobiol**, v.86, n.3, p.673-80. May-Jun, 2010.

HEIDLAND, A., *et al.* Neuromuscular electrostimulation techniques: historical aspects and current possibilities in treatment of pain and muscle wasting. **Clin Nephrol**, v.79 Suppl 1, p.S12-23. Jan, 2013.

HENTSCHKE, V. S., *et al.* Low-level laser therapy improves the inflammatory profile of rats with heart failure. **Lasers Med Sci**. Aug 31, 2012.

HONMURA, A., *et al.* Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. **Lasers Surg Med**, v.12, n.4, p.441-9, 1992.

HUANG, Y. Y., *et al.* Biphasic dose response in low level light therapy. **Dose Response**, v.7, n.4, p.358-83, 2009.

HUANG, Y. Y., *et al.* Biphasic dose response in low level light therapy - an update. **Dose Response**, v.9, n.4, p.602-18, 2011.

HUGLI, O., *et al.* United States emergency department visits for acute decompensated heart failure, 1992 to 2001. **Am J Cardiol**, v.96, n.11, p.1537-42. Dec 1, 2005.

HUNT, S. A., *et al.* 2009 focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the International Society for Heart and Lung Transplantation. **Circulation**, v.119, n.14, p.e391-479. Apr 14, 2009.

IELLAMO, F., *et al.* Spontaneous baroreflex control of heart rate during exercise and muscle metaboreflex activation in heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.293, n.3, p.H1929-36. Sep, 2007.

IHSAN, F. R. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.3, p.289-94. Jun, 2005.

JAENISCH, R. B., *et al.* Respiratory muscle training improves hemodynamics, autonomic function, baroreceptor sensitivity, and respiratory mechanics in rats with heart failure. **J Appl Physiol**, v.111, n.6, p.1664-70. Dec, 2011.

JESSUP, M. & S. BROZENA. Heart failure. **N Engl J Med**, v.348, n.20, p.2007-18. May 15, 2003.

KANG, Y. M., *et al.* Inhibition of brain proinflammatory cytokine synthesis reduces hypothalamic excitation in rats with ischemia-induced heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.295, n.1, p.H227-36. Jul, 2008.

KAPADIA, S., *et al.* The role of cytokines in the failing human heart. **Cardiol Clin**, v.16, n.4, p.645-56, viii. Nov, 1998.

KARAVIDAS, A., *et al.* Functional electrical stimulation of lower limbs in patients with chronic heart failure. **Heart Fail Rev**, v.15, n.6, p.563-79. Nov, 2010a.

KARAVIDAS, A., *et al.* Effects of functional electrical stimulation on quality of life and emotional stress in patients with chronic heart failure secondary to ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy: a randomised, placebo-controlled trial. **Eur J Heart Fail**, v.10, n.7, p.709-13. Jul, 2008.

KARAVIDAS, A., *et al.* Functional electrical stimulation is more effective in severe symptomatic heart failure patients and improves their adherence to rehabilitation programs. **J Card Fail**, v.16, n.3, p.244-9. Mar, 2010b.

KARAVIDAS, A. I., *et al.* Functional electrical stimulation improves endothelial function and reduces peripheral immune responses in patients with chronic heart failure. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v.13, n.4, p.592-7. Aug, 2006.

KARU, T. I. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. . **IEEE J Quant Elect.** , v.23, p.1703-1718, 1987.

_____. Multiple roles of cytochrome c oxidase in mammalian cells under action of red and IR-A radiation. **IUBMB Life**, v.62, n.8, p.607-10. Aug, 2010.

KARU, T. I. & S. F. KOLYAKOV. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.4, p.355-61. Aug, 2005.

KARU, T. I., *et al.* A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. **Photochem Photobiol**, v.80, n.2, p.366-72. Sep-Oct, 2004.

KEMMLER, W., *et al.* Benefits of 2 years of intense exercise on bone density, physical fitness, and blood lipids in early postmenopausal osteopenic women: results of the Erlangen Fitness Osteoporosis Prevention Study (EFOPS). **Arch Intern Med**, v.164, n.10, p.1084-91. May 24, 2004.

KITCHEN, S. Eletroterapia: prática baseada em evidência. Barueri, SP: Manole. 2003

KITCHEN, S. & S. BAZIN. Eletroterapia de Clayton: São Paulo: Manole, v.10. 1998.

KUBOTA, T., *et al.* Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. **Circ Res**, v.81, n.4, p.627-35. Oct, 1997.

LEAL-JUNIOR, E. C., *et al.* Superpulsed low-level laser therapy protects skeletal muscle of mdx mice against damage, inflammation and morphological changes delaying dystrophy progression. **PLoS One**, v.9, n.3, p.e89453, 2014.

LEAL-JUNIOR, E. C., *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**. Nov 19, 2013.

LEAL JUNIOR, E. C., *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**, v.26, n.4, p.493-501. Jul, 2011.

LEAL JUNIOR, E. C., *et al.* Comparison between single-diode low-level laser therapy (LLLT) and LED multi-diode (cluster) therapy (LEDT) applications before high-intensity exercise. **Photomed Laser Surg**, v.27, n.4, p.617-23. Aug, 2009a.

LEAL JUNIOR, E. C., *et al.* Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. **Lasers Med Sci**, v.24, n.6, p.857-63. Nov, 2009b.

LEAL JUNIOR, E. C., *et al.* Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. **Eur J Appl Physiol**, v.108, n.6, p.1083-8. Apr, 2010.

LEAL JUNIOR, E. C., *et al.* Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. **Lasers Surg Med**, v.41, n.8, p.572-7. Oct, 2009c.

LEAL JUNIOR, E. C., *et al.* Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. **Lasers Med Sci**, v.24, n.3, p.425-31. May, 2009d.

LI, Y. F., *et al.* Alteration of NMDA NR1 receptors within the paraventricular nucleus of hypothalamus in rats with heart failure. **Circ Res**, v.93, n.10, p.990-7. Nov 14, 2003.

LIN, F., *et al.* Lasers, stem cells, and COPD. **J Transl Med**, v.8, p.16, 2010.

LOPES-MARTINS, R. A., *et al.* Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. **J Appl Physiol**, v.101, n.1, p.283-8. Jul, 2006.

LOW, L. & A. REED. Eletroterapia Explicada: Princípios e Práticas. Barueri. 2001

LUNDE, P. K., *et al.* Skeletal muscle disorders in heart failure. **Acta Physiol Scand**, v.171, n.3, p.277-94. Mar, 2001.

MARIN-NETO, J. A., *et al.* Abnormal baroreflex control of heart rate in decompensated congestive heart failure and reversal after compensation. **Am J Cardiol**, v.67, n.7, p.604-10. Mar 15, 1991.

MAY, C. N., *et al.* Cardiac sympathoexcitation in heart failure. **Auton Neurosci**, v.175, n.1-2, p.76-84. Apr, 2013.

MESTER, E., *et al.* [The effect of laser beams on the growth of hair in mice]. **Radiobiol Radiother (Berl)**, v.9, n.5, p.621-6, 1968.

MIRANDA, E. F., *et al.* Phototherapy with combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes is beneficial in improvement of muscular performance (strength and muscular endurance), dyspnea, and fatigue sensation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Lasers Med Sci**, v.30, n.1, p.437-43. Jan, 2015.

MIRANDA, E. F., *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**, v.29, n.1, p.359-65. Jan, 2014.

NUHR, M. J., *et al.* Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. **Eur Heart J**, v.25, n.2, p.136-43. Jan, 2004.

NUNES, R. B., *et al.* Physical exercise improves plasmatic levels of IL-10, left ventricular end-diastolic pressure, and muscle lipid peroxidation in chronic heart failure rats. **J Appl Physiol**, v.104, n.6, p.1641-7. Jun, 2008.

PACKER, M. How should physicians view heart failure? The philosophical and physiological evolution of three conceptual models of the disease. **Am J Cardiol**, v.71, n.9, p.3C-11C. Mar 25, 1993.

PAOLILLO, F. R., *et al.* Infrared LED irradiation applied during high-intensity treadmill training improves maximal exercise tolerance in postmenopausal women: a 6-month longitudinal study. **Lasers Med Sci**, v.28, n.2, p.415-22. Feb, 2013.

PAOLILLO, F. R., *et al.* Effects of infrared-LED illumination applied during high-intensity treadmill training in postmenopausal women. **Photomed Laser Surg**, v.29, n.9, p.639-45. Sep, 2011.

PATEL, K. P., *et al.* Decreased gene expression of neuronal nitric oxide synthase in hypothalamus and brainstem of rats in heart failure. **Brain Res**, v.734, n.1-2, p.109-15. Sep 23, 1996.

PETRETTA, M., *et al.* Circulating levels of cytokines and their site of production in patients with mild to severe chronic heart failure. **Am Heart J**, v.140, n.6, p.E28. Dec, 2000.

PETTE, D. & G. VRBOVA. What does chronic electrical stimulation teach us about muscle plasticity? **Muscle Nerve**, v.22, n.6, p.666-77. Jun, 1999.

PIEPOLI, M., *et al.* Muscle metaboreceptors in hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in men. **Am J Physiol**, v.269, n.4 Pt 2, p.H1428-36. Oct, 1995.

PIEPOLI, M., *et al.* Contribution of muscle afferents to the hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in patients with chronic heart failure: effects of physical training. **Circulation**, v.93, n.5, p.940-52. Mar 1, 1996.

PIEPOLI, M. F., *et al.* Exercise intolerance in chronic heart failure: mechanisms and therapies. Part II. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v.17, n.6, p.643-8. Dec, 2010a.

PIEPOLI, M. F., *et al.* Exercise intolerance in chronic heart failure: mechanisms and therapies. Part I. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v.17, n.6, p.637-42. Dec, 2010b.

PIEPOLI, M. F., *et al.* Skeletal muscle training in chronic heart failure. **Acta Physiol Scand**, v.171, n.3, p.295-303. Mar, 2001.

