



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - BIOFOTÔNICA

Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt

**O PAPEL DA FOTOBIMODULAÇÃO NA COLITE  
EXPERIMENTAL: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS.**

São Paulo, SP

2023

**O PAPEL DA FOTOBIOMODULAÇÃO NA COLITE  
EXPERIMENTAL: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS.**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho para obtenção do título de Mestre em Medicina - Biofotônica.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Lino dos Santos Franco

São Paulo, SP

2023

Bitencourt, Kelly Cristina Quintela Martins.

O papel da fotobiomodulação na colite experimental:  
comparação entre machos e fêmeas. / Kelly Cristina Quintela  
Martins Bitencourt. 2023.

62 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho -  
UNINOVE, São Paulo, 2023.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Lino dos Santos Franco.

1. Colite. 2. Fotobiomodulação. 3. Dimorfismo sexual. 4.  
Citocinas. 5. Produção de muco. 6. Mastócitos.

I. Franco, Adriana Lino dos Santos. II. Título.

CDU 615.831

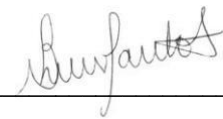
São Paulo, 17 de novembro de 2023.

**TERMO DE APROVAÇÃO**

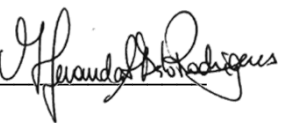
Aluno (a): Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt

Título da Dissertação: "O papel da fotobiomodulação na colite experimental: comparação entre machos e fêmeas".

Presidente: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ADRIANA LINO DOS SANTOS FRANCO



Membro: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. MARIA FERNANDA SETUBAL DESTRO RODRIGUES



Membro: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ANA CRISTINA BREITHAUPT FALOPPA



Dedico este trabalho a minha filha, Ana Quintela Bitencourt por compreender minha ausência, e ao mesmo tempo me proporcionar amor, ternura, dedicação e ser fonte de energia e inspiração.

Ao meu marido, Eduardo Bitencourt que acreditou no meu sonho e sempre me motivou a seguir em frente.

Aos meus pais, Valdemar Martins e Gilda Suely Quintela, a quem me incentivaram a estudar.

Aos meus irmãos, Cristiano e Cristonaldo, por estarem sempre me incentivando a alcançar meu objetivo.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo da minha vida, fornecendo saúde, conhecimento, determinação, força, foco e fé para superar todas as dificuldades encontradas ao longo desta trajetória.

A minha filha, Ana Quintela Bitencourt por compreender minha ausência, e ao mesmo tempo me proporcionar amor, ternura, dedicação e ser fonte de energia e inspiração.

Ao meu marido, Eduardo Bitencourt que acreditou no meu sonho e sempre me motivou a seguir em frente.

Aos meus pais, Valdemar Martins e Gilda Suely Quintela, a quem me incentivaram a estudar.

Aos meus irmãos, Cristiano e Cristonaldo, por estarem sempre me incentivando a alcançar meu objetivo.

A minha orientadora Profa. Dra. Adriana Lino dos Santos Franco, por sua amizade, paciência, gentileza, conhecimento, inspiração científica e pela brilhante orientação deste estudo, meu respeito e admiração, por me ensinar a aprender a aprender, e por me fortalecer nos momentos de fragilidade.

A Profa. Dra. Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues pela participação em minha banca, pela disponibilidade e contribuições que me foram atribuídas pelas discussões e reflexões fundamentais para o enriquecimento deste estudo, tê-la nesse momento tão importante de minha vida acadêmica foi uma honra imensurável.

Aos colegas, Adriana Schapochnik, Marlon da Palma Cruz, Vanessa de Sousa e Virginia Rodrigues pela colaboração, elaboração dos experimentos, empenho e dedicação para o bom desempenho e elaboração deste estudo.

Aos colegas e funcionários do Departamento de Medicina - Biofotônica, pelo sempre auxílio frente às necessidades e solicitações para a realização deste estudo.

Aos meus amigos e professores, que são inúmeros e não teria como nomear cada um aqui, pelo ensinamento, conhecimento, motivação e força diária.

A Universidade Nove de Julho por proporcionar a oportunidade no desenvolvimento deste estudo.

E por fim, a todos os colegas que de alguma forma auxiliaram para o desenvolvimento deste, e suas contribuições foram imprescindíveis para a finalização deste estudo.

Expresso a todos, meus sinceros agradecimentos.

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo  
está vendo e pensar uma coisa diferente”.

**Roger Von Oech**



## RESUMO

A Colite Ulcerativa é uma importante doença crônica e multifatorial caracterizada por uma alteração da mucosa do cólon do intestino. Ela tem um impacto significativo na qualidade de vida e afeta tanto homens como mulheres. As respostas inflamatórias são responsáveis pelo desenvolvimento de diversas doenças e são diferentemente moduladas pelos hormônios femininos e masculinos. A Colite Ulcerativa é uma doença de difícil tratamento com resultados limitados e efeitos colaterais, sendo assim novas terapias são necessárias. A fotobiomodulação (FBM) surge como potencial tratamento modulando o processo inflamatório sem efeitos colaterais. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da FBM na Colite Ulcerativa induzida por ácido acético comparando as respostas entre machos e fêmeas. Para tanto, ratos Wistar machos e fêmeas foram submetidos à indução de Colite Ulcerativa por administração retal de ácido acético a 10 % e tratados ou não com FBM (660 nm, 100 mW, 150s) em três pontos: lado direito e esquerdo da superfície ventral e na região anal externa. Investigamos o índice de atividade da doença (escore DAI), atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), análise histológica e liberação de citocinas. Nossos resultados mostraram que a FBM reduziu a atividade da doença, atividade de MPO e desgranulação de mastócitos em ambos os sexos. Por outro lado, observamos aumento da produção de muco tanto em machos como em fêmeas. Além disso, a FBM reduziu o escore histopatológico, bem como os níveis de IL-6 e IL-4 no intestino de machos. Também mostramos níveis reduzidos de IL-1beta e TNF-alfa, após FBM em ambos os sexos, enquanto os níveis de IL-10 e IFN-gama estavam aumentados. Em conclusão, embora nosso estudo tenha identificado algumas diferenças de respostas entre os gêneros, a FBM demonstrou reduzir os biomarcadores da Colite Ulcerativa em ambos os sexos de forma satisfatória, indicando ser uma possível opção de tratamento combinado, acessível e não invasivo.

**Palavras-Chave:** Colite, Fotobiomodulação, Dimorfismo sexual, Citocinas, Produção de muco, Mastócitos

## ABSTRACT

Ulcerative colitis (UC) is an important chronic and multifactorial disease characterized by changes in the intestinal colon mucosa. It has a significant impact on quality of life and affects both men and women. Inflammatory responses are responsible for the development of several diseases and are differently modulated by female and male hormones. UC has a difficult treatment with limited responses and side effects, so new therapies are necessary. Photobiomodulation (PBM) appears as a potential treatment modulating the inflammatory process without side effects. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of PBM on acetic acid-induced UC by comparing responses between males and females. For this, male and female Wistar rats were subjected to UC induction by rectal administration of 10% acetic acid and treated or not with PBM (660 nm, 100 mW, 150s) at three points: right and left side of the ventral surface and in the external anal region. We investigated the disease activity index (DAI score), myeloperoxidase (MPO) enzyme activity, histological analysis, and cytokines release. Our results showed that PBM reduced disease activity index, MPO activity and mast cell degranulation in both sexes. On the other hand, we observed increased mucus production in both males and females. Furthermore, PBM reduced the histopathological score as well as the levels of IL-6 and IL-4 in the intestine of males. We also showed reduced levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  after PBM in both sexes, while levels of IL-10 and IFN- $\gamma$  were increased. In conclusion, although our study identified some differences in the responses between genders, PBM demonstrated a satisfactory reduction in UC biomarkers in both sexes, indicating that it is a possible combined, accessible and non-invasive treatment option.

**Key words:** Colitis, Photobiomodulation, Sexual dimorphism, Cytokines, Mucous Production, Mast cells

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trifosfato
Cl -	Cloreto
Cox	Citocromo C oxidase
DC	Doença de Crohn
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DIIs	Doenças Inflamatórias Intestinais
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSS	Sulfato de sódio dextrano
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EROs	Espécie reativa de oxigênio
ETC	Cadeia de transporte de elétrons
FBM	Fotobiomodulação
FSH	Hormônio folículo estimulante
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
Hb	Desoxi-hemoglobina
HbO <sub>2</sub>	Oxi-hemoglobina
IFN-gama	Interferon gama
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IL-1beta	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
LASER	Ligh Amplification Stimulated Emission of Radiation
LBP	Laser de Baixa Potência
LD	Diodo de Laser
LED	Light Emiting Diode = “diodo emissor de luz”
LH	Hormônio Luteinizante
LLL	Low Level Laser = “laser de baixa intensidade”
MHC-II	Moléculas do complexo de histocompatibilidade de classe II
MMP	Potencial de membrana mitocondrial
MPO	Mieloperoxidase
NAALT	North American Association for Therapy

NF-kB	Fator nuclear Kappa B
NK	Células natural Killer
nm	nanômetro
NO	Óxido Nitroso
PAS	Ácido Periódico de Schiff
RNA	Ácido ribonucleico
TGF-beta	Fator de crescimento transformador beta
Th1	T helper tipo 1
Th2	T helper tipo 2
TLR	Toll like
TNBS	Ácido trinitrobenzóico
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa
WALT	Word Associatiom for Laser Therapy

## SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	15
1.1 Introdução	15
1.2 Epidemiologia da Colite Ulcerativa	18
1.3 Patogenia da Colite Ulcerativa	19
1.4 Citocinas e Inflamação Intestinal	21
1.5 Mieloperoxidase na Infecção Intestinal	22
1.6 Dimorfismo Sexual e Respostas fisiológicas	23
1.7 Fotobiomodulação	27
2 OBJETIVOS	32
2.1 Geral	32
2.2 Específicos	32
3 METODOLOGIA	33
3.1 Animais	33
3.2 Indução da Colite experimental	34
3.3 Tratamento com LED	35
3.4 Determinação do índice de atividade da doença (escore DAI)	36
3.5 Determinação da atividade da mieloperoxidase intestinal	37
3.6 Análise Histológica	37
3.7 Quantificação de citocinas por ELISA	38
3.8 Análise Estatística	38
4 RESULTADOS	39
4.1 A fotobiomodulação reduz o índice da atividade da doença e a atividade da mieloperoxidase em modelo experimental de colite em machos e fêmeas	39
4.2 A fotobiomodulação reduz o escore histopatológico de forma diferenciada em modelo experimental de colite em machos e fêmeas	40
4.3 A fotobiomodulação aumenta a produção de muco de forma semelhante em machos e fêmeas	42
4.4 A fotobiomodulação diminui a desgranulação de mastócitos de maneira diferenciada em machos e fêmeas	43
4.5 A fotobiomodulação modula IL-4, TNF-alfa, IL-1 e IFN-gama de forma semelhante em machos e fêmeas	45
5 DISCUSSÃO	47
6 CONCLUSÕES	51
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXO 1 – Protocolo aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal	60
ANEXO 2 – ARRIVE	61
ANEXO 3 – Artigos	62

# 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

## 1.1 Introdução

A Colite Ulcerativa é uma doença inflamatória crônica caracterizada por inflamação gastrointestinal grave,<sup>1</sup> faz parte do grupo das doenças inflamatórias intestinais (DIIs), tendo como principal diagnóstico diferencial a doença de Crohn (DC).<sup>2</sup>

Na DC, as áreas gastrointestinais apresentam inflamação focal, envolve camadas mais profundas da mucosa, caracterizados por episódios de diarreia, alternando com constipação, apresentam maior risco de perfuração intestinal, fístulas e granulomas, na Colite Ulcerativa a inflamação gastrointestinal é difusa e contínua, ou seja, sem áreas de mucosa normais entre as porções afetadas, atinge as camada mais superficial da mucosa e reto, podendo evoluir com presença de ulcerações, abscessos nas criptas e estenose.<sup>1,2</sup> Ambas, possuem como característica a recidiva da doença.<sup>3</sup>

A Colite Ulcerativa pode ser classificada de acordo com a sua localização no cólon, podendo ser denominada de proctite, quando a doença é limitada ao reto, proctossigmoidite, quando afeta até a porção média do sigmóide, colite esquerda, quando envolve o cólon descendente até o reto, e pancolite, quando há o envolvimento de porções proximais à flexura esplênica.<sup>3,4</sup>

A causa exata da Colite Ulcerativa ainda não é completamente compreendida, mas acredita-se que seja uma combinação de fatores genéticos, ambientais e imunológicos.<sup>3</sup> Pessoas com histórico familiar da doença têm maior tendência a desenvolvê-la.<sup>3,4</sup> Além disso, estima-se que alguns fatores, como dieta, estresse, tabagismo e uso de alguns medicamentos, possam desencadear ou agravar os sintomas da Colite Ulcerativa,<sup>5</sup> que conduz a sintomas debilitantes.<sup>6,7</sup>

Na Colite Ulcerativa ocorre a disfunção da barreira epitelial, aumento da permeabilidade intestinal e recrutamento de macrófagos, neutrófilos e linfócitos.<sup>8</sup> Essas células inflamatórias liberam várias citocinas, incluindo Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 4 (IL-4), Interleucina 1 beta (IL-1beta), Interferon gama (IFN-gama) e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-alfa), que induzem o recrutamento de células imunes, amplificando a resposta inflamatória.<sup>7,9</sup> Os mecanismos

regulatórios envolvem mediadores pró-resolução endógenos; no entanto, os mecanismos anti-inflamatórios são insuficientes levando a danos teciduais crônicos.<sup>9</sup>

Os principais sinais e sintomas da Colite Ulcerativa são diarreia com sangue, cerca de 90% dos pacientes apresentam hematoquezia (hemorragia retal), incluindo dor abdominal em cólica, tenesmo (sensação de defecação incompleta), urgência evacuatória e exsudato mucopurulento nas fezes, e perda pronunciada de peso corporal, decorrente da desarmonia entre as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias na mucosa afetada.<sup>10,11</sup>

Muitos pacientes permanecem em remissão clínica da doença por longos períodos, mas a probabilidade de ausência de recidiva por dois anos é de apenas 20%. As recidivas geralmente ocorrem na mesma região do cólon afetado em outros períodos de agudização. Entretanto, cerca de 20% a 50% dos pacientes podem apresentar extensão proximal da doença ao longo do seguimento.<sup>11</sup>

O diagnóstico da Colite Ulcerativa é feito através de uma combinação de exames, como exames de sangue, colonoscopia e biópsia. A colonoscopia permite visualizar diretamente o cólon e o reto, observando as úlceras e a inflamação.<sup>2,3</sup> Já a biópsia consiste na remoção de pequenos pedaços de tecido para análise laboratorial, o que ajuda a confirmar o diagnóstico e excluir outras possíveis doenças.<sup>2,12</sup>

O tratamento da Colite Ulcerativa tem como objetivos induzir a remissão da inflamação, reduzir os sintomas e prevenir as recaídas. O tratamento pode variar de acordo com a gravidade da doença, mas geralmente inclui o uso de medicamentos como aminosalicilatos, corticosteróides, imunossupressores e terapias biológicas, que buscam modular a resposta imunológica do organismo, mas essas terapias normalmente falham.<sup>10,13</sup> Para isso, é necessário propor novas estratégias terapêuticas a fim de causar remissão mais rápida e também custos reduzidos.