PONIKOWSKI, P. P., *et al.* Muscle ergoreceptor overactivity reflects deterioration in clinical status and cardiorespiratory reflex control in chronic heart failure. **Circulation**, v.104, n.19, p.2324-30. Nov 6, 2001.

ROBERTSON, V., WARD, A., LOW, J., REED, A. Eletroterapia explicada: Princípios e Práticas. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009

ROGER, V. L., *et al.* Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v.123, n.4, p.e18-e209. Feb 1, 2011.

ROGER, V. L., *et al.* Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v.125, n.1, p.e2-e220. Jan 3, 2012.

SANTOS, L. A., *et al.* Effects of pre-irradiation of low-level laser therapy with different doses and wavelengths in skeletal muscle performance, fatigue, and skeletal muscle damage induced by tetanic contractions in rats. **Lasers Med Sci**, v.29, n.5, p.1617-26. Sep, 2014.

SCHINDL, A., *et al.* Low-intensity laser therapy: a review. **J Investig Med**, v.48, n.5, p.312-26. Sep, 2000.

SELYE, H., *et al.* Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. **Angiology**, v.11, p.398-407. Oct, 1960.

SETA, Y., *et al.* Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. **J Card Fail**, v.2, n.3, p.243-9. Sep, 1996.

SHARMA, R., *et al.* The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide, and endothelin-1. **Int J Cardiol**, v.72, n.2, p.175-86. Jan 15, 2000.

SKORJANC, D., *et al.* Mitochondrial enzyme defects in normal and low-frequency-stimulated muscles of young and aging rats. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v.56, n.12, p.B503-9. Dec, 2001.

STICKLAND, M. K., *et al.* Carotid chemoreceptor modulation of sympathetic vasoconstrictor outflow during exercise in healthy humans. **J Physiol**, v.586, n.6, p.1743-54. Mar 15, 2008.

STILLINGS, D. A survey of the history of electrical stimulation for pain to 1900. **Med Instrum**, v.9, n.6, p.255-9. Nov-Dec, 1975.

STUMPF, C., *et al.* Interleukin-10 improves left ventricular function in rats with heart failure subsequent to myocardial infarction. **Eur J Heart Fail**, v.10, n.8, p.733-9. Aug, 2008.

THOMAS, D. P. & O. HUDLICKA. Arteriolar reactivity and capillarization in chronically stimulated rat limb skeletal muscle post-MI. **J Appl Physiol**, v.87, n.6, p.2259-65. Dec, 1999.

TRIPOSKIADIS, F., *et al.* The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. **J Am Coll Cardiol**, v.54, n.19, p.1747-62. Nov 3, 2009.

TURRELL, W. J. The landmarks of electrotherapy. **Arch Phys Med Rehabil**, v.50, n.3, p.157-60. Mar, 1969.

VAQUERO, A. F., *et al.* Effects of muscle electrical stimulation on peak VO₂ in cardiac transplant patients. **Int J Sports Med**, v.19, n.5, p.317-22. Jul, 1998.

VIEIRA, W. H., *et al.* Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. **Lasers Med Sci**, v.27, n.2, p.497-504. Mar, 2012.

VON HAEHLING, S., *et al.* Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: much more than innocent bystanders. **Heart Fail Clin**, v.5, n.4, p.549-60. Oct, 2009.

WARD, A. R. & N. SHKURATOVA. Russian electrical stimulation: the early experiments. **Phys Ther**, v.82, n.10, p.1019-30. Oct, 2002.

WIGERSTAD-LOSSING, I., *et al.* Effects of electrical muscle stimulation combined with voluntary contractions after knee ligament surgery. **Med Sci Sports Exerc**, v.20, n.1, p.93-8. Feb, 1988.

WILSON, J. R., *et al.* Exertional fatigue due to skeletal muscle dysfunction in patients with heart failure. **Circulation**, v.87, n.2, p.470-5. Feb, 1993.

XAVIER, M., *et al.* Low-level light-emitting diode therapy increases mRNA expressions of IL-10 and type I and III collagens on Achilles tendinitis in rats. **Lasers Med Sci**. Feb 13, 2013.

YNDESTAD, A., *et al.* Systemic inflammation in heart failure--the whys and wherefores. **Heart Fail Rev**, v.11, n.1, p.83-92. Mar, 2006.

YU, Y., *et al.* Central gene transfer of interleukin-10 reduces hypothalamic inflammation and evidence of heart failure in rats after myocardial infarction. **Circ Res**, v.101, n.3, p.304-12. Aug 3, 2007.

ZUCKER, I. H., *et al.* The regulation of sympathetic outflow in heart failure. The roles of angiotensin II, nitric oxide, and exercise training. **Ann N Y Acad Sci**, v.940, p.431-43. Jun, 2001.

4 ARTIGO

Functional capacity in heart failure rats: characterization of the myocardial infarction model and effects of neuromuscular electrical stimulation and light emitting diode therapy

Capalonga, Lucas¹; Karsten, Marlus¹; Hentschke, Vítor Scotta²; Rossato, Douglas Dalcin³; Dornelles, Maurício Pinto¹; Dal Lago, Pedro^{1,2}

¹ Laboratory of Cardiovascular Physiology, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brazil

² Laboratory of Cardiovascular Physiology, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brazil

³ Centro Universitário Franciscano, Santa Maria, RS, Brazil.

Corresponding author: Prof. Pedro Dal Lago

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação (PPG-CR), Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Rua Sarmiento Leite, 245, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil, e-mail: pdallago@ufcspa.edu.br

Abstract:

The syndrome of heart failure (HF) is responsible for central and peripheral dysfunctions, resulting in important changes in functional capacity that can trigger the limiting factors such as fatigue, dyspnea and exercise intolerance. The major aims of this study were: (i) characterize the HF model in rats undergoing surgical induction of myocardial infarction (MI) through the functional capacity and maximal oxygen uptake ($VO_{2\text{ max}}$); and (ii) compare the effects of 8 weeks of intervention with light emitting diode therapy (LEDT), alone or combined with neuromuscular electrical stimulation (NMES) on hemodynamic function, functional capacity and aerobic power in rats with HF. To do this, two studies were conducted: *Study 1*) were used male Wistar rats (230-260g), allocated into two groups: *Sham* (n=5) and HF (n=4). *Study 2*) male Wistar rats were divided into 4 groups: *Sham* (n=6), Control-HF (n=4), LEDT-HF (n=6) and LEDT+NMES-HF (n=7). The animals were subjected to an exercise test with gas analysis coupled in the metabolic box for rats (AVS Projetos, São Carlos, SP, Brazil), with incremental protocol performed at three time points (pre-MI, 6 weeks and 14 weeks after MI). The MI was induced by ligation of the left coronary artery. In the statistical analysis were employed unpaired t test, one-way ANOVA or two-way ANOVA for repeated measure, both followed by Student-Newman-Keuls post hoc test ($p \leq 0,05$). There was no difference between groups in the pre-MI. *Study 1*) comparing the *Sham* with HF rats at 14th week, the *Sham* rats showed higher $VO_{2\text{ max}}$ 57.8 ± 4.0 vs. 45.3 ± 14.4 ml/kg/min⁻¹ ($p=0.038$), distance traveled 390.2 ± 58.9 vs. 275.1 ± 95.9 m ($p=0.023$) and test duration 1058.4 ± 80.6 vs. 862.7 ± 180.8 s ($p=0.035$). *Study 2*) comparing the 14th with the 6th week, the LEDT-HF and LEDT+NMES-HF group were similar response to *Sham* group in speed, test duration and distance traveled, which were higher ($p \leq 0,05$) than in the Control-HF group. In addition, the LEDT+NMES-HF group showed increased distance traveled 256.5 ± 73.7 vs. 205.7 ± 75.9 m ($p=0.047$) and test duration 819.1 ± 147.3 vs. 699.7 ± 176.6 s ($p=0.018$), despite the decrease in $VO_{2\text{ max}}$ 46.7 ± 10.7 vs. 55.3 ± 6.2 ml/kg/min⁻¹ ($p=0.045$). In conclusion, this HF model in rats leads to changes in functional capacity and aerobic power; both LEDT interventions attenuated the deleterious effects of HF, and the LEDT+NMES was able to increase the functional capacity despite a decline in aerobic power in rats with HF.

Keywords: Heart failure, Electrotherapy, Phototherapy, Oxygen uptake.

INTRODUCTION

Heart Failure (HF) is currently recognized as a multisystemic disorder triggered by a reduction in cardiac function by hyperactivity of compensatory mechanisms such as hemodynamic, autonomic and neuro-humoral. These initially beneficial changes, over time become detrimental, affecting other systems such as musculoskeletal and immune, resulting in the development of the syndrome [1, 2]. It is characterized by inadequate function of the heart to maintain blood flow needed for metabolic activities of the body, due to left ventricular dysfunction that results in hemodynamic changes and limitation of functional capacity, which can trigger the limiting factors such as fatigue, dyspnea and exercise intolerance [3].

The most of rehabilitation programs for patients with HF is based on aerobic and resistance training, which remains a standard of care of these patients [4]. However, these exercises cause an increase in cardiac output that cannot be achieved for all patients and, in general, are only suitable for those with a degree of moderately advanced HF [5]. Therefore, new therapeutic strategies are being described, such as neuromuscular electrical stimulation (NMES) [6, 7] and phototherapy, which is still being tested on animals [8]. These approaches can play adjuvant role as rehabilitation options for patients with HF, especially in those with a higher degree of functional impairment [4].

Electrical stimulation is a therapeutic method that requires lower functional capacity than the classic physical training [9]. This treatment increases functional capacity, performance and overall muscle power as well as the

quality of life [4, 10, 11]. Low frequencies seem to work better, since they stimulate the motor fibers of type I (slow twitch), which are reduced in patients with HF. Thus, chronic low-frequency electrical stimulation produces an increase in oxidative capacity with reduced fatigability [12, 13].

Phototherapy can be applied as LLLT (Low Level Laser Therapy) or LEDT (Light Emitting Diode Therapy). This method has been widely used in clinical practice for purpose such as pain relief, reducing inflammation and healing, with a dose-dependent response [14, 15]. Mitochondria play an important role in energy generation and metabolism and are involved in current research about the mechanism of phototherapy effects. Studies suggest that, when applied on isolated mitochondria, leads to an increase in electrochemical potential, in RNA and protein synthesis, in oxygen consumption (VO_2), in mitochondrial membrane potential and in synthesis of NADH and ATP [16, 17].

Animal models of heart failure are used extensively in the scientific literature with the aim of studying the pathophysiology of this syndrome and to evaluate experimental drugs and non-pharmacological therapies [18, 19]. Several changes are evident in this model, such as impairment of systolic and diastolic functions, increased left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) at rest and during exercise, lower mean arterial pressure, lower maximal heart rate, lower values of peak VO_2 , exercise intolerance and cardiac remodeling [20, 21]. Thus, it is considered that the model of left anterior descending coronary artery ligation develops experimental HF with higher similarities with human HF [18].

Thus, it can be noticed that both the NMES as the LEDT, provide health benefits for patients with HF, as well as individuals and healthy animals. The aims of this study were to characterize the model of Wistar rats underwent surgery to induce myocardial infarction (MI) by functional capacity and maximal oxygen uptake ($VO_{2\text{ max}}$), as well as to compare the effects of two intervention programs (LEDT isolated and combined NMES) on hemodynamic function and functional capacity of rats with HF.

MATERIAL AND METHODS

Animals

This animal experimental controlled study was performed on 55 male Wistar rats weighing between 230 and 280g (~70 days of age), obtained from the Animal Breeding Unit of the Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). The rats were housed three per cages, and received food and water *ad libitum* in an animal room under a 12:12-h light-dark cycle, at 22°C. The study protocol followed the ethical rules established by the *Guide for Care and Use of Experimental Animal* published by the National Institutes of Health (NIH publication nº 85-23, revised in 1996). All procedures outlined in this study were approved by the UFCSPA Ethics and Research Committee on Animal Use (protocol 113/13).

Surgery to induce MI

The rats were weighed and anesthetized with inhaled isoflurane 2% (Isoforine, 100 ml - Cristália, Brasil) in a bell glass. During the anesthetic procedure was offered oxygen ($\text{FiO}_2 = 1.0$) [22] with the aid of a vaporizer (Veterinary Anesthesia to Rotameter, BR200 - Vetcare, Incontec Scientific LTDA, Brasil) with flow adjusted admission gas (0.5 – 1L/min). After spontaneous movements ceased, the animals were removed from the bell glass, placed in dorsal position and intubated with a catheter (14G-Gelko), where the anesthetic was offered during the surgical procedure. The animals were maintained in anesthetic level III Guedel [23]. The monitoring was performed by observing the presence of reflections, and respiratory rate mucosal color [24]. The surgical procedure started with the trichotomy of the left hemithorax followed by topical disinfection with 70% alcohol on site, using autoclaved material. A small incision (~1.5 cm) was made in the skin at fourth and fifth ribs and pectoral muscles were removed. The animal was subjected to artificial ventilation (Samway VR15, Uruguay), with a respiratory rate of 60 breaths per minute, inspiratory-expiratory ratio = 1.5/1 and inspired oxygen fraction = 100%. MI was induced as previously described [8, 25]. Briefly the heart was soon exposed through left thoracotomy. A mono-nylon suture 6-0 was passed around the main left descending coronary artery, at the point between 1 and 2 mm distal to the edge of the left atrium, and the left coronary was ligated. *Sham*-operated animals underwent the same procedure without tying the suture and served as control rats. The chest wall was closed, the skin was sutured with mono-nylon suture 3-0, and the pneumothorax was drained using a continuous aspiration system. After surgery was applied saline, 1 ml

intraperitoneally at room temperature for fluid replacement and a single dose of gentamicin, 0.1 ml intramuscularly for prophylaxis of infection. For the management of post-operative pain, Turbogesic[®] analgesic (butorphanol) was used, 0.5 mg / kg intraperitoneally 12/12h during the first 24 hours. After surgery, the rats were placed in a heated environment for recovery.

Experimental design

Before the allocation of the animals in studies 1 and 2, all rats were evaluated to characterize baseline variables of the functional capacity.

Study 1: to characterize the animals longitudinally, 15 Wistar rats (5 who had *Sham* surgery and 10 who suffered blocking the left descending coronary artery) underwent assessment of respiratory metabolism during exercise test at three times: before surgery, 6 weeks and 14 weeks after surgery. At the end of the 14th week, 4 rats died and 2 rats showed no signs of left ventricular dysfunction (similar to *Sham* LVEDP), totaling 40% loss. Thus, the *Sham* group was formed by an $n=5$ and HF group for $n=4$.

Study 2: to compare the effects of interventions after MI, 40 rats remained in recovery for a period of 6 weeks. After this period, 6 rats died and 11 showed no signs of left ventricular dysfunction (similar to *Sham* LVEDP), totaling 42.5% loss. Then, remained 23 rats who has been divided into four experimental groups: *Sham* control group (*Sham*, $n=6$), HF control group (Control-HF, $n=4$), light emitting diode therapy group (LEDT-HF, $n=6$) and light emitting diode therapy associated with neuromuscular electrical stimulation group (LEDT + NMES-HF, $n=7$).

Phototherapy protocol

The rats were placed on a surgical table and immobilized manually by the researcher. The LEDT (equipment developed at the Institute of Physics of the Universidade de São Paulo in cooperation with researchers from the Laboratory of Interaction of Acoustic and Electromagnetic Fields with Biological Materials of the Universidade Federal de São Carlos, SP, Brazil) was applied directly on the right gastrocnemius muscle, with shaved paw as described above, for a period of eight weeks with applications five times a week [8, 26], according to the parameters of table 1. This procedure was applied immediately before the NMES protocol.

Neuromuscular Electrical Stimulation protocol

Electrically stimulated groups of animals were subjected to a protocol of neuromuscular electrical stimulation (995 Fes Vif, Quark, Brazil) for a period of eight weeks. Animals had the shaved right hind paw and the electrodes were placed on the gastrocnemius muscle by a system with velcro fastener. Animals were placed in a rigid corset, along the trunk, allowing the movement of fore and hind paws to prevent the removal of the electrodes. This is in accordance with previous studies performed on [27-29] and was considered appropriate after simulation of therapeutic intervention. The protocol consisted of five NMES sessions per week, held on consecutive days, except on weekends. NMES sessions lasted 30 minutes and the intervention was made respecting the parameters described in table 1. The dose used was sufficient to generate a

visible muscle contraction [30], starting from 4 to 6 mA, 10 mA until reaching the end of the protocol. The training progression was ensured by increasing of the dose during each session as well as during the entire period of the protocol. This procedure was applied immediately after the LEDT protocol.

Measurement of oxygen maximal uptake and maximal exercise test

All rats were adapted to the treadmill (10 min per day; 10 to 30 m/s) for 1 week before MI (experiment 1) and 1 week before start of the protocol (experiment 2). Rats were placed on a treadmill and enclosed in an airtight metabolic chamber. After 15 minutes of rest on the treadmill, VO_2 baseline was collected. VO_2 was measured by means of expired gas analysis during an incremental protocol exercise test, which consists on a treadmill exercise with 5 m/min increments every 3 minutes, and finished when $\text{VO}_{2\text{ max}}$ was reached. Exhaustion was defined as spending time on the shocker plate without attempting to reengage the treadmill within 15 s or the VO_2 after which an increase in work rate was not associated with a further increase ($\pm 5\%$) in continuously measured O_2 uptake [31]. Oxygen uptake (VO_2) and carbon dioxide output (VCO_2) were continuously monitored during the exercise test. VO_2 and VCO_2 were analyzed by capturing the concentration of the gases oxygen and carbon dioxide in the metabolic chamber that covers the treadmill. The metabolic chamber-enclosed treadmill was airtight, connected to a vacuum pump. Appropriate inspired PO_2 was delivered from gas tanks with known concentrations. Inflow was maintained constant at 2.5 l/min. Inflowing and outflowing O_2 and CO_2 concentrations were measured continuously through a

gas analyzer (AVS Projetos, São Carlos, SP, Brasil). The maximal exercise test was performed before, 6 weeks and 14 weeks after MI.

Hemodynamic evaluation

After the LEDT e NMES protocols and maximal exercise test, animals were anesthetized with xylazine (12 mg/kg, ip) and ketamine (90 mg/kg, ip), and a small incision was made in the anterior cervical region to access the right carotid artery and introduce a polyethylene catheter (PE-50) for cannulation of the left ventricle (LV) [25]. The AP was recorded first during a 5-min period. Then, the catheter was positioned inside the LV, and the pulse wave was monitored using the typical graphic registration of ventricular pressure and recorded for 5 min. These data were used to determine LV systolic pressure (LVSP), LV maximum change in pressure over time ($+dP/dt_{max}$) and LV minimum change in pressure over time ($-dP/dt_{max}$), and LV end-diastolic pressure (LVEDP).

Heart hypertrophy, lung and hepatic congestion

The heart, lungs and liver were removed and weighed. The right ventricle (RV) and left ventricle (LV) were dissected, separated and weighed. The heart-to-body weight (H/BW), LV-to-body weight (LV/BW) and RV-to-body weight (RV/BW) were determined and used as an indication of heart hypertrophy. The lungs and liver of each animal were dehydrated (80°C) for 48h and then reweighed to determine the water content. Lung and liver wet-to-dry weight

ratios were used to determine the percentage of water in those tissues, as an indication of congestion [21].