Em casos mais graves ou resistentes ao tratamento medicamentoso, pode ser necessário realizar cirurgia para remover o cólon e o reto. Essa opção é chamada de colectomia e pode ser curativa para a doença, mas traz implicações na qualidade de vida e na forma como o paciente evacua.<sup>6</sup>

Apesar da ampla gama de medicamentos disponíveis para seu tratamento, 15-20% dos portadores necessitam de internação devido à colite aguda grave.<sup>14</sup>

As agudizações são classificadas em três categorias, descritas por Truelove e Witts:<sup>15</sup>

- Leve: menos de 3 evacuações por dia, com ou sem sangue, sem comprometimento sistêmico e com velocidade de sedimentação globular normal;
- Moderada: mais de 4 evacuações por dia com mínimo comprometimento sistêmico; e
- Grave: mais de 6 evacuações por dia com sangue e com evidência de comprometimentos sistêmicos, tais como febre, taquicardia, anemia e velocidade de sedimentação globular acima de 30mm/h. Casos com suspeita de megacólon tóxico também devem ser considerados graves.

O Colégio Americano de Gastroenterologia em suas diretrizes (Clinical Practice Guidelines - 2010), definiu:<sup>16</sup>

- Colite fulminante: diarreia (>10 evacuações por dia) associado a sangramentos retais contínuos, sinais de toxicidade sistêmicos (febre, taquicardia, hipotensão), anemia que requer transfusão e dor abdominal com distensão.
- Megacólon tóxico: dor abdominal aguda com inchaço e dilatação do cólon > 6 cm na radiografia abdominal simples.

O megacólon tóxico pode se desenvolver na colite aguda grave ou fulminante e geralmente requer cirurgia de emergência, que pode ocorrer em cerca de 15% dos pacientes; mais comum em casos de colite extensa (doença macroscópica próxima ao corno esplênico).<sup>16,17</sup>

Recentemente, nosso grupo, Paula-Silva. *et al.*, (2020), demonstrou pela primeira vez, os efeitos benéficos do tratamento com FBM em modelo experimental de Colite Ulcerativa em camundongos<sup>7</sup>. Com base nos resultados



anteriores, aqui ampliamos os estudos e avaliamos os efeitos da FBM na colite experimental induzida por ácido acético comparando machos e fêmeas.

Estudos têm evidenciado diferenças na resposta inflamatória entre mulheres e homens.<sup>18,19</sup> Além disso, foi demonstrado que, independentemente da idade, taxas de mortalidade mais baixas são registradas entre as mulheres devido a câncer, doenças cardíacas ou pneumonia.<sup>20,21,22</sup> Os sistemas imunológico e endócrino exibem diferenças significativas em relação ao gênero, uma vez que o sistema imunológico interage com os hormônios esteróides sexuais e, juntos, impactam a etiologia e a patogênese de muitas doenças infecciosas.<sup>21,23</sup> Assim, estudos que investigam as diferenças tanto na resposta inflamatória quanto no tratamento entre homens e mulheres são relevantes.

## **1.2 Epidemiologia da Colite Ulcerativa**

A epidemiologia da Colite Ulcerativa envolve vários fatores, incluindo a prevalência da doença, seus padrões de incidência e distribuição populacional.<sup>10,24</sup>

A prevalência da doença varia em diferentes regiões do mundo. Estima-se que a prevalência global seja de cerca de 0,5% a 1% da população, com uma predominância maior em países desenvolvidos, sendo mais comum em áreas urbanas do que em áreas rurais.<sup>10,24</sup>

A incidência também varia, com taxas mais altas em países industrializados.<sup>24</sup> A incidência anual da doença é de aproximadamente 10 a 20 casos por 100.000 habitantes,<sup>10,25</sup> sendo homens e mulheres igualmente afetados,<sup>5</sup> culminando em grande impacto na qualidade de vida do indivíduo.<sup>6</sup>

A doença pode iniciar-se em qualquer idade, mas é mais comum em adultos jovens, geralmente entre 15 e 30 anos de idade. A incidência é geralmente menor em crianças e idosos. Porém, alguns estudos sugerem uma distribuição bimodal de idade, com um possível segundo pico entre 50 e 80 anos.<sup>10,24,25</sup>

Existem diferenças na distribuição racial e étnica da Colite Ulcerativa. Por exemplo, a doença é mais comum em pessoas de ascendência caucasiana, especialmente europeus do norte e do leste. Pessoas de ascendência africana e asiática tendem a ter taxas mais baixas da doença.<sup>24,25</sup>

O Brasil, assim como em outros países da América Latina, é considerado uma região de baixa prevalência da doença quando comparada com países como os Estados Unidos, Reino Unido e Austrália.<sup>26, 27</sup>

No entanto, países em desenvolvimento como a África, Ásia, América do Sul evidenciaram um aumento na incidência da doença,<sup>10</sup> e entre os anos de 1990 a 2016, observou-se maior prevalência nos Estados Unidos e na Europa. Sendo as principais manifestações da doença as erupções inflamatórias na mucosa intestinal.<sup>24, 25</sup>

Apesar da doença se apresentar na literatura com epidemiologia de baixa mortalidade. No Brasil, descrita com baixa incidência e prevalência, houve aumento dos números de internação hospitalar entre 1986 e 2005.<sup>26,27</sup> No entanto, repercutiu com grande impacto na saúde pública, em 2017 estima-se que 1,5 a 2,5 milhões de pessoas foram afetadas na América do Norte e Europa.<sup>25, 28</sup>

O Brasil é o país mais populoso da América do Sul, com mais de 200 milhões de habitantes, cujas as origens genéticas variam devido à miscigenação de povos ao longo de seus 500 anos de história. Essa diversidade varia conforme a região do país, sendo o Sul e Sudeste do Brasil com maior prevalência da doença, decorrente da grande carga genética europeia.<sup>28,29,30</sup>

### **1.3 Patogenia da Colite Ulcerativa**

A patogenia da Colite Ulcerativa ainda não é completamente compreendida, mas há várias hipóteses que explicam como a doença se desenvolve. Entre as principais hipóteses estão:<sup>23</sup>

1. Desregulação do sistema imunológico: Acredita-se que a Colite Ulcerativa seja uma doença autoimune, na qual o sistema imunológico ataca erroneamente as células saudáveis do revestimento do cólon. Isso leva à inflamação crônica e à formação de úlceras.
2. Disbiose intestinal: Acredita-se que a disbiose, um desequilíbrio da microbiota intestinal normal, possa contribuir para o desenvolvimento da Colite Ulcerativa. Alterações na composição e função das bactérias intestinais podem causar inflamação e danos ao revestimento do cólon.

3. Barreira intestinal comprometida: Uma função de barreira intestinal comprometida pode permitir que substâncias nocivas, como bactérias e toxinas, atravessem o revestimento do cólon e desencadeiam uma resposta imunológica anormal.
4. Fatores genéticos: certos genes podem aumentar a susceptibilidade à Colite Ulcerativa. No entanto, a doença não é considerada puramente genética, e é necessário um fator ambiental desencadeante para seu desenvolvimento.

Dentre essas hipóteses acredita-se que a desregulação do sistema imunológico, seja o principal responsável pela patogenia da Colite Ulcerativa, decorrente de algum defeito da imunidade inata mediada por polimorfismos genéticos nos receptores Toll-like (TLR).<sup>23</sup>

O envolvimento dos TLRs na apresentação do antígeno dos colonócitos é alterado pelo aumento da expressão de TLR2 e TLR4. Sob estas condições, a ativação dos TLRs resulta em uma cascata descompensada de eventos inflamatórios, ativando as células dendríticas da mucosa, que estimulam linfócitos da via T helper tipo 2 (Th2) a produzir auto-anticorpos que reconhecem antígenos nucleares e podem desencadear respostas autoimunes contra as células epiteliais do cólon.<sup>23</sup>

As células Natural Killer (NK) presentes no cólon produzem grandes quantidades de Interleucina 13 (IL-13) e contribuem para a fisiopatologia da doença, mediando a citotoxicidade, apoptose e disfunção da barreira epitelial.<sup>23</sup>

A ação autócrina da IL-13 ativa as células NK, que se expandem criando um ciclo de retroalimentação positiva que amplifica os efeitos citotóxicos da IL-13 sobre os colonócitos. A resposta autoimune e a ação das células NK contra os colonócitos rompe a barreira epitelial permitindo o contato direto dos microorganismos com a camada mucosa do cólon, amplificando a resposta imune via receptores TLRs, principalmente o TLR4, que aumenta o recrutamento de células efectoras como os neutrófilos, agravando as lesões e a formação de úlceras no cólon.<sup>23</sup>

O rompimento da barreira epitelial aumenta o contato com os produtos bacterianos, estimula as células dendríticas e macrófagos, resultando na produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas<sup>23</sup>.

## 1.4 Citocinas e Inflamação Intestinal

Citocinas são proteínas que têm a função de sinalização, mediando funções celulares, ocorre em resposta a antígenos, são secretadas por células imunológicas. Em estudos de Colite Ulcerativa observa-se algumas das citocinas que desempenham um papel fundamental na regulação da resposta inflamatória e imunológica e são: <sup>9,31,32</sup>

1. Aumento de citocinas pró-inflamatórias: Na Colite Ulcerativa, há um aumento na produção de citocinas inflamatórias, como a IL-1 beta, IL-4, IL-6 e TNF- alfa. Essas citocinas promovem a inflamação e danos no revestimento intestinal, como dilatação e espessamento das paredes do cólon através de células epiteliais, dano secundário ao aumento do infiltrado inflamatório, redução da produção de muco e modulação de biomarcadores oxidativos de estresse.
2. Diminuição de citocinas anti-inflamatórias: Por outro lado, a produção de citocinas anti-inflamatórias, como a Interleucina 10 (IL-10) e IFN-gama é reduzida na Colite Ulcerativa. Essas citocinas têm o papel de regular a resposta inflamatória e promover a cicatrização dos tecidos.

Um dos estudos que demonstram essas citocinas encontra-se o estudo de Paula-Silva., *et al.* (2020)<sup>7</sup>, do Departamento de Biofotônica, da Universidade Nove de Julho, com o objetivo de investigar a aplicação da terapia LED em ratos com colite induzida por sulfato de dextrano sódico, verificou-se que, nas seguintes condições de lesão tecidual no intestino, os microrganismos são translocados para o intestino, recrutando células inflamatórias para o local da lesão. Esse infiltrado inflamatório é caracterizado principalmente por linfócitos T, macrófagos e neutrófilos. No estudo foi observado que não foram encontradas diferenças nos níveis do TNF-alfa entre os grupos. Por outro lado, observou-se altos níveis de IL-1beta, e IL-4 no tecido intestinal e esse resultado foi reduzido pelo tratamento de fotobiomodulação. Houve redução dos níveis IL-10 e o tratamento de fotobiomodulação causou redução ainda maior. O tratamento de fotobiomodulação aumentou os níveis de IFN-gama e fator de crescimento transformador beta (TGF-Beta). O estudo concluiu que o tratamento com LED

preservou a estrutura celular do cólon, reduziu a frequência de displasia/edema e reduziu a infiltração inflamatória e a ulceração da mucosa intestinal, demonstrando um efeito protetor na barreira epitelial. Através de tratamento não invasivo e de baixo custo.

O estudo de Gheibi., *et al* (2018)<sup>33</sup> investigou os impactos sinérgicos do extrato aquoso do fruto da jujuba em combinação com a administração de Mesalazina e Asacol na melhora do modelo animal de Colite Ulcerativa. Os achados indicaram um aumento significativo dos níveis de mieloperoxidase, óxido nítrico, IL-6 e TNF-alfa no tecido do cólon e dano patológico do grupo controle positivo comparado com o grupo controle negativo.

No estudo de Pullmann., *et al.* (1992)<sup>34</sup> 4 pacientes com Colite Ulcerativa, obtiveram aumento da expressão de IL-1 beta na mucosa colônica.

No estudo de Gross., *et al.* (1992)<sup>35</sup> foi menor a produção de IL-6 em pacientes com Colite Ulcerativa quando comparado aos pacientes com DC (foram estudados 70 pacientes com DC e 23 com Colite Ulcerativa).

## 1.5 Mieloperoxidase na Infecção Intestinal

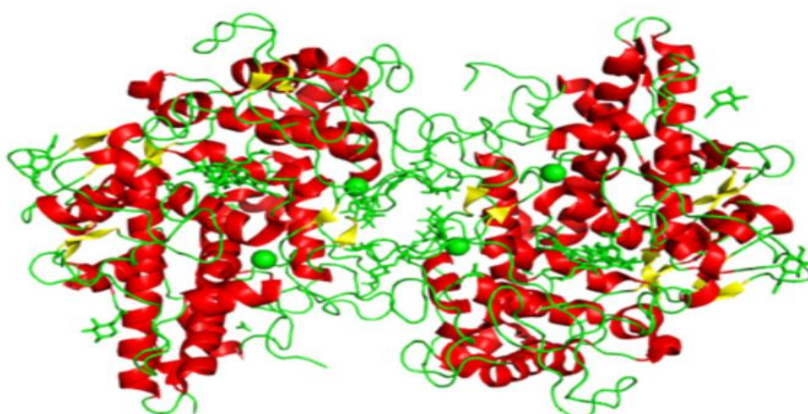
Mieloperoxidase (MPO) é uma enzima granulocítica que desempenha um papel importante no sistema imunológico.<sup>36</sup> Ela é produzida principalmente por células brancas do sangue, os neutrófilos, que são células imunes que desempenham um papel fundamental na resposta inflamatória, mas também por outros tipos de células inflamatórias, como monócitos e macrófagos.<sup>37</sup>

A sua principal função é a geração bactericida de espécies reativas de oxigênio (EROs), como hipoclorito de sódio, a partir da reação entre o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o cloreto (Cl<sup>-</sup>), que são altamente tóxicas para bactérias e outros patógenos.<sup>36,37</sup>

A MPO também está envolvida na modulação da resposta imunológica e na regulação da inflamação. Ela pode causar danos ao tecido, contribuindo para o desenvolvimento das doenças inflamatórias crônicas, como é o caso da Colite Ulcerativa, mas também pode ter um efeito protetor combatendo e eliminando os patógenos, dependendo do equilíbrio entre sua produção e a sua atividade.<sup>36,37</sup>

A MPO tem sido implicada na inflamação intestinal, os neutrófilos são recrutados para o local da lesão ou infecção. Uma vez no local, eles liberam MPO em grandes quantidades, gerando EROS e causando danos oxidativos nas células intestinais e dano tecidual, alteração da permeabilidade intestinal e aumento da resposta inflamatória.<sup>23,37</sup> Estudos mostraram que a atividade da mieloperoxidase está aumentada em pacientes com Colite Ulcerativa.<sup>7,36</sup>

Dessa forma, a MPO desempenha um papel importante na inflamação intestinal, contribuindo para a progressão e a gravidade das DIIs.<sup>36</sup>



**Figura 1. Representação da estrutura tridimensional da enzima mieloperoxidase (MPO)**

Fonte: Pereira de Jesus. *et al.*, 2022<sup>37</sup>

## **1.6 Dimorfismo Sexual e Respostas fisiológicas**

Parte-se da hipótese de que o sistema imunológico e endócrino exibe diferenças significativas em relação ao sexo, uma vez que o sistema imunológico interage com os hormônios esteroides sexuais e, juntos, impactam na etiologia e patogênese de muitas doenças infecciosas<sup>38</sup>.