Infarct size

Myocardial infarct scar and the total area of the left ventricle were traced manually on the scanned images and measured automatically by computer (Image Pro-Plus 6.1, Media Cybernetics, Silver Spring, USA) program. The infarct size, expressed as a percentage was calculated by dividing the sum of infarct areas of all sections by the sum of the areas of the left ventricle (including those without infarct) and multiplied by 100. The analysis was performed in triplicate by three blinded observers [32].

Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was performed to evaluate normally for all variables. Statistical differences among groups were identified using test *t* Student, one-way analysis of variance (ANOVA) or two-way repeated measure ANOVA followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. A *P* value <0.05 was considered statistically significant. SigmaPot 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) for Windows was used as a computation tool in the data analysis. GraphPad Prism 5 (Graph-Pad Software, San Diego, CA, USA) for Windows was used for complementary analysis and to construct charts. Data are presented as mean and standard deviation (SD).

RESULTS

Table 2 shows the baseline characteristics of the functional capacity of healthy Wistar rats.

Study 1:

Characterization of functional capacity of Wistar rats before surgery to induction of myocardial infarction

Functional capacity over time:

This study was composed for 9 rats, the infarcted areas of the HF group (n=4) was 24.8 ± 4.2 %. Other variables such as initial and final weight, cardiac hypertrophy, hypertrophy of the left ventricle and right ventricle, as well as lung and liver congestion, showed no difference among groups. In relation to hemodynamic parameters the rats of HF group showed left ventricular dysfunction characterized by the increase in LVEDP and a decrease in $dP/dt_{\min}$ when compared at *Sham* 22.7 ± 3.3 vs. 5.2 ± 1.9 and -3097.4 ± 597.7 vs. -4078.4 ± 832.7 , ($p=0.025$ and $p=0.025$, respectively).

Figure 1 demonstrated the functional capacity values before and after MI in HF and *Sham* groups. *Sham* group showed a decreased in $VO_{2\max}$ 6 weeks after the surgery from 44.3 ± 8.7 to 58.7 ± 3.4 ml/kg/min ($p=0.008$) and there was a recovery after the 14 weeks 57.8 ± 4.0 ml/kg/min ($p=0.005$) compared with 6 weeks. HF group showed a decreased in $VO_{2\max}$ after 6 and 14 weeks from the MI surgery: 53.0 ± 10.9 and 45.3 ± 14.3 vs. 68.4 ± 3.3 ml/kg/min ($p<0.001$ and $p=0.004$, respectively). HF group demonstrate a reduction in $VO_{2\max}$ compared to *Sham* group at 14 weeks ($p=0.038$). *Sham* group showed a

higher run distance in the 14 weeks after surgery (390.2 ± 58.9) compared with pre-surgery (237.4 ± 73.6) and 6 weeks (269.8 ± 62.4 m), respectively ($p=0.004$ and $p=0.009$). HF group traveled a shorter distance compared to the *Sham* group in 14 weeks: 390.2 ± 58.9 vs. 275.0 ± 95.9 m ($p=0.023$). *Sham* group remained longer time on the treadmill at 14 weeks after surgery compared with pre-surgery (786.8 ± 153.8) and 6 weeks (856.0 ± 126.9 s), respectively ($p=0.005$ and $p=0.013$). HF group remained for less time on the treadmill compared to the *Sham* group after 14 weeks: 1.058 ± 80.5 vs. 862.7 ± 180.8 s ($p=0.035$).

Study 2: effects of interventions

Total mortality, body weight, heart hypertrophy, infarct size, pulmonary and hepatic congestion.

Table 3 summarizes the data on body weight, heart hypertrophy, infarct size, pulmonary and hepatic congestion. The HF rats had cardiac hypertrophy and increased pulmonary congestion compared to the *Sham* group. There were no differences in the values of hepatic congestion among groups.

Hemodynamic variables

The values of hemodynamic parameters are presented in Table 4. When compared to *Sham* animals, the HF rats showed left ventricular dysfunction characterized by a higher LVEDP and lower dP/dt_{min} . However, no significant difference was found between the HF groups.

Functional capacity variables

Table 5 presents the values related to functional capacity after 6 and 14 weeks of follow-up. The *Sham* group demonstrate increased in $VO_{2\text{ max}}$ at 14 weeks compared with 6 weeks (56.6 ± 4.7 vs. 47.4 ± 10.8 ml/kg/min; $p=0.048$), as well as in the run distance during the test (373.6 ± 66.6 vs. 262.1 ± 58.9 m; $p<0.001$), in the time spent on a treadmill (1031.5 ± 97.7 vs. 840.8 ± 119.4 s; $p=0.001$) and in the speed (0.36 ± 0.03 vs. 0.31 ± 0.03 m/s; $p<0.001$). These results are related to the delayed recovery after *Sham* procedure.

On the other hand, from 6th to 14th weeks, the animals in the LEDT+NMES-HF group increased the distance traveled during the test (205.7 ± 75.9 vs. 256.6 ± 73.7 m; $p=0.047$), and the time spent on a treadmill (699.7 ± 176.6 vs. 819.1 ± 147.3 s; $p=0.018$), even a decrease in $VO_{2\text{ max}}$ (55.4 ± 6.3 vs. 46.7 ± 10.7 ml/kg/min; $p=0.045$).

Percentage difference on functional capacity

Figure 2 presents the values of functional capacity in percentage difference related to pre-intervention (6 weeks). Control-HF group remained 26.7% less time on the treadmill compared to the *Sham* group ($p=0.022$), 23.3% less compared to the group LEDT+NMES-HF ($p=0.024$) and 20.5% less compared to LEDT-HF group ($p=0.023$). Similarly, covered distance of the Control-HF group was 43.2% lower than the *Sham* group ($p=0.007$), 35.3% less than the LEDT+NMES-HF group ($p=0.014$) and 32.5% lower than in the LEDT-HF group ($p=0.011$). This same pattern was also observed with regard to the

maximum speed achieved during the test. The animals in the Control-HF group reached a speed 19.5% less than the *Sham* group ($p=0.005$), 12.6% less than the LEDT+NMES-HF group ($p=0.044$) and 12.21% less than the LEDT-HF group ($p=0.024$).

DISCUSSION

This is the first report to present the baseline characteristics of functional capacity (VO_2) in rats underwent surgery to induce acute myocardial infarction. From this study it was demonstrated that the surgical procedure itself can impair functional capacity, where both the animals of the *Sham* group and HF group decreased levels of $VO_{2\text{ max}}$ in 6 weeks. However, it is important to note that the animals in the HF group decreased further $VO_{2\text{ max}}$, whereas the animals in the *Sham* group recovered to baseline after 14 weeks, with a significant difference between groups at 14 weeks. The variables distance, time and speed were expressed in a similar way, where the animals of the *Sham* group increased their values over time for periods pre-surgery and 6 weeks, and the animals of the HF group decreased, but the variable speed showed no significant difference. These results show that the animals who had MI surgery with anterior descending artery ligation decreased functional capacity over time, which is directly related to the development of the HF syndrome.

To the best of our knowledge, this is the first study to investigate the changes in the functional capacity of rats with heart failure after being subjected to phototherapy (LEDT) isolated and associated with neuromuscular electrical

stimulation (LEDT+NMES). Through the application of different interventions, we realize that both LEDT-HF as LEDT+NMES-HF groups increased their values of distance, time and speed when compared to animals of the Control-HF group, but with no influence on the levels of $VO_{2\max}$. Analysing the absolute data of table 5 we realize that only the LEDT doesn't provide significant effect, but when combined with NMES, it promotes increase in distance, time and speed. However, the interpretation of the percentage data in figure 2 suggest that the isolated LEDT is effective, as well as when combined with NMES. Therefore, this demonstrates that the effects of therapies are potentiated when combined, as demonstrated by the percentage increase of the variables distance, time and speed. We believe that these results are related to peripheral muscle changes caused by NMES and by LEDT, without influencing in the central hemodynamic control.

The functional capacity or exercise capacity is directly related to the central hemodynamics and heart in particular. Hemodynamic changes, such as left ventricular dysfunction and progressive decline in cardiac output, lead to the appearance of clinical symptoms of dyspnea, fatigue, and exercise intolerance [1]. However, in addition to the abnormalities of the heart, there is also reduced skeletal muscle perfusion associated with lower capillarization, change in the composition of the muscle fibers (fiber percentage decrease in type I and an increase in type IIb fibers) and increased levels of inflammatory cytokines, which explains the "muscle hypothesis" as the main peripheral mechanism responsible for the clinical manifestations of fatigue and dyspnea on exertion [9, 33].

The changes in the level of skeletal muscle are quite evident in patients with HF, leading to intrinsic changes in muscle composition, such as: decreased ability to produce energy for performing aerobic activity, changes in quality and quantity, resulting in loss of muscle mass [2, 4]. Studies have shown a reduction of 10 to 20% in the composition of slow-twitch type I (fatigue resistant) fibers, associated with an increase in the percentage of fast twitch fibers type IIb (not resistant to fatigue) in patients with HF when compared to the control group [3-5]. An imbalance between protein synthesis and degradation with cachexia resulting plays an important role in the onset of symptoms. Programmed cell death (apoptosis) has been found in both skeletal muscle and in the interstitial cells of patients with HF, influencing directly on muscle contractility and the atrophy process [2, 34, 35].

Curiously, we realized that the animals LEDT+NMES-HF group had a reduction of their $VO_{2\text{ max}}$ over time, once it was expected an increase like happened in some other similar studies with surgery myocardial induction and functional capacity evaluation, but with different protocols (aerobic exercise training) [36, 37]. In these studies, the authors attribute the improved in functional capacity of infarcted rats submitted to protocols of aerobic exercise training to two factors, the central and peripheral.

However, in this study, the animals of LEDT+NMES-HF group reached a greater distance and remained for a significantly longer period of time at the treadmill after the application of the protocol when compared to the 6 weeks after MI. This shows that the improvement in functional capacity of these animals should be related to the peripheral muscle factors.