Estudos sugeriram diferenças na resposta inflamatória entre mulheres e homens<sup>18,19</sup>. Além disso, foi demonstrado que, independentemente da idade, taxas de mortalidade mais baixas são registradas entre mulheres devido a câncer, doenças cardíacas ou pneumonia<sup>38</sup>.

Na doença inflamatória intestinal (DII) não existe um dimorfismo sexual específico associado à Colite Ulcerativa. Isso significa que a doença ocorre

igualmente em homens e mulheres, sem nenhuma diferença na incidência ou gravidade entre os sexos.<sup>39,40,41</sup>

Em relação aos hormônios esteróides sexuais, são mencionados os efeitos do estradiol e da testosterona no organismo, por atuarem de maneira oposta sobre as células do sistema imunológico adaptativo e inato. Nesse sentido, as evidências apontam que o estrogênio, presente abundantemente no sexo feminino, estimula o sistema imunológico, enquanto a progesterona e a testosterona exercem principalmente papel imunossupressor, deprimindo o sistema imunológico.<sup>42,43</sup>

Assim, associou-se o sexo masculino a uma maior prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* tanto na faixa etária pediátrica quanto adulta. De igual modo, correlacionou-se o sexo masculino ao elevado risco de sepse em relação as mulheres. Em um estudo experimental com animais, a colonização de *Campylobacter jejuni* apresentou-se maior em machos do que em fêmeas. Justifica-se tais achados na hipótese de que as ações da testosterona acontecem sobretudo do seu efeito depressor do sistema imune, com o potencial de favorecer uma resposta imunológica “amortecida” à infecção e vacinação em homens, por exemplo.<sup>44</sup>

Quanto ao efeito geral do estrogênio parece depender de fatores como forma, concentração (níveis fisiológicos versus suprafisiológicos e níveis relacionados com a gravidez), tipo de célula, sexo e as vias de sinalização do receptor. Descreve-se uma complexidade referente a variações hormonais no decorrer do ciclo da vida da mulher, com pico de estrógeno sérico durante a fase ovulatória e pico de progesterona sérica durante a fase lútea. Entretanto, no geral, os baixos níveis de estrogênio fisiológico potencializam a capacidade pró-inflamatória de macrófagos e monócitos humanos, enquanto os níveis de estrogênio supra fisiológicos observados no final do processo gestacional, suprimem essa capacidade pró-inflamatória.<sup>42</sup>

Constatou-se que o sistema imunológico materno aumenta fatores inflamatórios com o avançar do processo gestacional. Dessa forma, as adaptações imunológicas associadas à gravidez comprometem a imunidade e a autoimunidade maternas, tornando as gestantes suscetíveis a infecções graves por diversos microrganismos. No que concerne ao efeito da progesterona sobre as células imunes inatas, demonstrou-se uma dependência da sua

concentração. Por conseguinte, doses muito baixas de progesterona parecem elevar a atividade de IL-1, enquanto doses muito altas parecem reduzir a atividade de IL-1 em monócitos. Logo, concluiu-se que os efeitos supressores da progesterona da imunidade inata, que possivelmente influencia a resposta à infecção, apresenta uma maior incidência durante estados fisiológicos, incluindo a fase lútea do ciclo menstrual ou gravidez.<sup>42</sup>

Já no período da menopausa, ocorre a cessação da produção de estradiol nos ovários e a progesterona será sintetizada somente a níveis basais, do mesmo modo que haverá uma elevação do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e do Hormônio Luteinizante (LH). Tais mudanças se refletem diretamente no sistema imune feminino, pois haverá redução das células protetoras como linfócitos (B, T CD4+) e as mulheres, de certa forma, perdem sua “vantagem imunológica” após a menopausa.<sup>45</sup>

Sob estresse, os corações das mulheres na pré-menopausa desenvolvem menos inflamação, resultando em menos fibrose, do que os corações dos homens. Essa diferença é parcialmente impulsionada pelos hormônios sexuais, pois os estrogênios produzem ações anti-inflamatórias nas células endoteliais e imunes e promovem efeitos cardioprotetores em mulheres na pré-menopausa. Essa proteção pode desaparecer após a menopausa. Por outro lado, a testosterona induz uma remodelação cardíaca adversa no coração masculino.<sup>46</sup>

Além da influência dos hormônios sexuais, observou-se uma possível influência dos cromossomos sexuais no que se refere à expressão da resposta inflamatória, uma vez que cromossomo X expressa genes relacionados nos processos imunológicos, enquanto o cromossomo Y, presente exclusivamente no sexo masculino, codifica genes da via inflamatória.<sup>42</sup>

Parte-se do pressuposto de que o sexo feminino possui dois cromossomos X (genótipo XX) no seu cariótipo e o sexo masculino somente um cromossomo X unido a um cromossomo Y (genótipo XY), denotando, portanto, uma vantagem das mulheres ao carregarem o cromossomo X em dobro, haja vista relacionar-se com a expressão de genes relevantes em processos imunológicos, como receptores de TLR, receptores de citocinas, fatores regulatórios de transcrição e tradução, assim como genes envolvidos na atividade das células de proteção imunológica T e B. Ao mesmo tempo, o cromossomo Y, que é expresso exclusivamente em homens, encontra-se



implicado com a codificação de genes da via inflamatória, ou seja, além de perderem a dupla proteção do cromossomo X, ainda carregam genes do cromossomo Y que ativam de modo mais intenso a via inflamatória no organismo.<sup>44,47</sup>

Devido ao fato do cromossomo X conter uma maior concentração de genes relacionados à função imunológica, acredita-se que isso desempenhe um papel nas taxas elevadas de distúrbios autoimunes entre as mulheres em comparação com os homens.<sup>42,48</sup>

Outro estudo observou que o tipo de microrganismo causador da infecção, como, por exemplo, vírus versus bactérias, pode influenciar a suscetibilidade específica do sexo à infecção. Por exemplo, enquanto os machos tendem a ser mais suscetíveis à infecção bacteriana, as fêmeas podem apresentar maior resposta inflamatória à infecção viral. Uma das descobertas mais consistentes é que as mulheres têm níveis mais altos de proteína C reativa em comparação com os homens, enquanto, em resposta à infecção bacteriana, os homens podem expressar níveis mais elevados de IL-6 em comparação com as mulheres.<sup>48</sup>

Pesquisas mostram que camundongos fêmeas são mais resistentes a lesões do que camundongos machos.<sup>49,50</sup> Ratos fêmeas foram documentados por Ba *et al.*<sup>51</sup> como relativamente resistentes a danos nos órgãos causados por choque hemorrágico. Além disso, após o choque hemorrágico, o fluxo sanguíneo na microcirculação intestinal é melhor preservado nas mulheres do que nos homens. Deitch *et al.*<sup>52</sup> usando um modelo de lesão intestinal em roedores, demonstrou que o intestino de fêmeas é mais resistente aos efeitos deletérios da lesão isquêmica do que o intestino dos machos.

Considerando o exposto, estudos que visem investigar o dimorfismo sexual em relação às respostas fisiológicas, inflamatórias bem como aos tratamentos são relevantes.

## **1.7 Fotobiomodulação**

Em 1967, o Dr. Endre Mester foi o primeiro cientista a descobrir que um laser de baixa potência tinha um efeito estimulante no crescimento de pelos em camundongos. Desde então, o laser de baixa intensidade do inglês “low-level

laser” (LLL) tem sido aplicado para uma variedade de condições e para aumentar a função fisiológica em humanos e animais. Na última década, o termo fotobiomodulação (do inglês “photobiomodulation” - FBM) substituiu o antigo LLL, sendo introduzido como descrito no PUBMED no ano de 2015.<sup>53,54</sup>

Posteriormente, a “North American Association for Light Therapy” (NAALT) e a “World Association for Laser Therapy” (WALT) definiram a terapia de fotobiomodulação (FBM) como uma forma de terapia de luz que utiliza formas não ionizantes de fontes de luz, incluindo diodo laser (“laser diodes” - LD), diodo emissor de luz (“light-emitting diodes” - LEDs) e luzes de banda larga, no espectro visível e infravermelho, com o potencial de provocar um processo não térmico pelo qual cromóforos endógenos provocam eventos fotofísicos e fotoquímicos em diversos níveis biológicos. Esse processo resulta em resultados terapêuticos positivos, incluindo a estimulação da regeneração tecidual e cicatrização de feridas, redução da inflamação e da dor e imunomodulação.<sup>55,56,57</sup>

Os complexos mecanismos responsáveis pelos efeitos clínicos da FBM ainda não foram completamente esclarecidos. Existem evidências consistentes da modulação da dor por intermédio de mecanismos que envolvem a regulação dos níveis de marcadores bioquímicos, o controle da atividade de neutrófilos e a atenuação do estresse oxidativo.<sup>57,58</sup>

Na terapia por FBM a interação de luzes garante penetração no tecido com condições não-destrutivas e ação térmica desprezível, com indução de reações fotoquímicas, provocando a modulação de diversos processos celulares. Os comprimentos de onda provocam alterações na bioquímica celular, mas conservando sua estrutura atômica. Logo, quando irradiada sobre o tecido biológico, a luz produz efeitos denominados biopositivos, sendo absorvida na mitocôndria e a energia do fóton transferida para a célula, cujo uso ocorre na cadeia respiratória, subsidiando na remoção de radicais livres intracelulares e aumentando a síntese de Adenosina Trifosfato (ATP).<sup>59</sup>

A energia extra obtida com a aplicação da luz faz com que o organismo deixe a sua condição de estresse oxidativo e retome sua homeostase habitual. O mecanismo de ação permite direcionar a diferenciação das células, estimular sua sobrevivência e ativar o metabolismo. De igual modo, outras vias podem ter sua ativação potencializada após a irradiação pela influência da luz nos canais

iônicos, manejo do estresse oxidativo, liberação de óxido nítrico, sinalização em íons de cálcio, sinalização anti-inflamatória, estímulo à proliferação celular e proteínas antiapoptóticas, o que justifica os efeitos terapêuticos de analgesia, modulação de inflamação, reparação tecidual e melhora do desempenho muscular.<sup>60,61</sup>

Assim sendo, demonstrou-se que dentre os mecanismos de ação da FBM sobre os tecidos biológicos estão relacionados à absorção de luz por cromóforos nas células, como o citocromo C oxidase (Cox) proposto como o principal agente absorvedor da luz. A enzima Cox, unidade IV na cadeia respiratória mitocondrial, desencadeia uma diversidade de efeitos após a absorção da luz. Entre estes efeitos, destaca-se o aumento da síntese de ATP e modulações nas taxas de síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA), que por sua vez afetam a proliferação celular e expressão gênica relacionadas a várias vias celulares, como mitose, apoptose, inflamação e metabolismo da energia mitocondrial, o que pode estar relacionado aos efeitos positivos observados no tratamento e prevenção de vários agravos.<sup>54,59</sup>

Os diferentes comprimentos de onda da luz têm distintos graus de absorção, espalhamento e reflexão por meios biológicos e tecidos. Geralmente, os tecidos biológicos contêm uma variedade de cromóforos, como água, oxihemoglobina (HbO<sub>2</sub>), desoxi-hemoglobina (Hb), mioglobina, melanina, citocromos e flavinas. As moléculas de água absorvem significativamente a energia luminosa em comprimentos de onda superiores a 970 nm, enquanto os comprimentos de onda inferiores a 600 nm são absorvidos por flavinas, hemoglobina e melanina. Por conseguinte, existe uma janela óptica para a FBM na faixa do espectro vermelho e da luz infravermelha e a eficácia terapêutica dessa faixa de comprimento de onda foi determinada em vários estudos. Os mecanismos subjacentes à interação entre luz e tecido são muito complexos devido aos vários componentes cromóforos presentes no interior das células. Agora está claro que a excitação da Cox mitocondrial serve como um fotorreceptor primário na região vermelha para a luz infravermelha e provavelmente desempenha um papel essencial no mecanismo de ação da terapia FBM.<sup>57,61,62</sup>

A Cox é a enzima terminal na transferência de elétrons mitocondrial e consiste em treze subunidades proteicas contendo dois centros heme (Heme a

e Heme a 3), bem como dois centros de cobre (Cu A e Cu B). Essa enzima transfere elétrons do citocromo C para O<sub>2</sub> via Cu A e do heme a para o heme a 3/Cu B centro binuclear. O Cox tem picos de absorção no vermelho (Heme a, 605 nm; Cu A reduzido, 620 nm; heme a 3 /Cu B, 655 nm; Cu B oxidado, 680 nm) e nas regiões espectrais da luz infravermelha (Cu B reduzido, 760 nm; Cu A oxidado, 825 nm). Quando a luz incide sobre a Cox, a energia dos fótons é absorvida pelos seus vários centros metálicos e seus elétrons são excitados do estado fundamental para os estados excitados superiores.<sup>57,63,64</sup>

Propõe-se que na FBM o espectro vermelho e luz infravermelha causem fotodissociação do óxido nítrico (NO) do centro binuclear (a 3 /Cu B) do Cox. Como se sabe que o NO inibe o transporte de elétrons na cadeia de transporte de elétrons (ETC), a dissociação do NO pode aumentar o potencial de membrana mitocondrial (MMP), aumentar o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, o gradiente de prótons, levando a um aumento na produção de ATP. Esses eventos são seguidos pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e liberação de cálcio como segundos mensageiros versáteis, por sua vez levando à ativação de fatores de transcrição e mediadores de sinalização, como o fator nuclear Kappa B (NF-κB) e resultando em efeitos duradouros nas células.<sup>57,65,66</sup>

Outros mecanismos importantes que foram propostos para desempenhar um papel nas aplicações de FBM incluem a ativação foto-oxidativa do fator de crescimento transformador extracelular latente-beta (TGF-beta), e a ativação de canais iônicos de cálcio dependendo das proteínas cromóforas, opsina-3 e opsina-4.<sup>67,68</sup>

Do exposto, constata-se que FBM ativa cromóforos endógenos, promovendo efeitos fotofísicos e fotoquímicos que atuam modulando diversas vias biológicas relevantes clinicamente. A energia absorvida pelos tecidos através da FBM estimula processos teciduais de forma fisiológica, modulando a inflamação.<sup>57</sup>

Considerando o exposto, estudos têm sido conduzidos utilizando a FBM para o tratamento de diversas doenças inflamatórias, incluindo as DIIs. O tratamento com LED (940 nm, 4 J/cm<sup>2</sup>, 9,5mW) aplicado sobre o cólon de camundongos submetidos à colite experimental induzida por ácido acético mostrou por meio de dados macroscópicos, microscópicos e moleculares que o tratamento protege o tecido das lesões decorrentes da instilação de ácido

acético, uma vez que conteve o edema local, reduziu o escore médio de lesão macroscópica, retomando o tempo de trânsito intestinal normal. Além disso, a terapia foi efetiva na contenção da desgranulação de neutrófilos, uma vez que houve uma menor concentração de MPO e também reduziu a produção de IL-1-beta, TNF-alfa, e IL-6.<sup>69</sup>

Outro estudo usando sulfato de sódio dextrano (DSS) como agente indutor de colite experimental mostrou que o tratamento com LED (660 nm 100 mW 5 J/cm<sup>2</sup>) diminuiu a displasia/edema de criptas, infiltrados inflamatórios e úlceras e apoptose. Ainda, aumentou a proliferação de células de criptas e induziu a expressão da anexina A1 no epitélio danificado, preservou a organização da claudina-1 e desviou o perfil das citocinas para um estado mais anti-inflamatório.<sup>7</sup>

Estudos realizados por Zigmond *et al.*<sup>70</sup> demonstraram que o tratamento de animais submetidos a colite induzida por DSS com uso de Laser em diferentes comprimentos de onda e doses de energia, melhoraram significativamente os sintomas clínicos e a resposta inflamatória intestinal.