Some studies have shown the beneficial effects of NMES on peripheral factors related to improved functional capacity and aerobic metabolism of patients with HF, characterized by an increase in $VO_{2\text{ peak}}$ and biochemical improvement (increase in citrate synthase activity), besides improving mitochondrial function associated with the decrease in the glyceraldehydephosphate dehydrogenase activity (a key enzyme for anaerobic metabolism) [12, 38-41]. Moreover, studies demonstrate an increased number of blood vessels and the total cross-sectional area of muscle fibers of rats submitted to NMES, which may be related to functional and metabolic benefits to the peripheral muscle level [9].

In a review that summarizes the potential benefits of NMES and inspiratory muscle training in patients with HF, 7 of the 9 studies that evaluated the changes in functional capacity after NMES application, showed a significant increase $VO_{2\text{ peak}}$, ranging from 4 to 20%. In the same review, 2 of 7 studies that showed a significant increase in $VO_{2\text{ peak}}$ after application of NMES realized that the largest differences occurred among subjects with lower levels of exercise capacity at baseline [4]. Confirming what has been described above, we believe that the possible effects of phototherapy (LEDT) on functional capacity are based on the activation of the mitochondrial respiratory chain. The most common hypothesis presented in the scientific literature related to mechanism of action of phototherapy, is based on the increased activity and mitochondrial ATP synthesis and anti-inflammatory activity [42-47]. The improvement in muscle performance, directly related to improved functional capacity, present in subjects undergoing phototherapy (LLLTL/LEDT), can be explained by the

interaction between the production of ATP aerobically and anaerobically involving phosphocreatine resynthesis, and removal and oxidation of lactic acid by increasing the local microcirculation [46, 48].

Although we have not analyzed the biochemical changes, such as the levels of creatine kinase and lactate as well as the morphological changes of the muscle fibers, the mechanisms described above can influence the improvement of the functional capacity of the infarcted animals, by increasing the oxidative capacity and resistance to muscle fatigue. Regarding these changes, we found a significant increase in the time and in the distance of the HF animals during maximal exercise test, after underwent at the LEDT+NMES protocol.

LIMITATIONS

One of the limitations of this study was the lack of NMES-HF group. Another limitation was the lack of biochemical, morphological and autonomic control mechanisms that could have further enriched our discussion reviews. These could not be presented due to lack of time to complete the analysis, making some suggestions for future studies.

CONCLUSIONS

In conclusion, the main finding of the study, which contributes noticeably to the basis for future studies was the characterization of the Wistar rat model undergoing surgical induction of MI. Noteworthy, the findings of the second study indicate the beneficial effects of LEDT and NEMS on functional capacity of rats with HF, characterized as new treatment modalities non-pharmacological, safe, easy to use and inexpensive, which can be associated the conventional treatment of the HF syndrome.

It is important to mention that this study was the first to show the influence of surgical induction of myocardial infarction, as well as LEDT and NMES on functional capacity in rat model with IC.

ACKNOWLEDGMENTS

We are thankful to Edson Quagliotto (PhD), Ramiro Barcos Nunes (PhD) and Jadson Alves (MSc) for their assistance during development of this study.

GRANTS

This research was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS, PRONEM – Programa de Núcleos Emergentes, 2011), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Chamada Universal, 2012), as well as the Programa Nacional de Pós-doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, PNPD Concessão Institucional, 2011).

DISCLOSURES

There are no conflicts of interest to be declared by the author(s).

REFERENCES

1. Piepoli, M.F., et al., *Exercise intolerance in chronic heart failure: mechanisms and therapies. Part II.* Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2010. **17**(6): p. 643-8.
2. Piepoli, M.F., et al., *Exercise intolerance in chronic heart failure: mechanisms and therapies. Part I.* Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2010. **17**(6): p. 637-42.
3. Duscha, B.D., et al., *Implications of chronic heart failure on peripheral vasculature and skeletal muscle before and after exercise training.* Heart Fail Rev, 2008. **13**(1): p. 21-37.
4. Arena, R., et al., *Neuromuscular electrical stimulation and inspiratory muscle training as potential adjunctive rehabilitation options for patients with heart failure.* J Cardiopulm Rehabil Prev, 2010. **30**(4): p. 209-23.
5. Dobsak, P., et al., *Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure.* Circ J, 2006. **70**(1): p. 75-82.
6. Dobsak, P., et al., *Effects of neuromuscular electrical stimulation and aerobic exercise training on arterial stiffness and autonomic functions in patients with chronic heart failure.* Artif Organs, 2012. **36**(10): p. 920-30.
7. Karavidas, A., et al., *Functional electrical stimulation of lower limbs in patients with chronic heart failure.* Heart Fail Rev, 2010. **15**(6): p. 563-79.
8. Hentschke, V.S., et al., *Low-level laser therapy improves the inflammatory profile of rats with heart failure.* Lasers Med Sci, 2012.
9. de Leon, E.B., et al., *Neuromuscular electrical stimulation improves GLUT-4 and morphological characteristics of skeletal muscle in rats with heart failure.* Acta Physiol (Oxf), 2011. **201**(2): p. 265-73.
10. Harris, S., et al., *A randomised study of home-based electrical stimulation of the legs and conventional bicycle exercise training for patients with chronic heart failure.* Eur Heart J, 2003. **24**(9): p. 871-8.
11. Deley, G., et al., *Do low-frequency electrical myostimulation and aerobic training similarly improve performance in chronic heart failure patients with different exercise capacities?* J Rehabil Med, 2008. **40**(3): p. 219-24.
12. Nuhr, M.J., et al., *Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure.* Eur Heart J, 2004. **25**(2): p. 136-43.
13. Karavidas, A., et al., *Functional electrical stimulation is more effective in severe symptomatic heart failure patients and improves their adherence to rehabilitation programs.* J Card Fail, 2010. **16**(3): p. 244-9.
14. Aimbire, F., et al., *Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNFalpha levels in acute inflammation.* Photomed Laser Surg, 2006. **24**(1): p. 33-7.
15. Lopes-Martins, R.A., et al., *Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats.* J Appl Physiol, 2006. **101**(1): p. 283-8.
16. Huang, Y.Y., et al., *Biphasic dose response in low level light therapy.* Dose Response, 2009. **7**(4): p. 358-83.
17. Huang, Y.Y., et al., *Biphasic dose response in low level light therapy - an update.* Dose Response, 2011. **9**(4): p. 602-18.
18. Hasenfuss, G., *Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy.* Cardiovasc Res, 1998. **39**(1): p. 60-76.

19. Batista, M.L., Jr., et al., *Exercise training changes IL-10/TNF-alpha ratio in the skeletal muscle of post-MI rats*. Cytokine, 2010. **49**(1): p. 102-8.
20. Batista, M.L., Jr., et al., *Endurance training modulates lymphocyte function in rats with post-MI CHF*. Med Sci Sports Exerc, 2008. **40**(3): p. 549-56.
21. Nunes, R.B., et al., *Physical exercise improves plasmatic levels of IL-10, left ventricular end-diastolic pressure, and muscle lipid peroxidation in chronic heart failure rats*. J Appl Physiol, 2008. **104**(6): p. 1641-7.
22. Munkvik, M., et al., *Attenuated fatigue in slow twitch skeletal muscle during isotonic exercise in rats with chronic heart failure*. PLoS One, 2011. **6**(7): p. e22695.
23. Colman, D., et al., *[Analysis of heat loss using inhalation agents in rats subjected to laparotomy and increased intra-abdominal pressure, using digital infrared thermal image]*. Rev Bras Anesthesiol, 2002. **52**(3): p. 307-15.
24. Hecker, B.R., et al., *The decrease of the minimum alveolar anesthetic concentration produced by sufentanil in rats*. Anesth Analg, 1983. **62**(11): p. 987-90.
25. Jaenisch, R.B., et al., *Respiratory muscle training improves hemodynamics, autonomic function, baroreceptor sensitivity, and respiratory mechanics in rats with heart failure*. J Appl Physiol, 2011. **111**(6): p. 1664-70.
26. Camargo, M.Z., et al., *Effects of light emitting diode (LED) therapy and cold water immersion therapy on exercise-induced muscle damage in rats*. Lasers Med Sci, 2012. **27**(5): p. 1051-8.
27. Salvini, T.F., et al., *Effects of electrical stimulation and stretching on the adaptation of denervated skeletal muscle: implications for physical therapy*. Rev Bras Fisioter, 2012. **16**(3): p. 175-83.
28. Russo, T.L., et al., *Electrical stimulation increases matrix metalloproteinase-2 gene expression but does not change its activity in denervated rat muscle*. Muscle Nerve, 2008. **37**(5): p. 593-600.
29. Durigan, J.L., et al., *Neuromuscular electrical stimulation alters gene expression and delays quadriceps muscle atrophy of rats after anterior cruciate ligament transection*. Muscle Nerve, 2014. **49**(1): p. 120-8.
30. Karavidas, A., et al., *Effects of functional electrical stimulation on quality of life and emotional stress in patients with chronic heart failure secondary to ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy: a randomised, placebo-controlled trial*. Eur J Heart Fail, 2008. **10**(7): p. 709-13.
31. Batista, M.L., Jr., et al., *Endurance training restores peritoneal macrophage function in post-MI congestive heart failure rats*. J Appl Physiol (1985), 2007. **102**(5): p. 2033-9.
32. Pfeffer, M.A., et al., *Myocardial infarct size and ventricular function in rats*. Circ Res, 1979. **44**(4): p. 503-12.
33. Piepoli, M.F. and A.J. Coats, *The 'skeletal muscle hypothesis in heart failure' revised*. Eur Heart J, 2013. **34**(7): p. 486-8.
34. Vescovo, G., et al., *Apoptosis in the skeletal muscle of patients with heart failure: investigation of clinical and biochemical changes*. Heart, 2000. **84**(4): p. 431-7.
35. Schulze, P.C., et al., *Chronic heart failure and skeletal muscle catabolism: effects of exercise training*. Int J Cardiol, 2002. **85**(1): p. 141-9.
36. Jorge, L., et al., *Cardiac and peripheral adjustments induced by early exercise training intervention were associated with autonomic improvement in infarcted rats: role in functional capacity and mortality*. Eur Heart J, 2011. **32**(7): p. 904-12.
37. Moreira, J.B., et al., *High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats*. J Appl Physiol (1985), 2013. **114**(8): p. 1029-41.