Ao decorrer dos anos, a FBM surge como uma terapia alternativa, apresentando bons resultados para diversas doenças com caráter inflamatório, incluindo as DIIs, como a Colite Ulcerativa. Dentre as terapias usadas para patologias que acometem o intestino, o laser de baixa potência (LBP) tem se destacado devido suas ações anti-inflamatórias e antioxidantes, ao baixo custo e a ausência de efeitos colaterais. Outra promissora terapia que tem sido estudada nos últimos anos é a LED terapia<sup>7</sup>, apresenta diferenciação, ausente de coerência e colimação.<sup>68</sup>

Vários modelos experimentais de DIi vêm sendo propostos visando elucidar não apenas os mecanismos envolvidos na patogênese destas doenças, mas também a eficácia de novas propostas terapêuticas.

Embora os modelos não reproduzam de forma fidedigna a doença em humanos, são considerados relevantes para o estudo de muitos aspectos importantes destas condições. Os modelos mais comumente utilizados são os induzidos pela administração de um agente químico exógeno, como ácido trinitrobenzóico (TNBS), sulfato sódico de dextrano (DSS) e o ácido acético. A administração do ácido acético pela via retal tem o potencial de induzir colite de forma aguda e limitada a porção distal do cólon em virtude do dano epitelial

decorrente do seu caráter ácido. Além das alterações na porção distal, também são observadas alterações motoras nas porções superiores do trato gastrointestinal na vigência da inflamação crônica. O modelo de indução de colite empregando-se o ácido acético vem sendo aplicado para a avaliação de tratamentos farmacológicos, por caracterizar os episódios de recidiva de forma típica <sup>42,71</sup> e foi o modelo utilizado no presente estudo.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar o papel da FBM no curso da inflamação intestinal comparando as respostas entre machos e fêmeas.

### **2.2 Específicos**

- Avaliar a liberação de mediadores pró-inflamatórios (IL-6; IL-4; IL -1 beta; TNF-alpha) e anti-inflamatórios (IL-10; IFN-gamma).
- Avaliar a desgranulação mastocitária;
- Avaliar a atividade da enzima mieloperoxidase intestinal;
- Avaliar as alterações morfofuncionais por histologia.

### 3 METODOLOGIA

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e aprovado sob número 1437200522 em 21/06/22 (Anexo 1).

Diante desta aprovação, desenvolvemos o estudo experimental com o intuito de atender às Normas Éticas para Experimentação Animal do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), as normas da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCALCOBEA) e a legislação nacional atual sobre Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei Federal nº 11.794, de 9 de outubro de 2008). Ainda, utilizamos o manual para estudos em experimentação animal confeccionado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina-Biofotônica (PPG em Medicina-Biofotônica) da Uninove de acordo com Diretrizes ARRIVE (Anexo 2). E publicamos o estudo na *Lasers In Medical Science* (Anexo 3), conforme protocolo do PPG em Medicina-Biofotônica da Uninove.

#### 3.1 Animais

Foram utilizados 36 (trinta e seis) ratos Wistar adultos da espécie *Rattus norvegicus*, saudáveis, sendo 18 machos e 18 fêmeas, com aproximadamente 180-200 gramas, provenientes do Biotério de criação da Universidade Nove de Julho. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 horas, com umidade (50%-60%), temperatura controlada ( $21 \pm 2$  °C) e com livre acesso a ração e água.

Os ratos foram separados aleatoriamente, sem randomização, sem cegamento por parte do operador em seis grupos experimentais, todos no mesmo dia e não tivemos perdas de nenhum animal durante os experimentos:

**Grupo Basal Macho:** ratos macho controle, não manipulados (n=6)

**Grupo Colite Macho:** ratos machos induzidos a colite (n=6)

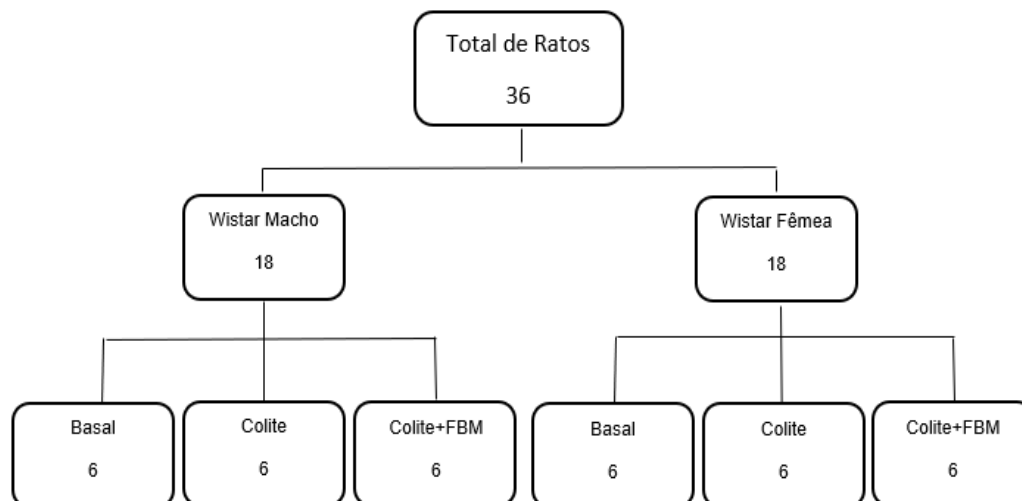
**Grupo Colite + FBM Macho:** ratos machos induzidos a colite e tratados com FBM (n=6)

**Grupo Basal Fêmea:** ratas fêmeas controle, não manipuladas (n=6)



**Grupo Colite Fêmea:** ratas fêmeas induzidas a colite (n=6)

**Grupo Colite + FBM Fêmea:** ratas fêmeas induzidas a colite e tratadas com FBM (n=6)

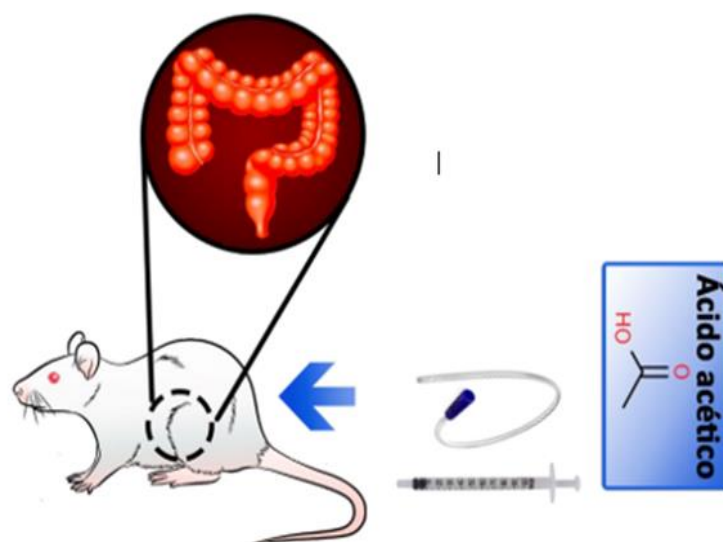


**Figura 2. Grupo de ratos machos e fêmeas submetidos à colite experimental**

Fonte: grupo de estudos.

### 3.2 Indução da Colite experimental

A colite experimental foi induzida de acordo com o método previamente estabelecido por Owusu *et al.*, 2020<sup>72</sup> e modificada pelo nosso grupo de estudo. Para tanto, os animais foram contidos manualmente e envoltos por um tecido macio, uma sonda de látex maleável, calibre 6 french, ponta arredondada e lubrificada com vaselina foi inserida (~6 cm) no reto de cada rato, e em seguida foi injetado gradualmente, com o auxílio de uma seringa 1 ml de solução de ácido acético a 10% (v/v). Antes da retirada da sonda, foi injetado 1 ml de ar para assegurar a distribuição do ácido através do cólon, seguida de sua remoção suavemente para evitar qualquer sofrimento físico, e os ratos foram mantidos inclinados a 30° em relação ao solo, por 30s para que fosse evitado o extravasamento do produto.

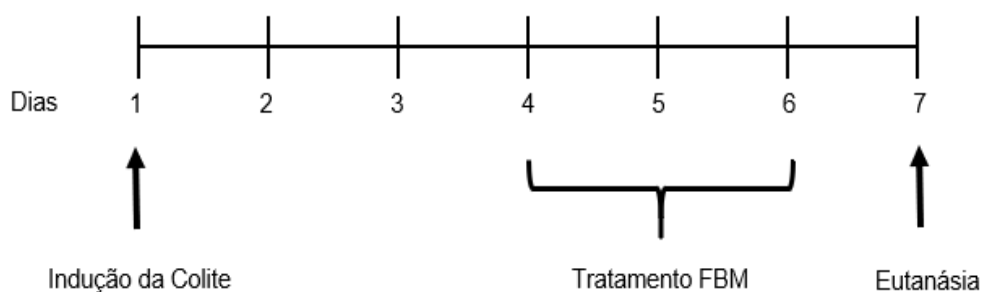


**Figura 3. Modelo de colite experimental induzido por ácido acético a 10%**

Fonte: Melo *et al.* (2021)<sup>72</sup> e adaptado pelo autor.

### 3.3 Tratamento com LED

O tratamento com FBM foi realizado com o equipamento de luz de LED (*light emitting-diode*) da BIOLAMBDA – BLACKBOX MINI, São Paulo, Brasil. Para tanto, 72 horas após a indução da colite os ratos foram tratados por três dias consecutivos com LED vermelho em três pontos: sendo um do lado direito e outro do esquerdo da superfície ventral e um na região anal externa. Os parâmetros de irradiação de LED foram baseados em estudos anteriores<sup>7</sup> e encontram-se descritos na tabela 1.



**Figura 4. Delineamento do estudo.** Dia 1 indução da colite experimental, dias 4, 5 e 6 tratamento com FBM e dia 7 eutanásia.

Fonte: grupo de estudos.

**Tabela 1: Parâmetros dosimétricos da FBM**

<b>Potência</b>	100 mW
<b>Área do Feixe</b>	2,8 cm <sup>2</sup>
<b>Modo</b>	Contínuo (CW)
<b>Comprimento de onda</b>	660 ± 10nm
<b>Energia</b>	15 J
<b>Densidade de Energia</b>	5,35 J/cm
<b>Irradiância</b>	33,3 mW/cm <sup>2</sup>
<b>Tempo de exposição por ponto</b>	150 s
<b>Número de pontos de irradiação</b>	3
<b>Número de Tratamentos</b>	3 dias consecutivos/ 1 vez ao dia

### 3.4 Determinação do índice de atividade da doença (escore DAI)

A pontuação do índice de atividade da doença (escore DAI) foi avaliada após 5 dias de indução da colite e os parâmetros avaliados seguem abaixo na tabela 2.

**Tabela 2: Pontuação do índice de atividade da doença (escore DAI)**

<b>Pontuação</b>	<b>Consistência das fezes</b>	<b>Sangue nas fezes</b>
0	Normal	Negativo
1	Úmida e Pegajosa	Marrom Avermelhada
2	Amolecida	Sangramento Visível
3	Diarreia	Sangramento Retal

### 3.5 Determinação da atividade da mieloperoxidase intestinal

Após 24h da última irradiação foi realizada a eutanásia para coleta dos tecidos. Os ratos foram eutanasiados por secção da aorta abdominal sob anestesia profunda com os anestésicos Cetamina (100 mg/kg, Dopalen®, Ceva Saúde Animal Ltda., Paulínia, São Paulo, Brasil) e Cloridrato de Xilazina (20 mg/kg, Xilazin®, Syntec do Brasil Ltda. Cotia, São Paulo, Brasil) por via intraperitoneal e a seguir o intestino foi removido. A atividade da MPO foi quantificada para determinar a inflamação intestinal. Fragmentos do cólon médio foram homogeneizados em tampão 5% EDTA/NaCl (pH 4,7) e centrifugados a 10.000 rpm a 4 °C por 15 min. A atividade da MPO foi analisada por sua capacidade de catalisar a oxidação da o-dianisidina na presença de peróxido de hidrogênio. Amostras (50 µl) foram incubadas por 15 min com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,1%) (Labsynth) e o-dianisidina (1%) (Labsynth); a reação foi parada pela adição de 1% de NaN<sub>3</sub> (Labsynth). A absorbância foi determinada a 450nm usando um leitor de microplacas (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, EUA). Os resultados foram expressos como média ± S.E.M. da densidade óptica (D.O.) corrigida pelo peso de cada amostra (D.O./mg).

### 3.6 Análise Histológica

Após a eutanásia, como descrito no tópico anterior, o intestino foi removido. As amostras foram imersas em solução de paraformaldeído tamponado a 4% e transportadas para o laboratório de histologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB). As amostras conservadas no fixador por 24 h foram desidratadas em soluções com concentração crescente de etanol, clarificadas em xilol e embebidas em parafina. Em seguida, as amostras de parafina foram seccionadas (3 µm), utilizando o micrótomo RM2125RT (Leica, EUA). Os cortes foram colocados em lâminas histológicas e, após desparafinização e reidratação, corados com hematoxilina-eosina para análise histopatológica, ácido periódico de Schiff (PAS) para análise de mucosa e azul de toluidina para análise de mastócitos. As lâminas foram analisadas usando o microscópio AxioScope A1 (Carl Zeiss, GR) e analisadas usando o Software Zen (Carl Zeiss, GR).

As análises histopatológicas foram realizadas pela pontuação 0: equivalente a nenhum dano; 1: lesão focal da mucosa; 2: lesão da mucosa e foco de infiltrado leucocitário; 3: lesão grave da mucosa e foco de infiltrado leucocitário; 4: destruição da estrutura da mucosa e intenso infiltrado leucocitário.