38. Deley, G., et al., *Comparison of low-frequency electrical myostimulation and conventional aerobic exercise training in patients with chronic heart failure*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2005. **12**(3): p. 226-33.
39. Dobsak, P., et al., *Electrical stimulation of skeletal muscles. An alternative to aerobic exercise training in patients with chronic heart failure?* Int Heart J, 2006. **47**(3): p. 441-53.
40. Maillefert, J.F., et al., *Effects of low-frequency electrical stimulation of quadriceps and calf muscles in patients with chronic heart failure*. J Cardiopulm Rehabil, 1998. **18**(4): p. 277-82.
41. Vaquero, A.F., et al., *Effects of muscle electrical stimulation on peak VO₂ in cardiac transplant patients*. Int J Sports Med, 1998. **19**(5): p. 317-22.
42. Leal Junior, E.C., et al., *Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans*. Photomed Laser Surg, 2008. **26**(5): p. 419-24.
43. Leal Junior, E.C., et al., *Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans*. Lasers Med Sci, 2009. **24**(3): p. 425-31.
44. Leal Junior, E.C., et al., *Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans*. Lasers Surg Med, 2009. **41**(8): p. 572-7.
45. Leal Junior, E.C., et al., *Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to postexercise recovery*. J Orthop Sports Phys Ther, 2010. **40**(8): p. 524-32.
46. Ferraresi, C., et al., *Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans*. Lasers Med Sci, 2011. **26**(3): p. 349-58.
47. Leal-Junior, E.C., 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, 2013.
48. de Almeida, P., et al., *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**(2): p. 453-8.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1 Functional capacity values pre MI and 6 and 14 weeks after MI in *Sham* (*Sham*, n=5) and Heart Failure (HF, n=4) groups. Values are mean (SD). Two-way repeated measures ANOVA followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. **a** $\text{VO}_{2\text{ max.}}$ (ml/Kg/min^{-1}); **b** Distance (m); **c** Time (s); **d** Speed (m/s). * $p<0.05$ compared to 6 weeks; $^{\dagger}p<0.01$ compared to pre MI; $^{\ddagger}p<0.01$ compared to 6 weeks; $^{\#}p<0.05$ compared to *Sham* group at 14 weeks; $^{\S}p<0.001$ compared to pre MI

Fig. 2 Effects of interventions (LEDT; LEDT+NMES) on functional capacity in percentage difference (Δ). Values are mean (SD). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. **a** $\text{VO}_{2\text{ max}}$ (ml/kg/min^{-1}); **b** Distance (m); **c** Time (s); **d** Speed (m/s). * $p<0.05$ compared to Control – HF; $^{\dagger}p<0.01$ compared to Control – HF

Table 1. Light Emitting Diode Therapy (LEDT) and Neuromuscular Electrical Stimulation (NMES) protocols

Protocols	
LEDT	GaAlAs (850nm)
Frequency	Continuous output
Optical output	50mW
Application area or spot size	0,2 cm ²
Power density	0,25 W/cm ²
Energy (per point)	3 J
Energy density (per point)	15 J/cm ²
Application time (per point)	60 s
Number of irradiation points per muscle group	2
Total energy delivered per muscle group	6 J
Application mode	LED device positioned at 90° angle in skin contact without moving and with light pressure
NMES	I = 70 mA; T = 40 µs - 250 µs; F = 4 Hz - 200 Hz; Alternating Current
Frequency (F)	30 Hz
Application time (t)	30 min
Duty cycle	8 s ON – 4 s OFF
Wave amplitude (T)	250 µs
Waveform	asymmetric bipolar
Intensity (I)	Sufficient to generate visible muscle contraction

Table 2. Baseline characteristics of the functional capacity of Wistar rats

Characterization before MI	Functional Capacity	
N = 55	M (DP)	MED (IQ)
Body Weight (g)	233 (21)	232 (178-283)
VO ₂ baseline (mL.kg.min ⁻¹)	29.6 (7.8)	21.0 (5-46)
VO ₂ max (mL.kg.min ⁻¹)	60.1 (10.0)	61.0 (37-78)
Δ VO ₂ (mL.kg.min ⁻¹)	30.5 (8.4)	30.0 (9-54)
Treadmill test time (s)	936.7 (223.7)	946.0 (444-1372)
Distance (m)	319.3 (117.2)	314.0 (98-584)
Speed (m/s)	0.33 (0.05)	0.33 (0.22-0.43)

Values are mean (SD), median (interquartile range). VO₂ baseline: baseline oxygen uptake; VO₂ max: maximal oxygen uptake; ΔVO₂: oxygen uptake reserve.

Table 3. Body, heart and ventricular weight ratio, tissue and infarct characteristics of Sham-operated rats and rats with Heart Failure

Groups	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Infarcted Area (%)	H/BW (mg/g)	LV/BW (mg/g)	RV/BW (mg/g)	Pulmonary Congestion (%)	Hepatic Congestion (%)
<i>Sham (n=6)</i>	265.8 (16.8)	307.8 (8.2)	-----	3.1 (0.3)	2.3 (0.3)	0.8 (0.2)	74.2 (1.2)	72.7 (1.8)
Control – HF (n=4)	257.0 (7.3)	316.3 (12.4)	24.8 (4.2)	3.8 (0.5)	2.7 (0.4)	1.0 (0.2)	78.2 (1.0)*	72.9 (1.1)
LEDT–HF (n=6)	237.2 (26.8)	302.2 (33.2)	24.0 (2.5)	4.2 (0.8)*	2.7 (0.2)	1.5 (0.6)	76.2 (0.9)*†	72.9 (0.9)
LEDT+NMES–HF (n=7)	250.7 (13.6)	324.6 (19.1)	26.3 (2.0)	3.6 (0.5)	2.4 (0.2)	1.3 (0.4)	75.9 (0.9)*†	70.9 (1.0)

Values are means (SD). Owe-way analysis of variance (ANOVA) followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. Control–HF = Heart Failure Control group; LEDT–HF = Light Emitting Diode Therapy Heart Failure group; LEDT+NMES–HF = Light Emitting Diode Therapy and Neuromuscular Electrical Stimulation Heart Failure group. H/BW: heart-to-body weight ratio; LV/BW: left ventricular-to-body weight ratio; RV/BW: right ventricular-to-body weight ratio. * $p<0.05$ compared to Sham; † $p<0.05$ compared to Control–HF.

Table 4. Hemodynamic variables

Groups	LVEDP (mmHg)	LVSP (mmHg)	dP/dt _{max} (mmHg/s)	dP/dt _{min} (mmHg/s)
<i>Sham</i> (n=6)	4.1 (1.4)	128.4 (29.7)	6027.0 (1407.3)	-4613.8 (1286.9)
Control–HF (n=4)	19.1 (7.6)*	94.5 (8.6)	4877.6 (962.3)	-3097.4 (597.7)
LEDT–HF (n=6)	20.6 (7.7)*	112.4 (25.7)	5364.6 (1750.5)	-3677.3 (1391.7)
LEDT+NMES–HF (n=7)	19.3 (7.3)*	102.2 (13.1)	4380.5 (1061.5)	-2813.8 (562.9)*

Values are means (SD). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. Control–HF = Heart Failure Control group; LEDT–HF = Light Emitting Diode Therapy Heart Failure group; LEDT + NMES–HF = Light Emitting Diode Therapy and Neuromuscular Electrical Stimulation Heart Failure group. LVEDP: Left ventricular end-diastolic pressure; LVSP: Left ventricular systolic pressure; dP/dt_{max}: Left ventricular maximum change in pressure over time; dP/dt_{min}: Left ventricular minimum change in pressure over time. * $p < 0.05$ compared to *Sham*.

5. Values related to functional capacity after 6 and 14 weeks of follow-up

	Sham (n=6)		Control – HF (n=4)		LEDT – HF (n=6)		LEDT + NEMS – HF (n=7)	
	6 weeks	14 weeks	6 weeks	14 weeks	6 weeks	14 weeks	6 weeks	14 weeks
VO ₂ baseline (mL.kg.min ⁻¹)	27.2 (4.5)	30.4 (5.5)	23.7 (5.5)	20.3 (8.2)	28.3 (6.2)	24.3 (5.6)	30.1 (3.2)	26.3 (7.5)
VO ₂ max (mL.kg.min ⁻¹)	47.4 (10.8)	56.6 (4.7)*	50.9 (9.2)	45.7 (14.6)	52.3 (5.2)	47.3 (6.9)	55.4 (6.3)	46.7 (10.7)*
Distance (m)	262.1 (59.0)	373.6 (66.6) [‡]	294.3 (65.1)	256.0 (61.6)	191.6 (55.1)	228.5 (52.1)	205.7 (75.9)	256.6 (73.7)*
Treadmill test time (s)	840.8 (119.5)	1031.5 (97.7) [‡]	904.3 (123.8)	831.0 (125.7)	684.7 (135.6)	771.0 (115.6)	699.7 (176.6)	819.1 (147.3)*
Speed (m/s)	0.31 (0.03)	0.36 (0.03) [‡]	0.32 (0.03)	0.31 (0.03)	0.27 (0.03)	0.29 (0.03)	0.29 (0.03)	0.31 (0.03)

Values are means (SD). Two-way repeated measures ANOVA followed by Student-Newman-Keuls post hoc test. Control-HF = Heart Failure Control group; LEDT-HF = Light Emitting Diode Therapy Heart Failure group; LEDT + NEMS – HF = Light Emitting Diode Therapy and Neuromuscular Electrical Stimulation Heart Failure group. VO₂ baseline: baseline oxygen uptake; VO₂ max: maximal oxygen uptake. * $P < 0.05$ compared to 6 weeks; [‡] $P < 0.01$ compared to 6 weeks; [†] $P < 0.001$ compared to 6 weeks.