Para análise de mucosa pelo PAS, foram consideradas as seguintes classificações de pontuação 0: ausente; 1: fraco; 2: mediana; 3: intenso; 4: muito intenso.

### **3.7 Quantificação de citocinas por ELISA**

As citocinas (IL-4, IL-6, IL-1beta, TNF-alfa, IL-10 e IFN-gama) foram mensuradas nos homogenatos intestinais. Os níveis de citocinas foram determinados por ELISA, de acordo com as instruções do fabricante (BD® Biosciences, New Jersey, EUA). Os resultados foram expressos em pg/mL.

### **3.8 Análise Estatística**

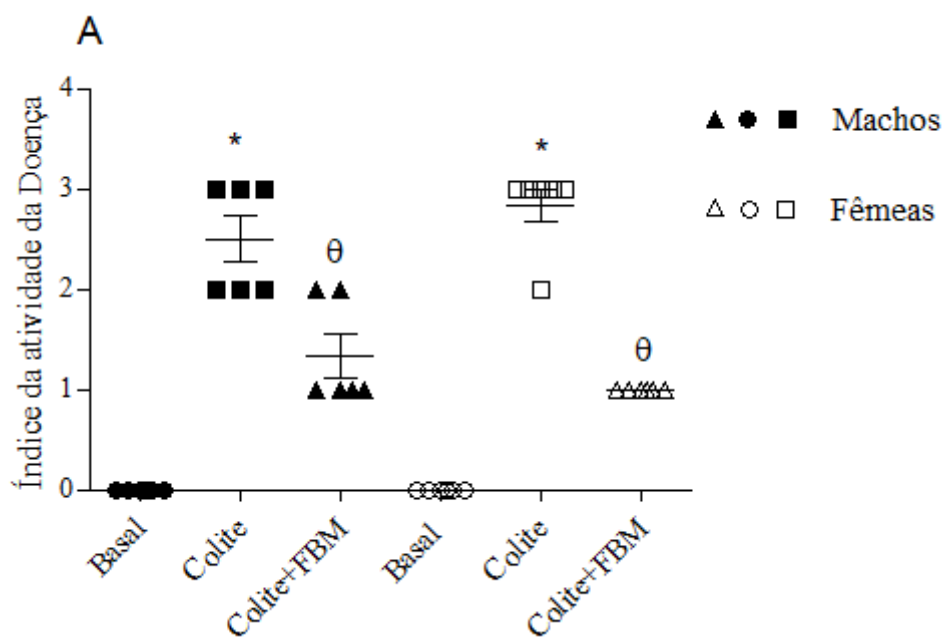
O teste de Kolmogorov-Smirnov mostrou que os dados obtidos foram paramétricos ( $p > 0,05$ ). Os dados foram expressos como média  $\pm$  SEM, e as comparações entre os grupos experimentais foram analisadas por ANOVA one-way seguido pelo teste de Student Newman-Keuls para comparações múltiplas usando o software GraphPad prism V.5. Valores de  $p$  menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

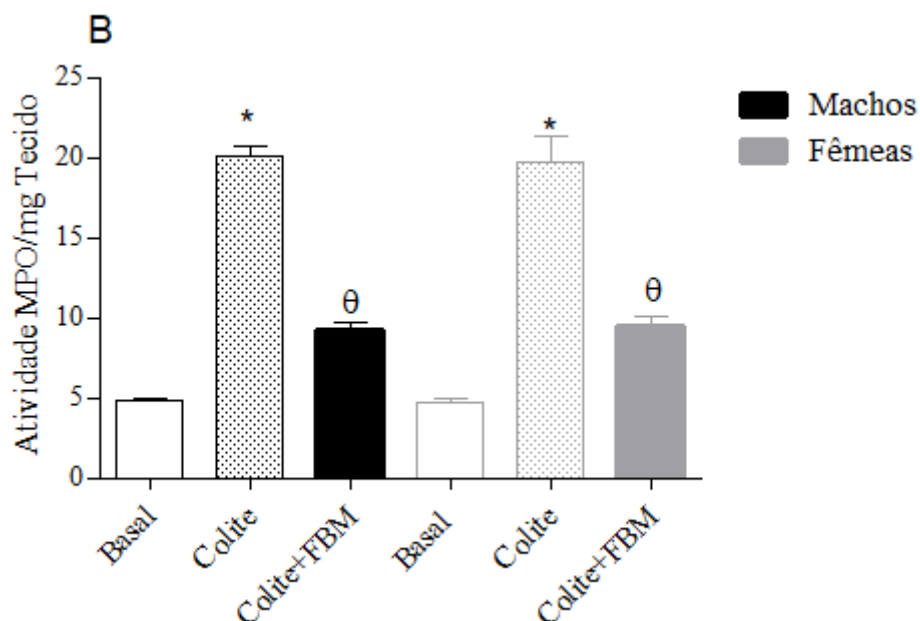
## 4 RESULTADOS

### 4.1 A fotobiomodulação reduz o índice da atividade da doença e a atividade da mieloperoxidase em modelo experimental de colite em machos e fêmeas

A Figura 5, painel A, ilustra o índice da atividade da doença (escore DAI) elevada em ambos os grupos de colite de machos e de fêmeas quando comparados aos grupos basais. Por outro lado, mostramos que o tratamento com FBM reduziu significativamente a pontuação do índice da atividade da doença em ambos os grupos de colite de fêmeas e de machos de forma semelhante quando comparado ao grupo não tratado.

No painel B podemos ver a atividade do MPO. Os resultados mostraram aumento da atividade de MPO em ambos os grupos de colite machos e fêmeas quando comparados aos grupos basais. Também observamos que a FBM reduziu significativamente a atividade de MPO nos grupos de colite fêmea e de machos quando comparados aos grupos sem tratamento. Assim, não vimos diferenças nas respostas entre machos e fêmeas.

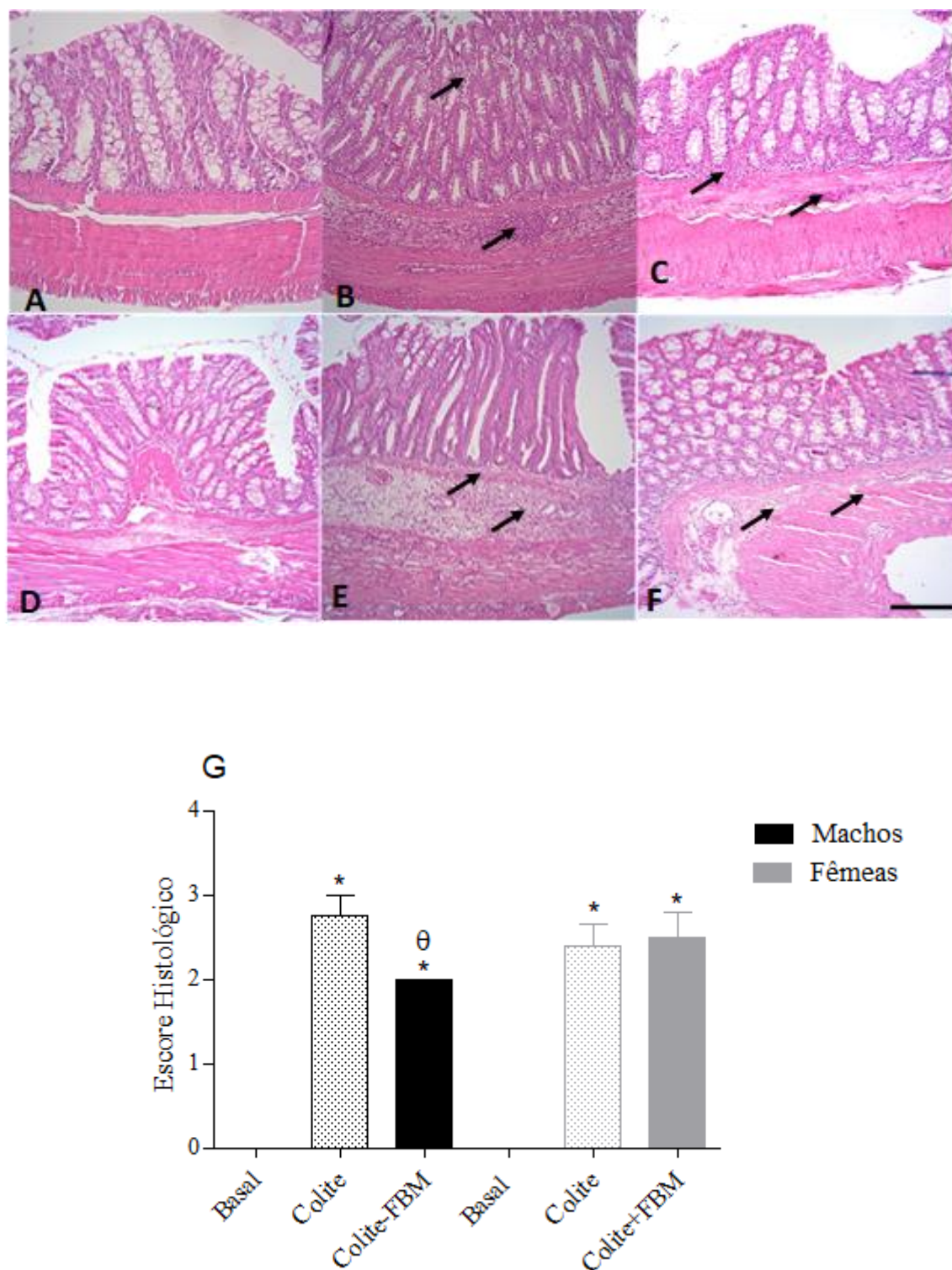




**Figura 5: A fotobiomodulação reduz o índice da atividade da doença (painel A) e a atividade da mieloperoxidase em modelo experimental de colite em machos e fêmeas (painel B).** Os dados representam a média  $\pm$  de 6 animais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo basal;  $\theta$   $P < 0,05$  em comparação com o grupo colite (ANOVA de uma via).

#### **4.2 A fotobiomodulação reduz o escore histopatológico de forma diferenciada em modelo experimental de colite em machos e fêmeas**

A Figura 6 mostra na análise histopatológica do intestino que o grupo basal de ambos os sexos apresentou estruturas da mucosa, submucosa e musculatura em condições normais (Painéis A, D e G). Após a indução da colite, os grupos de fêmeas e machos apresentaram migração de células inflamatórias para a mucosa e região submucosa de forma semelhante quando comparados ao grupo basal (Painéis B, E, G). Por outro lado, após o tratamento com FBM observamos redução na migração de células inflamatórias tanto em fêmeas quanto em machos quando comparados aos grupos não tratados. Porém, a redução foi mais acentuada no grupo de machos quando comparada ao grupo de fêmeas (Painéis C, F, G).

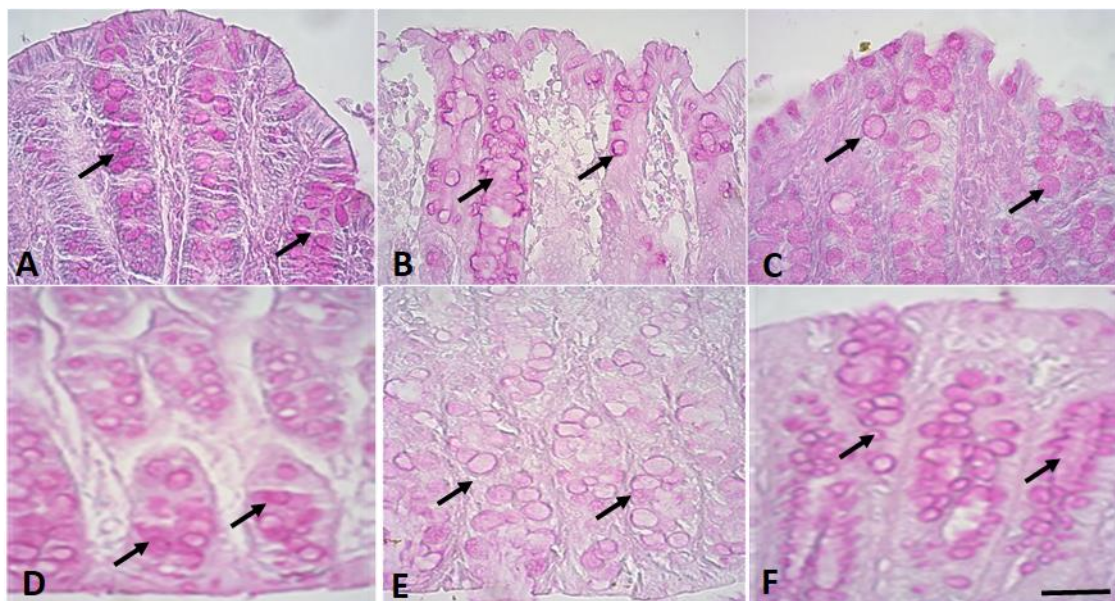


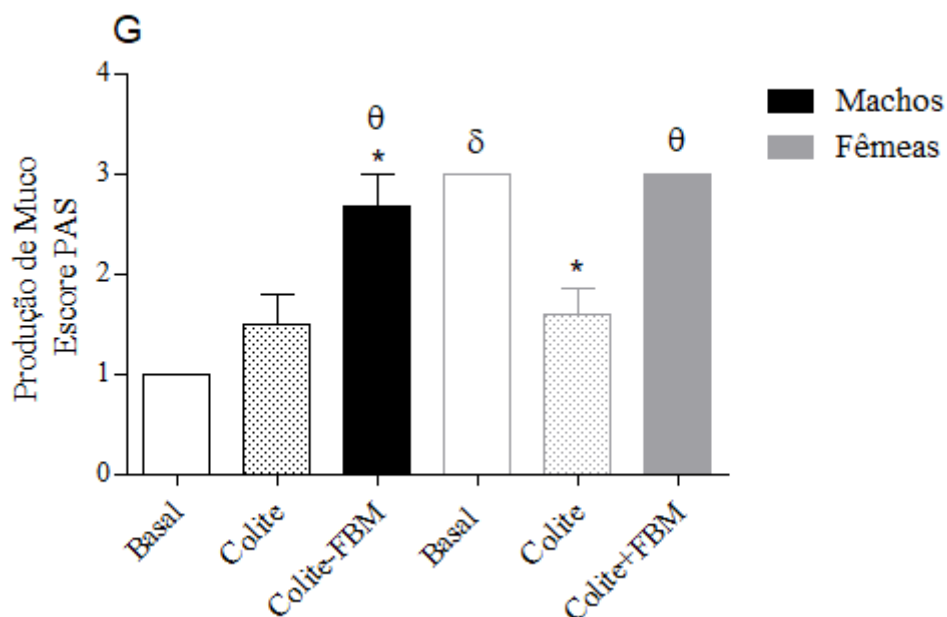
**Figura 6: A fotobiomodulação reduz o escore histopatológico de forma diferenciada em modelo experimental de colite em machos e fêmeas.** Os dados representam a média  $\pm$  de 6 animais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo basal;  $\theta$   $P < 0,05$  em comparação com o grupo colite (ANOVA de uma via).



### 4.3 A fotobiomodulação aumenta a produção de muco de forma semelhante em machos e fêmeas

A Figura 7 mostra a produção de muco pelas células caliciformes do intestino. Podemos observar uma elevada produção de muco do grupo basal de fêmeas quando comparado ao grupo basal de machos (Painéis A, D e G). Também observamos produção reduzida de muco no grupo de fêmeas, enquanto nenhuma alteração no grupo de machos foi observada após a indução da colite quando comparada aos grupos basais (Painéis B, E, G). Por outro lado, após o tratamento com FBM, mostramos produção de muco elevada nos grupos de fêmeas e machos quando comparados aos grupos não tratados (C, F, G).

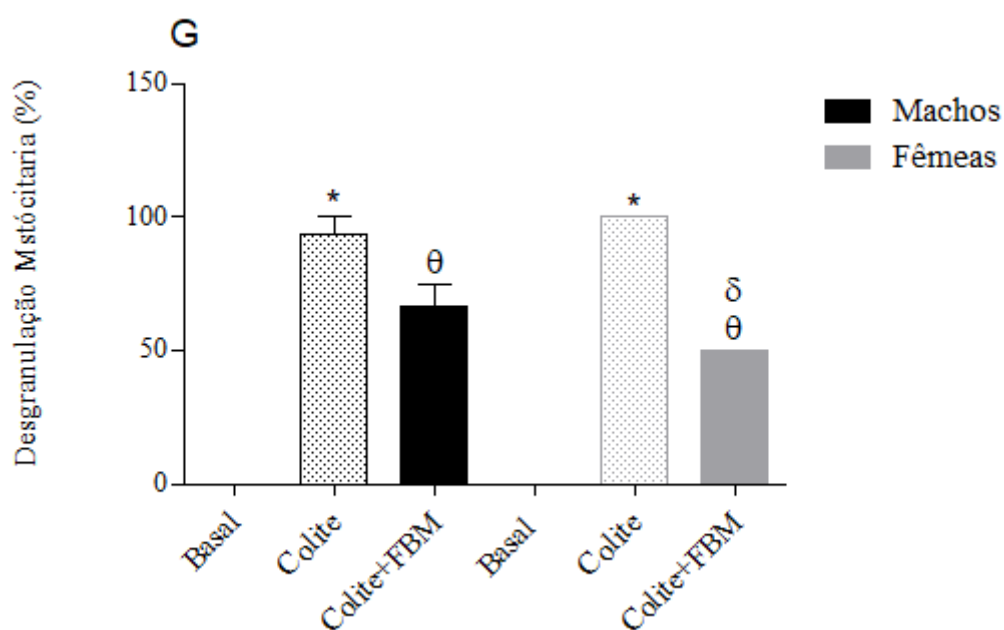
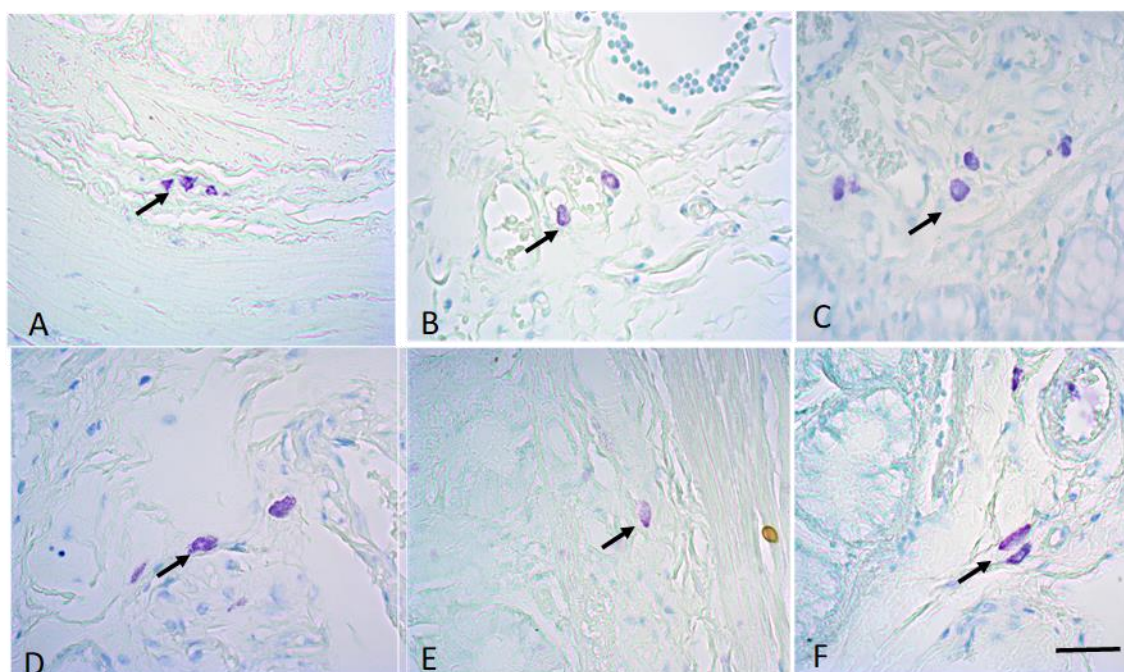




**Figura 7: A fotobiomodulação aumenta a produção de muco de forma semelhante em machos e fêmeas.** Os dados representam a média  $\pm$  de 6 animais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo basal;  $\theta$   $P < 0,05$  em comparação com o grupo colite (ANOVA de uma via).

#### 4.4 A fotobiomodulação diminui a desgranulação de mastócitos de maneira diferenciada em machos e fêmeas

A Figura 8 mostrou mastócitos intactos nos grupos basal de fêmeas e machos (Painéis A, D e G). Também mostramos que a colite induziu a ativação de mastócitos com grânulos de extrusão nos grupos de fêmeas e machos de maneira semelhante quando comparados aos grupos basais (Painéis B, E e G). Por outro lado, após o tratamento com FBM, os grupos de colite fêmeas e machos mostraram mastócitos intactos quando comparados aos grupos não tratados. Mas, a redução do grupo de fêmeas foi mais proeminente do que o grupo de machos (Painéis C, F, G).



**Figura 8: A fotobiomodulação diminui a desgranulação de mastócitos de maneira diferenciada em machos e fêmeas.** Os dados representam a média  $\pm$  de 6 animais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo basal;  $\theta$   $P < 0,05$  em comparação com o grupo colite (ANOVA de uma via).

#### **4.5 A fotobiomodulação modula IL-4, TNF-alfa, IL-1 e IFN-gama de forma semelhante em machos e fêmeas**

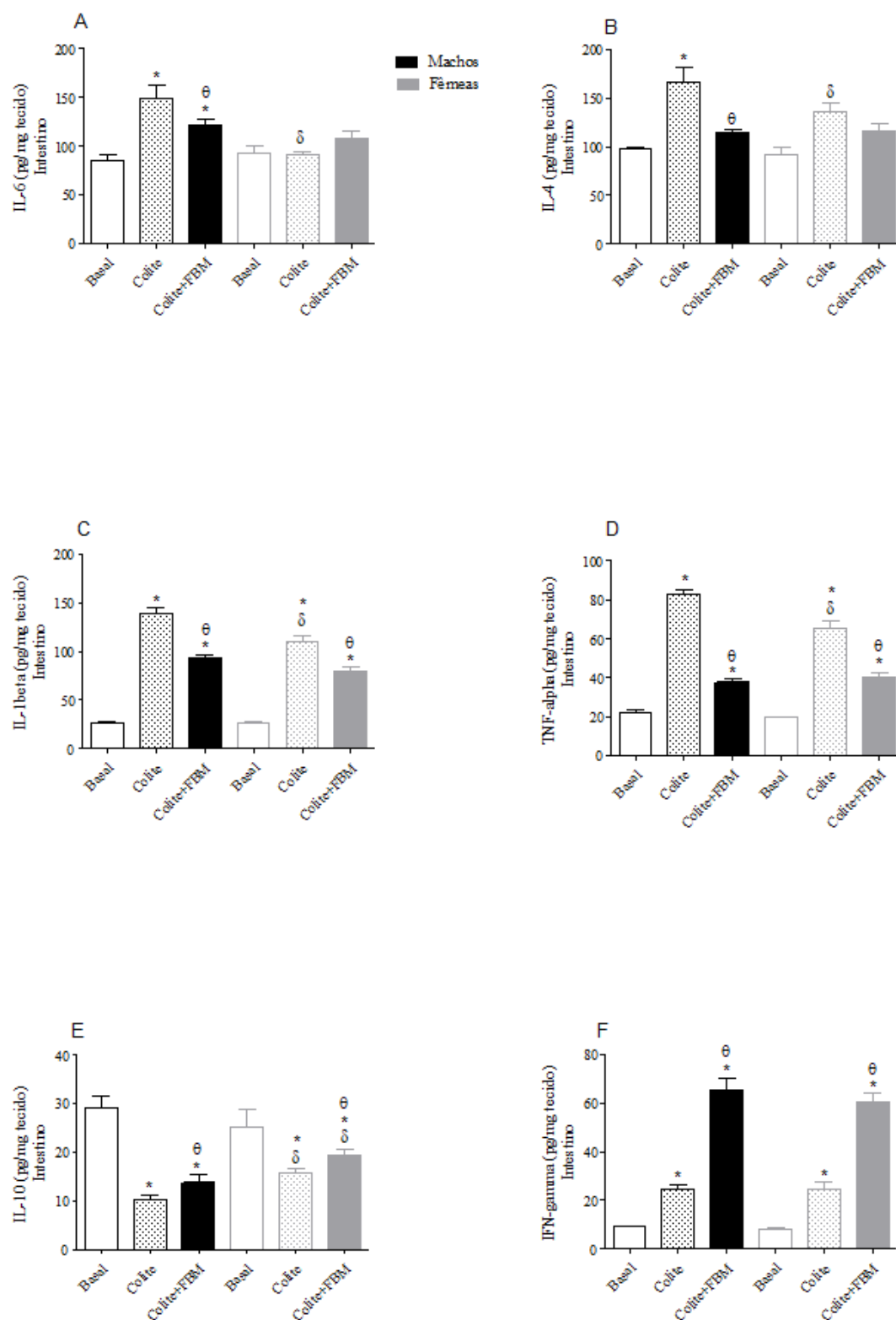
A Figura 9, Painel A mostra que a colite aumentou os níveis de IL-6 no grupo de machos enquanto não alterou no grupo de fêmeas quando comparado aos grupos basais. Mostramos níveis reduzidos de IL-6 após colite no grupo de fêmeas quando comparado ao grupo de machos. Podemos observar que o tratamento com FBM no grupo de machos reduziu a IL-6, enquanto no grupo de fêmeas não houve alteração quando comparado aos grupos não tratados.

No painel B podemos observar que a colite aumentou os níveis de IL-4 nos grupos de machos e fêmeas quando comparados aos grupos basais. Mas, no grupo das fêmeas, esse aumento foi menor do que no grupo de machos. Por outro lado, notamos que a FBM reduziu a IL-4 no grupo de colite machos, enquanto no grupo de fêmeas não houve alteração quando comparado aos grupos não tratados.

Nos painéis C e D, mostramos que a colite aumentou os níveis de IL-1 beta e TNF-alfa nos grupos de machos e fêmeas quando comparados aos grupos basais. Mas, nas fêmeas, esse aumento foi menor do que nos machos. Por outro lado, observamos que a FBM reduziu IL-1 beta e TNF-alfa em ambos os grupos de colite de fêmeas e machos quando comparados aos grupos não tratados.

No painel E podemos ver que a colite diminuiu os níveis de IL-10 nos grupos de machos e de fêmeas quando comparados aos grupos basais. Mas, no grupo de fêmeas, essa redução foi menor do que no grupo de machos. Por outro lado, observamos que o tratamento com FBM aumentou a IL-10 em ambos os grupos de colite de fêmeas e machos quando comparado aos grupos não tratados. Porém, esse aumento foi maior no grupo de fêmeas.

No painel F podemos observar que a colite elevou os níveis de IFN-gama nos grupos de machos e fêmeas quando comparados aos grupos basais. Por outro lado, observamos que o tratamento com FBM aumentou o IFN-gama em ambos os grupos de colite de fêmeas e machos quando comparado aos grupos basal e sem tratamento.



**Figura 9: A fotobiomodulação modula IL-4, TNF alpha, IL-1 beta e IFN de forma semelhante em machos e fêmeas.** Os dados representam a média  $\pm$  de 6 animais. \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo basal;  $\theta$   $P < 0,05$  em comparação com o grupo colite (ANOVA de uma via).

## 5 DISCUSSÃO

Destacamos que a Colite Ulcerativa é um importante distúrbio inflamatório crônico caracterizado por inflamação gastrointestinal grave, levando a sintomas debilitantes.<sup>7,74</sup> Os tratamentos disponíveis são paliativos e visam o controle da doença. Assim, avaliamos os efeitos da FBM na colite experimental induzida por ácido acético. Este modelo experimental é amplamente utilizado para mimetizar o processo fisiopatológico da Colite Ulcerativa com alta operacionalidade. Investigamos o escore DAI, atividade da MPO, análise histológica e liberação de citocinas. Além disso, também analisamos potenciais diferenças entre machos e fêmeas, uma vez que o gênero causa alterações nos processos inflamatórios.<sup>68</sup>

O ácido acético é usado para modelos agudos de colite e seu manejo intrarretal desencadeia uma cascata inflamatória semelhante à que ocorre na Colite Ulcerativa humana, pois causa inflamação não transmural caracterizada por infiltração aumentada de neutrófilos no intestino, necrose maciça da mucosa e submucosa, dilatação vascular, edema e ulceração da submucosa.<sup>37</sup> Além disso, o ácido acético reproduz a Colite Ulcerativa por indução da síntese de citocinas inflamatórias como IL-1beta, IL-4, IL-6, TNF-alfa e IFN-gama, e para estimular a dilatação e espessamento das paredes do cólon através de células epiteliais dano secundário ao aumento do infiltrado inflamatório, redução da produção de muco e modulação de biomarcadores oxidativos de estresse.<sup>75</sup>

Nossos resultados mostraram que o ácido acético induziu colite, uma vez que aumentou o escore DAI, a atividade de MPO, o escore histológico, a desgranulação de mastócitos e as citocinas pró-inflamatórias em machos e fêmeas. No entanto, algumas diferenças foram observadas nas respostas entre machos e fêmeas em relação às citocinas liberadas.

Pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de elucidar diferenças nas respostas fisiológicas entre mulheres e homens diante de processos inflamatórios ou infecciosos. A diferença entre os gêneros vai além da simples distinção entre órgãos sexuais masculinos e femininos, estendendo-se a outros sistemas fisiológicos como o sistema imunológico.<sup>20,21</sup> Embora padrão, como idade e outros fatores ambientais e/ou genéticos, o sistema imunológico tende a responder de forma diferente entre os gêneros, sendo o gênero masculino

frequentemente mais associado a uma menor resposta imune e maior suscetibilidade a infecções virais e bacterianas, enquanto as mulheres são mais suscetível a doenças autoimunes e inflamatórias e esse dimorfismo sexual é percebido ao longo da vida, começando na infância.<sup>18,19</sup> Estudos indicam que roedores fêmeas são mais resistentes a lesões do que ratos machos.<sup>48,49</sup> Portanto, estudos que visam investigar o dimorfismo sexual em relação às respostas fisiológicas, doenças e tratamentos são relevantes.