Figure 1.

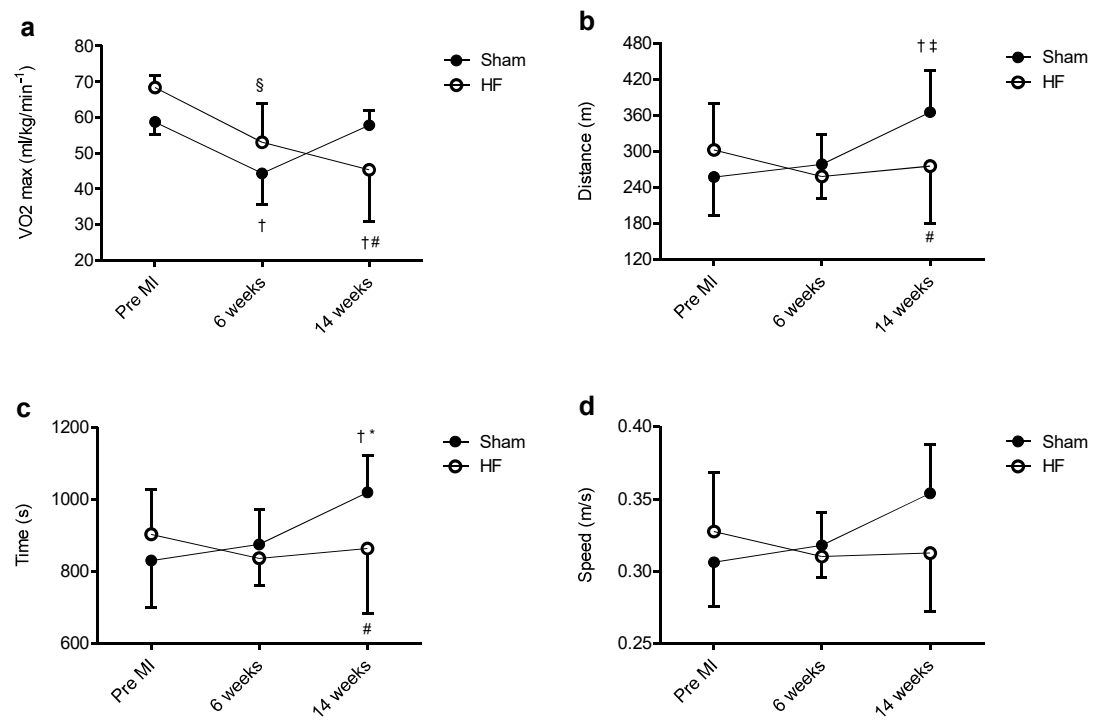
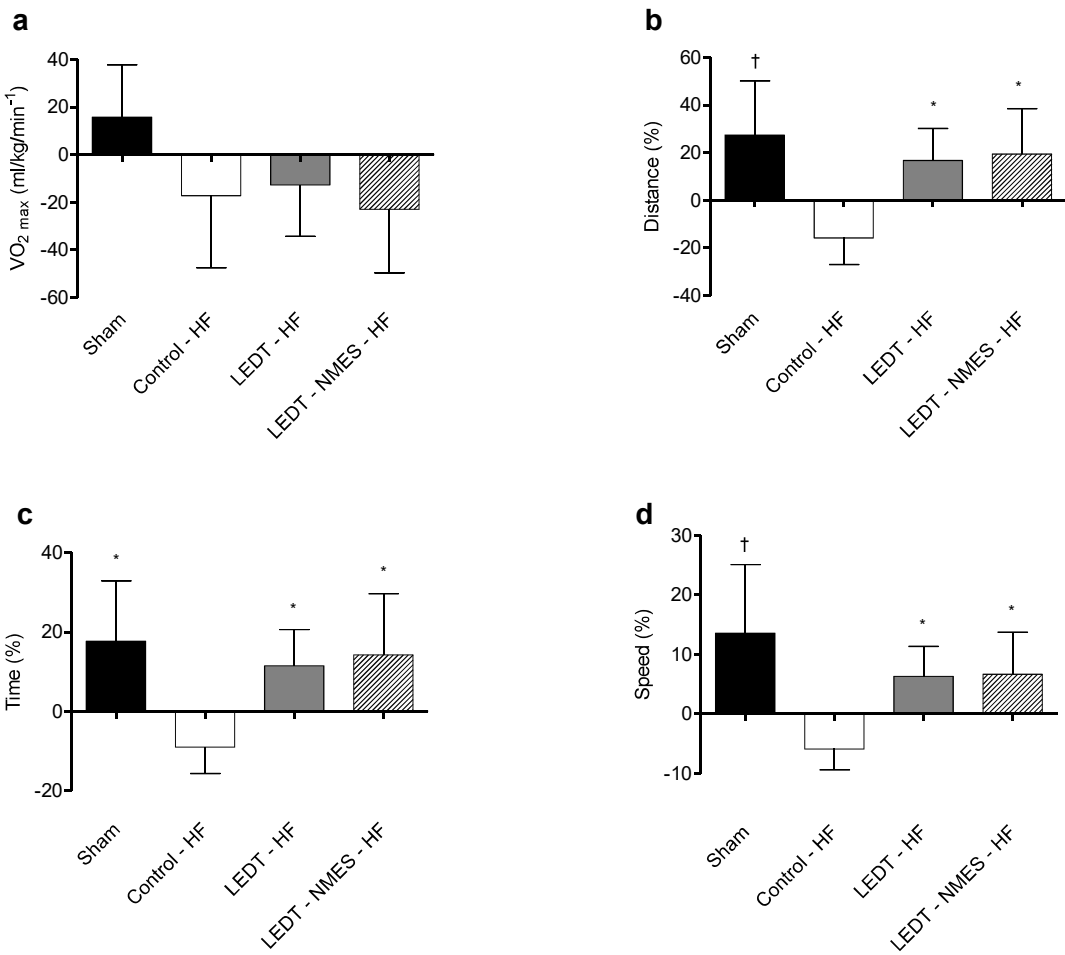


Figure 2.



5 CONCLUSÃO GERAL

A eletroterapia e a fototerapia são modalidades de tratamento normalmente empregadas para auxiliar o controle de diversas alterações musculoesqueléticas, tanto na melhora do desempenho esportivo, no controle da dor após o exercício e da funcionalidade como para a reabilitação de distúrbios inflamatórios, metabólicos, dolorosos e cicatriciais. No entanto, há algum tempo, estas terapias, em especial a eletroterapia, estão sendo utilizadas também como alternativas coadjuvantes ao tratamento de pacientes que sofrem de Insuficiência Cardíaca, por vezes, associadas ao exercício físico e à terapia medicamentosa otimizada.

Corroborando com o que foi supracitado, o destaque deste estudo fica a cargo da caracterização do modelo de ratos Wistar submetidos à cirurgia da indução do infarto através do bloqueio da artéria coronária descendente esquerda. Este foi o primeiro estudo a mostrar que o procedimento cirúrgico em si pode comprometer a capacidade funcional relacionada às alterações no VO_2 máx, distância e tempo, que estão associadas com o desenvolvimento da síndrome de IC.

Importa destacar também que, este mesmo modelo de ratos infartados, quando submetidos à NMES e à LEDT apresentou melhora na capacidade funcional relacionada ao aumento na distância, no tempo e na velocidade máxima atingida durante o teste de exercício em esteira. Entretanto, não houve efeito das terapias sobre o VO_2 máx, variável que define o potencial do metabolismo aeróbio relacionada ao sistema cardiopulmonar.

Assim, demonstramos que as terapias têm efeitos benéficos na melhora da capacidade funcional de ratos Wistar com Insuficiência Cardíaca, embora haja a necessidade da realização de outros estudos, com diferentes parâmetros e protocolos que possam demonstrar e ratificar a sua utilização.

ANEXOS

ANEXO A – Normas de formatação do periódico *Laser in Medical Science*

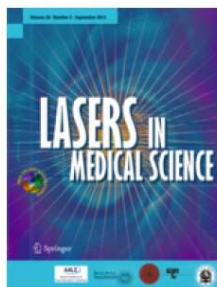
9/5/2014

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access



www.springer.com

Medicina | Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access



Lasers in Medical Science

Editor-in-Chief: Keyvan Nouri

ISSN: 0268-8921 (print version)

ISSN: 1435-604X (electronic version)

Journal no. 10103

Instructions for Authors

Instructions for Authors

TYPES OF PAPERS

- Original Article – limited to 4000 words, 45 references, no more than 5 figures
- Review Article – limited to 5000 words, 50 references, no more than 5 figures
- Brief Report - limited to 2000 words, 25 references, no more than 4 figures - Case Reports will not be accepted!
- Letter to the Editor – up to 600 words

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces

the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink "Submit online" on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

TITLE PAGE

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

SCIENTIFIC STYLE

Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

Units and abbreviations

- Please adhere to internationally agreed standards such as those adopted by the commission of the International Union of Pure and Applied Physics (IUPAP) or defined by the International Organization of Standardization (ISO). Metric SI units should be used throughout except where non-SI units are more common [e.g. litre (l) for volume].
- Abbreviations (not standardized) should be defined at first mention in the abstract and again in the main body of the text and used consistently thereafter.

Drugs

- When drugs are mentioned, the international (generic) name should be used. The proprietary name, chemical composition, and manufacturer should be stated in full in Materials and methods.