Aqui mostramos que machos e fêmeas desenvolveram Colite Ulcerativa de forma semelhante, pois os animais apresentaram diarreia e sangramento retal. A atividade da MPO também foi elevada em ambos os grupos mostrando a migração de neutrófilos no intestino. Não foram observadas diferenças entre machos e fêmeas. Quando avaliamos o papel do FBM na colite, nossos resultados mostraram redução significativa no índice da atividade da doença e na atividade de MPO nos machos e fêmeas. Mais uma vez, não foram observadas diferenças entre os sexos. Os efeitos do tratamento foram bem evidenciados uma vez que os animais apresentaram alterações significativas na consistência das fezes e também no sangue. Tais efeitos foram reflexos da redução do processo inflamatório intestinal desencadeado pela FBM, uma vez que observamos redução da atividade da MPO, migração celular para o intestino e desgranulação dos mastócitos. É importante mencionar que o escore histológico nas fêmeas não foi afetado após a FBM, apesar de os escores de MPO e o escore DAI terem sido reduzidos. Uma possível hipótese para essa discrepância são as alterações dos tipos celulares presentes no intestino. Acreditamos que houve redução na migração de neutrófilos, enquanto macrófagos e linfócitos permaneceram elevados. Esses resultados apontaram para uma diferença de resposta à FBM entre machos e fêmeas.

Também investigamos a produção de muco no intestino. Nossos dados mostraram importantes diferenças fisiológicas entre machos e fêmeas. A camada mucosa tem propriedades hidrofóbicas e surfactantes. Essa camada contribui para a retenção de secreções mucosas ricas em peptídeos antibacterianos e imunoglobulina A. A mucosa confere proteção contra microorganismos luminiais, como bactérias, destruindo-os e impedindo sua adesão à mucosa intestinal e ao epitélio.<sup>76</sup> Nosso estudo mostrou que as fêmeas apresentavam aumento da produção de muco basal diferindo dos machos.

Quando a Colite Ulcerativa foi induzida, a produção de muco foi reduzida nas fêmeas e nenhuma alteração foi observada nos machos. Além disso, o tratamento com FBM aumentou a produção de muco em ambos, machos e fêmeas. Este resultado mostrou efeitos protetores importantes da FBM se considerarmos que o muco desempenha um papel protetor na mucosa intestinal.

Os mastócitos são elementos fundamentais da mucosa intestinal em muitos processos biológicos.<sup>77</sup> Essas células atuam como efetores finais do eixo cérebro-intestino conectando o sistema nervoso central com o sistema nervoso periférico<sup>73,78</sup>. Além disso, os mastócitos liberam uma gama de citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF-alfa, que podem afetar a mucosa intestinal.<sup>7</sup> Nossos dados mostraram elevada degradação de mastócitos após a indução de colite em ambos, machos e fêmeas, e a FBM reduziu essa elevação. Além disso, notamos que a redução da desgranulação de mastócitos após FBM foi maior no grupo das fêmeas.

Considerando o importante papel das citocinas no universo da fisiologia intestinal, afetando a defesa e manutenção da integridade da mucosa intestinal, investigamos algumas citocinas envolvidas na patogênese da Colite Ulcerativa, bem como os efeitos da FBM. Além disso, avaliamos o dimorfismo sexual neste contexto. Nossos resultados apontaram diferenças interessantes entre as respostas entre machos e fêmeas para citocinas. A IL-6 é uma molécula chave que contribui para a infiltração de neutrófilos e apoptose celular na colite,<sup>49</sup> enquanto a IL-4 inibe a diferenciação de células Th1, induz proliferação e diferenciação de células B, aumenta a expressão de MHC-II, permitindo maior ativação de Th2.<sup>9</sup> Nossos resultados mostraram níveis elevados de IL-6 e IL-4 em machos após colite, enquanto FBM reduziu esses níveis. Por outro lado, não foram observadas diferenças nos níveis dessas citocinas nos grupos de fêmeas, apesar da atividade da MPO e do escore histológico estarem elevados.

TNF- $\alpha$  e IL-1beta atuam como facilitadores e mediadores da inflamação, incluindo hiper vascularização, angiogênese e estimulam a produção de outras citocinas pró-inflamatórias e de células T<sup>9</sup>. Respostas semelhantes nós mostramos em machos e fêmeas após a indução de colite e tratamento com FBM. Como esperado, a colite aumentou essas citocinas enquanto o FBM diminuiu.



Por fim, quantificamos os níveis de IL-10 e IFN-gama. Nossos resultados mostraram o mesmo padrão de resposta entre machos e fêmeas. Ambos IL-10 e IFN-gama foram aumentados após o tratamento com FBM. A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória, enquanto o IFN-gama desempenha um papel na resolução da colite, induzindo a expressão do receptor de IL-10 no epitélio intestinal e induzindo a polarização de macrófagos anti-inflamatórios.<sup>73,79</sup> Assim, mostramos que o FBM atua no sentido de restabelecer a homeostase, uma vez que reduziu os mediadores inflamatórios e aumentou os anti-inflamatórios.

## **6 CONCLUSÕES**

Apesar de o nosso estudo ter identificado algumas diferenças de respostas entre os gêneros, a FBM demonstrou reduzir os biomarcadores da Colite Ulcerativa em ambos os sexos de forma satisfatória, indicando ser uma possível opção de tratamento combinado, acessível e não invasivo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilhelm SM, Love BL, Management of patients with inflammatory bowel disease: Current and future treatments, *Clin. Pharm.* 9 (3) (2017) 1–24, <https://doi.org/10.1211/CP.2017.20202316>
2. Khorshidi M, Djafarian K, Aghayei E, Shab-Bidar S. A posteriori dietary patterns and risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis of observational studies. *Int J Vitam Nutr Res.* 2020 Jun;90(3-4):376-384. doi: 10.1024/0300-9831/a000508. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31711373.
3. Li T, Qiu Y, Yang HS, Li MY, Zhuang XJ, Zhang SH et al. Systematic review and meta-analysis: Association of a pre-illness Western dietary pattern with the risk of developing inflammatory bowel disease. *Meta-Analysis J Dig Dis.* 2020;21(7):362-71.
4. Su H, Chiu Y, Chiu C, Lin Y, Wang C, Hsieh J, Wei S. Inflammatory bowel disease and its treatment in 2018: Global and Taiwanese status updates. *Journal Formosan Medical Association*, 2019; 118(7):1083-92.
5. Romberg-Camps MJ, Dagnelie PC, Kester AD, Hesselink-van de Kruijs MA, Cilissen M, Engels LG, Van Deursen C, Hameeteman WH, Wolters FL, Russel MG, Stockbrügger RW. Influence of phenotype at diagnosis and of other potential prognostic factors on the course of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2009 Feb;104(2):371-83. doi: 10.1038/ajg.2008.38. Epub 2009 Jan 27. PMID: 19174787.
6. Ghosh S, Mitchell R. Impact of inflammatory bowel disease on quality of life: Results of the European Federation of Crohn's and Ulcerative Colitis Associations (EFCCA) patient survey. *J Crohns Colitis.* 2007 Sep;1(1):10-20. doi: 10.1016/j.crohns.2007.06.005. PMID: 21172179.
7. Paula-Silva M, Broering MF, Scharf P, da Rocha GHO, Farsky S, Lino-Dos-Santos-Franco A. Red light-emitting diode treatment improves tissue recovery in DSS-induced colitis in mice. *J Photochem Photobiol B.* 2020 Nov;212:112018. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2020.112018. Epub 2020 Sep 5. PMID: 32957067.
8. Luissint AC, Parkos CA, Nusrat A. Inflammation and the Intestinal Barrier: Leukocyte-Epithelial Cell Interactions, Cell Junction Remodeling, and Mucosal Repair. *Gastroenterology.* 2016 Oct;151(4):616-32. doi: 10.1053/j.gastro.2016.07.008. Epub 2016 Jul 18. PMID: 27436072; PMCID: PMC5317033.
9. Cavalcante RMS, Moura MSB de, Braz DC, Nogueira N do N. Ulcerative colitis and cytokines: a literature review. *RSD [Internet].* 2020 Aug.20 [cited on 2023 Apr.17];9(9):e314997145. Available at: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/7145>

10. Kaplan GG, Bernstein CN, Coward S, Bitton A, Murthy SK, Nguyen GC, Lee K, Cooke-Lauder J, Benchimol EI. The Impact of Inflammatory Bowel Disease in Canada 2018: Epidemiology. *J Can Assoc Gastroenterol*. 2019 Feb;2(Suppl 1):S6-S16. doi: 10.1093/jcag/gwy054. Epub 2018 Nov 2. PMID: 31294381; PMCID: PMC6512243.
11. Brito RCV, Peres CL, Silveira KAF, Arruda EL, Almeida Jr MP. Doenças inflamatórias intestinais no Brasil: perfil das internações, entre os anos de 2009 a 2019. *Rev. Educação Saúde* 2020; 8(1):1-9.
12. Lobo PCB, Aguiar JFM, Schincaglia RM, Freitas ATVS, Bafutto M, Pimentel GD et al. Eight weeks of curcuma longa L. supplementation improves disease activity and quality of life in Ulcerative Colitis patients: a pilot study. *Brazilian Journal Development* 2020;6(6):34279-89.
13. Scribano ML, Prantera C. Antibiotics and inflammatory bowel diseases. *Dig Dis*. 2013;31(3-4):379-84. doi: 10.1159/000354704. Epub 2013 Nov 14. PMID: 24246992.
14. Sobrado, CWr ; Sobrado, LF . Management of acute severe ulcerative colitis: a clinical update. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)* , v. 29, p. 201-205, 2016.
15. Truelove, S. C.; Witts, L. J. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *British Medical Journal*, London, v. 2, n. 4947, p. 1041-1048, 1955.
16. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College of Gastroenterology, Practice parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010;105:501-523.
17. Caprilli L, Latella G, Vernia P, Frieri G. multiple organ dysfunction in ulcerative colitis *Am J Gastroenterol* 2000;95:1258-1262.
18. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016 Oct;16(10):626-38. doi: 10.1038/nri.2016.90. Epub 2016 Aug 22. PMID: 27546235.
19. Bonnégarde-Bernard A, Jee J, Fial MJ, Steiner H, DiBartola S, Davis IC, Cormet-Boyaka E, Tomé D, Boyaka PN. Routes of allergic sensitization and myeloid cell IKK $\beta$  differentially regulate antibody responses and allergic airway inflammation in male and female mice. *PLoS One*. 2014 Mar 25;9(3):e92307. doi: 10.1371/journal.pone.0092307. PMID: 24667561; PMCID: PMC3965427.
20. Jaillon S, Berthenet K, Garlanda C. Sexual Dimorphism in Innate Immunity. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019 Jun;56(3):308-321. doi: 10.1007/s12016-017-8648-x. PMID: 28963611.

21. Lisboa LA, Santos DC dos, Oliveira C da C, Moura IGS, Bastos LP, Leite TO. Inflammatory Response and Sexual Dimorphism to an Infection. *Braz. J. Hea. Rev.* [Internet]. 26 de outubro de 2021 [citado em 17 de abril de 2023];4(5):23047-56.  
Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/38290>
22. Heller, F., Florian, P., Bojarski, C., Richter, J., Christ, M., Hillenbrand, B., Mankertz, J., Gitter, A. H., Bürgel, N., Fromm, M., Zeitz, M., Fuss, I., Strober, W., & Schulzke, J. D. (2005). Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology*, 129(2), 550–564.  
<https://doi.org/10.1016/j.gastro.2005.05.002>.
23. Danese, S. M. D.; Fiocchi, C. M. D. Ulcerative Colitis. *N. Engl. J. Med.* 365(18): 1713-1725, 2011.
24. Banfi, D. *et al.* Impact of Microbial Metabolites on Microbiota–Gut–Brain Axis in Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(4):1623.
25. SC Ng *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies, *Lancet*. 390 .2017, 2769-2778.
26. Victoria CR, Sasaki LY, Nunes HRC. Incidência e prevalência das doenças inflamatórias intestinais na região centro-oeste do Estado de São Paulo. *Arq Gastroenterol*. 2009;46(1):20-25.
27. Silva BC. *et. al.* The Demographic and Clinical Characteristics of Ulcerative Colitis in a Northeast Brazilian Population. *Biomed Res Int*. 2015; 359130.
28. Gomes, T *et al.* Clinical and Demographic Profile of Inflammatory Bowel Disease Patients in a Reference Center of São Paulo, Brazil. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 2021, 14, 91 - 102.
29. Souza AMD, Resende SS, Sousa TND, Brito CFAD. Uma sistemática revisão do escopo da ancestralidade genética da população brasileira. *Genet Mol Biol* . 2019; 42 (3): 495–508.
30. Bitton A *et al.* Epidemiologia da Doença Inflamatória Intestinal em Québec. *Inflamm Bowel Dis* . 2014; 20 (10): 1770–1776.
31. Podolsky, DK. Inflammatory Bowel Disease. *N Engl J Med* 2002;347(6):417-429.
32. Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-κB. *Nature Reviews* 2004; 5:392-401.

33. Gheibi S, Hashemi SR, Karimipour M, Motlagh BM, Ghaleh HEG. Synergistic effects of hydro extract of jujube fruit in combination with Mesalazine (orally) and Asacol (intracolonic) administration in ameliorating animal model of ulcerative colitis. *J Coloproctol.* 2018;38(4):275-82. <https://doi.org/10.1016/j.jcol.2018.05.008>
34. Pullman WE, Elsbury S, Kobayashi M, Hapel AJ, Doe WF. Enhanced mucosal cytokine production in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992;102:529-537.
35. Gross V, Andus T, Caesar I, Roth M, Scholmerich J. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1992;102:514-519.
36. Chami B, Martins N.J.J, Dennis J.M, Witting P.K, Myeloperoxidase in the inflamed colon: A novel target for treating inflammatory bowel disease, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2018; (645):61-71, ISSN 0003-986, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.03.012>.
37. Pereira de Jesus, R., *et al.* Myeloperoxidase Inhibitors as Anti-Inflammatory Drug Candidates. *Rev. Virtual Quim.*, 2022, 14(4), 669-682
38. Luo J, Cao J, Cui H. Effect of low molecular weight heparin rectal suppository on experimental ulcerative colitis in mice. *Biomedicine Pharmacotherapy* 2020;64(7):441-5.
39. Meerveld BG, Prusator DK, Johnson AC. Animal models of gastrointestinal and liver diseases. Animal models of visceral pain: pathophysiology, translational relevance, and challenges. *American Journal Physiology Gastrointestinal Liver Physiology* 2015;308(1):G885-G903.
40. Mahadevan U. Pregnancy and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am.* 2010;94(1):53-73.
41. Smink M, Lotgering FK, Albers L, de Jong DJ. Effect of childbirth on the course of Crohn's disease; results from a retrospective cohort study in the Netherlands. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:6.
42. Rosa e Silva ACJS, Sá MFS de. Efeito dos esteróides sexuais no humor e na cognição. *Arch Clin Psychiatry (antigo: Rev Psiqu Clin)* [Internet]. 1º de janeiro de 2006 [citado em 2 de abril de 2023];33(2):60-7. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/acp/article/view/17067>.
43. Amirshahrokhi K, Bohlooli S, Chinifroush MM. The effect of methylsulfonylmethane on the experimental colitis in the rat. *Toxicology Applied Pharmacology* 2011;253(3):197-202.

44. Rani R, Smulian AG, Greaves DR, Hogan SP, Herbert DR. TGF- $\beta$  limits IL-33 production and promotes the resolution of colitis through regulation of macrophage function. *European Journal Immunology* 2011;41(7):2000-9.
45. Owusu G, Obiri DD, Ainooson GK, Osafo N, Antwi AO, Duduyemi BM, Ansah C. Acetic acid-induced ulcerative colitis in sprague dawley rats is suppressed by hydroethanolic extract of cordia vignei leaves through reduced serum levels of tnf- $\alpha$  and il6. *Int J Chronic Dis* 2020;8785497.
46. Mauvais-Jarvis F, Merz NB, Barnes PJ, Brinton RD, Carrero J, DeMeo DL et al. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *Lancet* 2020;396(10250):565-82.
47. Dekkers KF, Neele AE, Jukema JW, Heijmans BT, Winther MPJ. Human monocyte-to-macrophage differentiation involves highly localized gain and loss of DNA methylation at transcription factor binding sites. *Epigenet Chromatin* 2019;12(1):34.
48. Ashare RL, Wetherill RR. The intersection of sex differences, tobacco use, and inflammation: implications for psychiatric disorders. *Curr Psychiatry Rep.* 2018;20(9):75.
49. Kooijman EE. et al. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate stimulates alveolar epithelial fluid clearance in male and female adult rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 301-5.
50. Angele MK, Pratschke S, Chaudry IH: Does gender influence outcomes in critically ill patients? *Crit Care* 2012; 16-3.
51. Ba ZF. et al. Flutamide induces relaxation in large and small blood vessels. *Arch Surg* 2002; 10: 1180–1186.
52. Deitch EA. *et al.* Resistance of the female, as opposed to the male, intestine to I/R-mediated injury is associated with increased resistance to gut-induced distant organ injury. *Shock* 2008; 1: 78–83.
53. Mester A, Mester A. The history of photobiomodulation: Endre Mester (1903–1984). *Photomed Laser Surg.* 2017;35(8):393-4.
54. Bensadoun R, Epstein JB, Nair RG, Barasch A, Raber-Durlacher JE, Migliorati C et al. Safety and efficacy of photobiomodulation therapy in oncology: A systematic review. *Cancer Med.* 2020; 9(22):8279-8300.
55. Anders JJ, Lanzafame RJ, Arany PR. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomed Laser Surg.* 2015;33(4):183-4.
56. Mouffron V, Furlan RMM, Motta AR. Immediate effects of photobiomodulation on maximum lip pressure. *CoDAS* 2022;34(2):e20210024.

57. Salehpour F, Mahmoudi J, Kamari F, Sadigh-Eteghad S, Rasta SH, Hamblin MR. Brain Photobiomodulation therapy: a narrative review. *Mol Neurobiol*. 2018;55(8):6601-36.
58. Moura LAS, Nascimento JS. Eficácia do laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite oral em pacientes oncológicos. *Id on Line Rev. Multidisciplinar Psicologia* 2020;14(52):991-1002.
59. Sociedade Brasileira De Fonoaudiologia. Departamentos de Disfagia, Motricidade Orofacial e Voz. Parecer o uso da fotobiomodulação em fonoaudiologia. 2020. Disponível em: <https://www.sbfa.org.br>. Acesso em: 10 abr. 2022.
60. Zecha JAEM, Raber-Durlacher JE, Nair RG, Epstein JB, Elad S, Hamblin MR et al. Low-level laser therapy/photobiomodulation in the management of side effects of chemoradiation therapy in head and neck cancer: part 2: proposed applications and treatment protocols. *Support Care Cancer* 2016;24(6):2793-2805.
61. Huang YY, Nagata K, Tedford CE, McCarthy T, Hamblin MR. Low-level laser therapy (LLLT) reduces oxidative stress in primary cortical neurons in vitro. *J Biophotonics*. 2013;6(10):829-38.
62. Naeser MA, Saltmarche A, Krengel MH, Hamblin MR, Knight JA. Improved cognitive function after transcranial, light-emitting diode treatments in chronic, traumatic brain injury: two case reports. *Photomed Laser Surg*. 2011;29(5):351-8.
63. Ball KA, Castello PR, Poyton RO. Low intensity light stimulates nitrite-dependent nitric oxide synthesis but not oxygen consumption by cytochrome c oxidase: Implications for phototherapy. *J Photochem Photobiol B, Biol*. 2011;102(3):182-91.
64. Santana-Blank L, Rodríguez-Santana E, Santana-Rodríguez K. Theoretic, experimental, clinical bases of the water oscillator hypothesis in near-infrared photobiomodulation. *Photomed Laser Surg*. 2010;28(S1):41-52
65. Freitas LF, Hamblin MR. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. *IEEE J Sel Top Quantum Electron*. 2016;22(3):348-64.
66. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *J Biomed Sci*. 2009;16(1):4.
67. Arany PR, Cho A, Hunt TD, Sidhu G, Shin K, Hahm E, Huang GX, Weaver J, Chen AC, Padwa BL, Hamblin MR, Barcellos-Hoff MH, Kulkarni AB, DJM. Photoactivation of endogenous latent transforming growth factor-beta1 directs dental stem cell differentiation for regeneration. *Science translational medicine* 2014;6:238-69.



68. Buscone S, Mardaryev AN, Raafs B, Bikker JW, Sticht C, Gretz N, Farjo N, Uzunbajakava NE, Botchkareva NV. A new path in defining light parameters for hair growth: Discovery and modulation of photoreceptors in human hair follicle. *Lasers Surg Med*. 2017;49(7):705-18.
69. Belém MO, Andrade GMM, Carlos TM, Guazelli CFS, Fattori V, Toginho Filho DO et al. Light-emitting diodes at 940nm attenuate colitis-induced inflammatory process in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2016;162:367-73.
70. Zigmond E, Varol C, Kaplan M, Shapira O, Melzer E. Low-level light therapy induces mucosal healing in a murine model of dextran-sodium-sulfate induced colitis. *Photomed Laser Surg*. 2014, 32(8):450-7.
71. Guazelli CFS et al. (2013) Quercetin-loaded microcapsules ameliorate experimental colitis in mice by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. *J Nat Prod* 2013;76:200-8.
72. Owusu G, Obiri DD, Ainooson GK, Osafo N, Antwi AO, Duduyemi BM, Ansah C. Acetic acid-induced ulcerative colitis in sprague dawley rats is suppressed by hydroethanolic extract of cordia vignei leaves through reduced serum levels of tnf- $\alpha$  and il6. *Int J Chronic Dis* 2020:8785497.
73. Melo NM da C, Almeida MVS, Campos DM de O, Oliveira CBS de, Oliveira JIN. Modelos animais de indução das doenças inflamatórias intestinais: revisão integrativa. *Rev Cienc Saude* [Internet]. 23º de março de 2021 [citado 13º de outubro de 2023];11(1):80-7. Disponível em: [https://portalrcs.hcitajuba.org.br/index.php/rcsfmit\\_zero/article/view/1056](https://portalrcs.hcitajuba.org.br/index.php/rcsfmit_zero/article/view/1056)
74. Carvalho L do C, Silva ES da, Roma ALM, Lauriano JEG, Reis SC dos, Costa FVS, Bezerra RO de C, Rocha MFQ, Filho VQM, Machado LC de S. Inflammatory bowel diseases: an overview. *REAMed* [Internet]. 2 Feb.2022 [quoted 17 Apr.2023];2:e9650. Available from: <https://acervomais.com.br/index.php/medico/article/view/9650>
75. Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015 Mar 1;1(2):154-170. doi: 10.1016/j.jcmgh.2015.01.006. PMID: 26000334; PMCID: PMC4435576.
76. Rodrigues, FAP; et al. "Physiology of the Intestinal Epithelial Barrier", p. 441-478. In: *Digestive System: Basic-Clinical Integration*. So Paulo: Blucher, 2016.
77. Ji Y, Sakata Y, Yang Q, Li X, Xu M, Yoder S, Langhans W, Tso P. Activation of rat intestinal mucosal mast cells by fat absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012 Jun 1;302(11):G1292-300. doi: 10.1152/ajpgi.00011.2012. Epub 2012 Mar 29. PMID: 22461027; PMCID: PMC3378165.
78. Lopes Silva, J.C., Campos S Évelin DC, Santana MLC de, Costa A dos S, Francelino JO. Gut microbiota and the central nervous system: exploring the brain-gut axis. *Rev Neuroscience* [Internet]. April 25, 2022 [quoted April 17,

2023]; 30:1-29. Available at:  
<https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/12129>

79. Schmitt, N., Ueno, H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol.* 2015 Jun; 34:130-6. doi: 10.1016/j.coi.2015.03.007. Epub 2015 Apr 11. PMID: 25879814; PMCID: PMC4465198.

## ANEXO 1 – Protocolo aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal



Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "O PAPEL DA FOTOBIMODULAÇÃO NA COLITE EXPERIMENTAL: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS", protocolada sob o CEUA nº 1437200522 (ID 000310), sob a responsabilidade de **Adriana Lino dos Santos Franco** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 21/06/2022.

We certify that the proposal "The role of photobiomodulation in the experimental colitis: Parallel between female and male", utilizing 36 Heterogenics rats (males and females), protocol number CEUA 1437200522 (ID 000310), under the responsibility of **Adriana Lino dos Santos Franco** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Nove de Julho University (CEUA/UNINOVE) in the meeting of 06/21/2022.

Finalidade da Proposta: *Pesquisa (Acadêmica)*

Vigência da Proposta: de *07/2022* a *07/2024*

Área: *Biofotônica Aplicada Às Ciências da Saúde*

Origem: *Biotério - Unidade Vergueiro*

Espécie: *Ratos heterogênicos*

sexo: *Machos e Fêmeas*

idade: *60 a 100 semanas* N: *36*

Linhagem: *Wistar*

Peso: *180 a 200 g*

Local do experimento: *Laboratório pesquisa Uninove Vergueiro*

São Paulo, 17 de novembro de 2022

Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Nove de Julho

Profa. Dra. Stella Regina Zamuner  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Nove de Julho

## ANEXO 2 – ARRIVE

	ITEM	Pág.
<b>Desenho do Estudo</b>	3.1, 3.3	33,34,35
<b>Tamanho da Amostra</b>	3.1,3.3	33,34,35
<b>Critério de Inclusão e exclusão</b>	3.1	33
<b>Randomização</b>	3.1	33
<b>Cegamento</b>	3.1	33
<b>Desfechos</b>	4	39-46
<b>Métodos estatísticos</b>	3.8	38
<b>Animais Experimentais</b>	3.1	33
<b>Procedimentos Experimentais</b>	3.2, 3.3	34, 35
<b>Resultados</b>	4	39-46

## ANEXO 3 – Artigos

> *Lasers Med Sci.* 2023 Nov 22;38(1):271. doi: 10.1007/s10103-023-03932-w.

### Effects of photobiomodulation in the experimental acetic acid-induced colitis: comparison between male and female

Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt<sup>1</sup>, Adriana Schapochnik<sup>1</sup>, Vanessa de Souza<sup>1</sup>,  
Virgínia Mendes Matias Rodrigues<sup>1</sup>, Marlon Palma da Cruz<sup>1</sup>, Amílcar Sabino Damazo<sup>2</sup>,  
Caroline Marcantonio Ferreira<sup>3</sup>, Rebeca Boltes Cecatto<sup>1</sup>,  
Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues<sup>1</sup>, Adriana Lino-Dos-Santos-Franco<sup>4</sup>

Affiliations + expand

PMID: 37989885 DOI: 10.1007/s10103-023-03932-w

> *Lasers Med Sci.* 28 de outubro de 2023;38(1):247. doi: 10.1007/s10103-023-03910-2.

### Comparação entre fotobiomodulação local abdominal e transcutânea da veia caudal em modelo experimental de colite ulcerativa em ratos

Virgínia Mendes Matias Rodrigues<sup>1</sup>, Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt<sup>1</sup>,  
Adriana Schapochnik<sup>1</sup>, Vanessa de Souza<sup>1</sup>, Marlon da Palma Cruz<sup>1</sup>, Amílcar Sabino Damazo<sup>2</sup>,  
Caroline Marcantonio Ferreira<sup>3</sup>, Rebeca Boltes Cecatto<sup>1</sup>, Michael R Hamblin<sup>4</sup>,  
Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues<sup>1</sup>, Adriana Lino-Dos-Santos-Franco<sup>5</sup>

Afilições + expandir

PMID: 37897531 DOI: 10.1007/s10103-023-03910-2

*Lasers in Medical Science* (2023) 38:93  
<https://doi.org/10.1007/s10103-023-03750-0>

REVIEW ARTICLE



### Intravascular laser irradiation of blood (ILIB) used to treat lung diseases: a short critical review

Adriana Schapochnik<sup>1</sup> · Paula Tatiane Alonso<sup>1</sup> · Vanessa de Souza<sup>1</sup> · Virginia Rodrigues<sup>1</sup> · Kelly Quintela<sup>1</sup> · Marlon da Palma Cruz<sup>1</sup> · Caroline Marcantonio Ferreira<sup>2</sup> · Rebeca Boltes Cecatto<sup>1</sup> · Maria Fernanda Setubal Destro Rodrigues<sup>1</sup> · Michael R. Hamblin<sup>3</sup> · Adriana Lino-dos-Santos-Franco<sup>1</sup>

Received: 29 November 2022 / Accepted: 10 March 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2023

## Lasers in Medical Science

### Repercussion of inflammatory bowel disease on lung homeostasis: The role of photobiomodulation

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	LIMS-D-23-00215
<b>Full Title:</b>	Repercussion of inflammatory bowel disease on lung homeostasis: The role of photobiomodulation
<b>Article Type:</b>	Original Article
<b>Keywords:</b>	Inflammatory bowel diseases; Photobiomodulation; Gut-lung axis; Mast cells; Cytokines; Light-emitting diode
<b>Corresponding Author:</b>	Adriana Lino-dos-Santos-Franco, PhD Universidade Nove de Julho - Campus Vergueiro São Paulo, BRAZIL
<b>Order of Authors:</b>	Vanessa de Souza
	Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt
	Virginia Mendes Matias Rodrigues
	Adriana schapochnik
	Marlon da-Palma-Cruz
	Amílcar Sabino Damazo
	Caroline Marcantonio Ferreirac
	Rebeca Boltes Cecatto
	Maria Fernanda de Souza Setubal Destro
	Adriana Lino-dos-Santos-Franco, PhD
<b>Corresponding Author Secondary:</b>	