REFERENCES

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of "et al" in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J*

9/5/2014

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

Med 965:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN.org LTWA

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer's LaTeX macro package.

TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the

quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

9/5/2014

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

Supply all figures electronically.

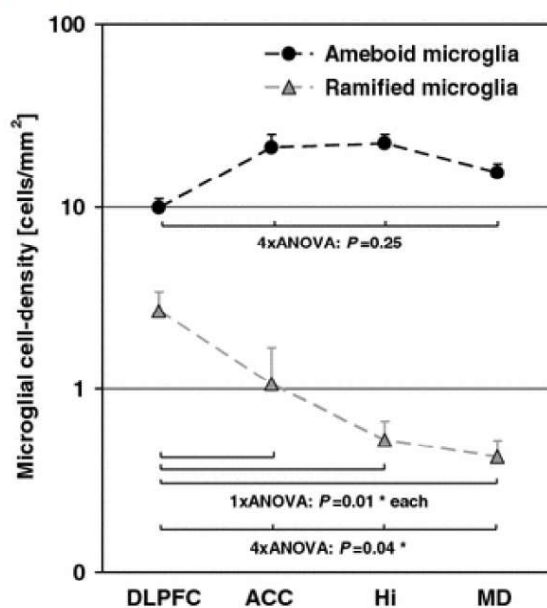
Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

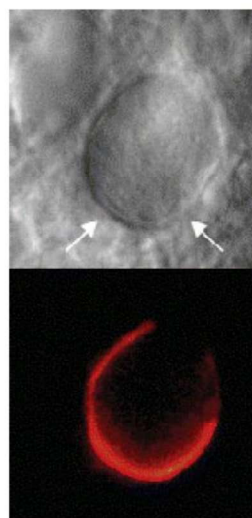
All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

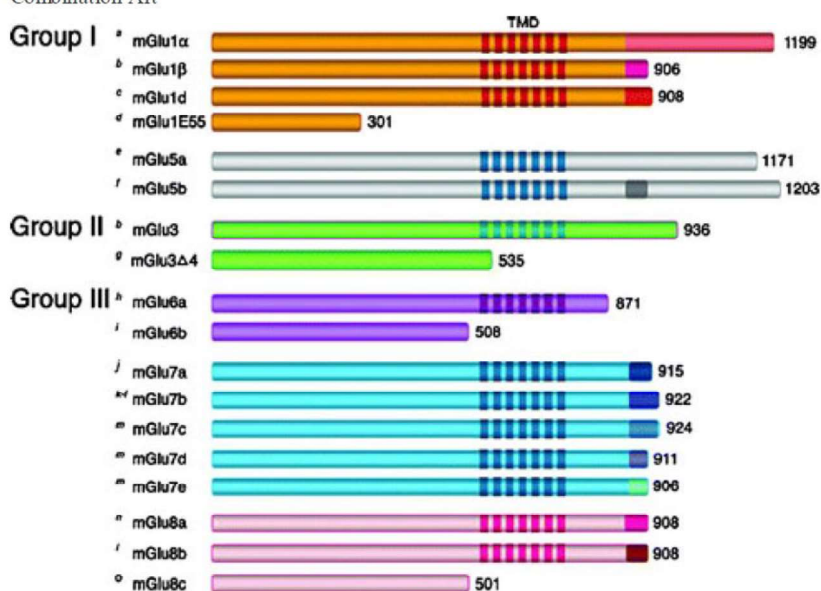
Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures. "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

- In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your

figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".

9/5/2014

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

- Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

INTEGRITY OF RESEARCH AND REPORTING

Ethical standards

Manuscripts submitted for publication must contain a statement to the effect that all human and animal studies have been approved by the appropriate ethics committee and have therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

It should also be stated clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. Details that might disclose the identity of the subjects under study should be omitted.

These statements should be added in a separate section before the reference list. If these statements are not applicable, authors should state: The manuscript does not contain clinical studies or patient data.

The editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned requirements

Conflict of interest

All benefits in any form from a commercial party related directly or indirectly to the subject of this manuscript or any of the authors must be acknowledged. For each source of funds, both the research funder and the grant number should be given. This note should be added in a separate section before the reference list.

If no conflict exists, authors should state: The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance to ethical requirements

Springer's statements on human and animal rights, conflict of interest and informed consent can be found at:

Statement on Human and Animal Rights

Conflict of Interest

Informed Consent

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

Springer Open Choice

SPRINGER OPEN CHOICE

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License..

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors

9/5/2014

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas
Springer

publishes in:

Edanz English editing for scientists

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

Edanz English editing for scientists

For Authors from China

文章在投稿前进行专业的语言润色将对作者的投稿进程有所帮助。作者可自愿选择使用Springer推荐的编辑服务，使用与否并不作为判断文章是否被录用的依据。提高文章的语言质量将有助于审稿人理解文章的内容，通过对学术内容的判断来决定文章的取舍，而不会因为语言问题导致直接退稿。作者需自行联系Springer推荐的编辑服务公司，协商编辑事宜。

理文编辑

For Authors from Japan

ジャーナルに論文を投稿する前に、ネイティブ・スピーカーによる英文校閲を希望されている方には、Edanz社をご紹介します。サービス内容、料金および申込方法など、日本語による詳しい説明はエダンズグループジャパン株式会社の下記サイトをご覧ください。

エダンズグループジャパン

For Authors from Korea

영어 논문 투고에 앞서 원어민에게 영문 교정을 받고자 하시는 분들께 Edanz 회사를 소개해 드립니다. 서비스 내용, 가격 및

신청 방법 등에 대한 자세한 사항은 저희 Edanz Editing Global 웹사이트를 참조해 주시면 감사하겠습니다.

Edanz Editing Global

© Springer faz parte do Springer Science+Business Media

ANEXO B – Parecer do CEUA

**CEUA –COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA E ENSINO****1) PROTOCOLO Nº: 113/13****2) DATA DO PARECER: 12/06/13****Parecer 200/13****3) TÍTULO DO PROJETO:**

Estimulação elétrica neuromuscular e fototerapia de baixa potência em ratos com insuficiência cardíaca após infarto do miocárdio

4) PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Prof. Dr. Pedro Dal Lago

5) RESUMO DO PROJETO:

O estudo tem por objetivo comparar os efeitos de três programas de intervenção (eletroestimulação de baixa frequência, fototerapia de baixa potência e a combinação de ambos os tratamentos) nos parâmetros de consumo de oxigênio, perfil inflamatório, morfometria muscular (sóleo e gastrocnêmio), sensibilidade dos barorreceptores e função hemodinâmica. Para tal, serão utilizados 5 grupos experimentais, com n de 14 em cada grupo (levando em consideração o cálculo amostral com n mínimo necessário para detectar diferenças significativas e perda amostral de 30 a 40% na indução da IC). Os animais serão anestesiados por via inalatória para a realização do modelo de IC (Isoflurano 2%). Receberão dose única de gentamicina (0.1 mL I.M.) após a indução do infarto e após o procedimento de canulação. Os animais serão analgésicos com 0.5 mg/Kg I.P. de Turbogesic (butorfanol) de 12/12h durante as 24h após a indução do modelo de IC. A anestesia com Cetamina (80mg/Kg) e Xilazina (10 mg/Kg) será realizada para a cateterização arterial e venosa. Os animais serão eutanasiados por sobredose de anestésico.

6) OBJETIVOS DO PROJETO:

Comparar os efeitos de três programas de intervenção (eletroestimulação de baixa frequência, fototerapia de baixa potência e a combinação de ambos os tratamentos) nos parâmetros de consumo de oxigênio, perfil inflamatório, morfometria muscular (sóleo e gastrocnêmio), sensibilidade dos barorreceptores e função hemodinâmica.

7) FINALIDADE DO PROJETO: ☐ Ensino ☒ Pesquisa

8) ITENS METODOLÓGICOS E ÉTICOS DO PROJETO:

Título ☒ Adequado ☐ Comentários

Introdução ☒ Adequada ☐ Comentários

Objetivos ☒ Adequados ☐ Comentários

Relevância e Justificativa ☒ Adequados ☐ Comentários

Materiais e Métodos ☒ Adequados ☐ Comentários

Cronograma para execução da pesquisa ☒ Adequado ☐ Comentários

Orçamento e fonte financiadora ☒ Adequados ☐ Comentários

Referências Bibliográficas ☒ Adequadas ☐ Comentários

9) O PROJETO ESTÁ ADEQUADO À LEGISLAÇÃO VIGENTE:

☒ Sim ☐ Não

10) INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS ANIMAIS:

Grau de dor/estresse: B ☐ C ☐ D ☒ E ☐

Justifique:

Procedimentos que causam dor ou estresse exigindo o emprego de anestésico e analgésico. Procedimento cirúrgico de pequeno e grande porte.

Espécie:

Número Amostral:

Redução Amostral: ☐ Sim ☒ Não

Justifique:

Substituição de Metodologia: ☐ Sim ☒ Não

Aprimoramento da Metodologia: ☐ Sim ☒ Não

Se achar necessário, justifique e sugira aprimoramentos da metodologia:

Acomodação e manutenção dos animais: ☒ Adequada ☐ Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias:

Manipulação dos animais:

☒

Adequada

☐

Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias:

Analgesia dos animais (se aplicável):

☒

Adequada

☐

Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias com analgésico substituto:

Anestesia dos animais (se aplicável):

☒

Adequada

☐

Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias com anestésico substituto:

Eutanásia dos animais (se aplicável):

☒

Adequada

☐

Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias com metodologia substituta:

Local de Realização (Biotério/Laboratório):

Laboratório de Fisiologia – UFCSPA

11) CRONOGRAMA DE UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS

Data

Espécie

Sexo

Quantidade

Ratos Wistar

M

70

12) RECOMENDAÇÃO:

☒

Aprovado

☐

Com Pendência

☐

Não aprovado