

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA BIOFOTÔNICA

**Efeitos comparativos da fotobiomodulação transcutânea local e
vascular em modelo experimental de colite ulcerativa**

VIRGÍNIA MENDES MATIAS RODRIGUES

São Paulo

2023

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

VIRGÍNIA MENDES MATIAS RODRIGUES

**Efeitos comparativos da fotobiomodulação transcutânea local e
vascular em um modelo experimental de colite ulcerativa**

Tese apresentada à Universidade
Nove de Julho, como requisito
para obtenção do título de Doutor
em Medicina Biofotônica.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Adriana
Lino dos Santos Franco

São Paulo

2023

Rodrigues, Virgínia Mendes Matias.

Efeitos comparativos da fotobiomodulação transcutânea local e vascular em um modelo experimental de colite ulcerativa. / Virgínia Mendes Matias Rodrigues. 2023.

63 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2023.

Orientador (a): Profª. Drª. Adriana Lino dos Santos Franco.

1. Colite ulcerativa. 2. Fotobiomodulação vascular transcutânea. 3. ILIB.
4. Citocinas. 5. Doença intestinal.

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

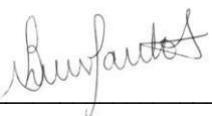
CDU 615.831

São Paulo, 10 de novembro de 2023.

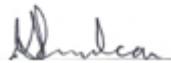
TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Virgínia Mendes Matias Rodrigues

Título da Tese: “Efeitos comparativos da fotobiomodulação transcutânea local e vascular em um modelo experimental de coleta ulcerativa”.

Presidente: PROF^a. DR^a. ADRIANA LINO DOS SANTOS FRANCO 

Membro: PROF. DR. RENATO ARAUJO PRATES 

Membro: PROF. DR. AMILCAR SABINO DAMAZO 

Membro: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS 

Membro: PROF. DR. HUMBERTO DELLE 

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, por me dar força interior para superar os obstáculos, ultrapassar barreiras de uma pandemia mundial, e mostrar sempre o melhor caminho, suprindo todas as necessidades.

Agradeço aos meus pais e demais da família, pelo apoio em todos os momentos, para alcançar o meu objetivo, em especial minha gratidão imensa ao meu esposo Ayres Fernando e ao nosso filho João Lucas, por todo amor, compreensão e apoio que me proporcionam todos os dias, obrigada pelo incentivo constante, sempre com palavras de carinho.

Minha imensa gratidão para a minha querida orientadora Prof.^a Dr.^a Adriana Lino, que me ensinou o verdadeiro sentido da pesquisa animal, agradeço a oportunidade de compartilhar do seu conhecimento e experiência, sempre presente, sempre parceira. Em nenhum momento você deixou de acreditar no meu potencial, mostrou que os desafios podem ser superados e me fez enxergar cada dificuldade como uma ocasião de crescimento. Sua confiança, amizade e apoio foram imprescindíveis. Meu sincero respeito e admiração, sou grata por tê-la como minha orientadora que com toda paciência e tranquilidade fez com que tudo parecesse mais fácil, muito obrigada por me acolher.

Minha gratidão aqui especial a todos os docentes e colaboradores do Departamento de PPG em Medicina Biofotônica assim como a equipe do Departamento do Biotério que passaram em minha vida durante a jornada de pesquisa, sempre com palavras de encorajamento, agregando conhecimento.

Agradeço a Universidade Nove de Julho, pela acolhida e a oportunidade concedida para a realização do meu Doutorado e por hoje fazer parte de nossas vidas.

E por fim agradeço aos meus pacientes pela compreensão, paciência e entender minha ausência muitas vezes durante os atendimentos clínicos.

RESUMO

A colite ulcerativa (CU) é uma doença crônica que afeta principalmente o intestino grosso, impactando significativamente a qualidade de vida. Os tratamentos farmacológicos para a CU são limitados além de desenvolverem muitos efeitos colaterais. A fotobiomodulação (FBM) surgiu como uma potencial opção de tratamento coadjuvante, que pode ser administrada localmente ou sistemicamente. O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos da FBM local e vascular em um modelo experimental de CU. Ratos Wistar machos foram submetidos à indução de CU e subsequentemente tratados ou não com FBM transcutânea local ou vascular. Os achados indicaram que a FBM local reduziu os escores histológicos intestinais e a atividade da MPO. Por outro lado, a FBM vascular transcutânea reduziu apenas a atividade intestinal da MPO. Tanto a FBM local como a vascular aumentaram a produção de muco e diminuíram a desgranulação de mastócitos. Além disso, ambas as modalidades modularam similarmente os níveis de TNF-alfa e IL-1 beta nos homogenatos de intestino. Entretanto, apenas FBM local afetou a expressão gênica de IL-6, TNF-alfa e IFN-gama no tecido intestinal. Em conclusão, comparando as duas modalidades de tratamento, podemos inferir que a FBM transcutânea local parece ser mais promissora do que a vascular para o tratamento da CU. Esses achados destacam o potencial da FBM local como tratamento coadjuvante da CU, uma vez que exerce efeitos benéficos em múltiplos aspectos da doença. Porém, mais pesquisas são necessárias para compreender completamente os mecanismos subjacentes aos efeitos observados e otimizar os parâmetros da FBM para o tratamento da CU.

Palavras-chave: Colite ulcerativa, Fotobiomodulação vascular transcutânea, ILIB, Citocinas, Doença intestinal

ABSTRACT

Ulcerative colitis (UC) is a chronic disease that primarily affects the large intestine, significantly impacting quality of life. Pharmacological treatments for UC are limited and often come with side effects. Photobiomodulation (PBM) has emerged as a potential adjunctive treatment option, which can be administered locally or systemically. The objective of this study was to compare the effects of local and vascular PBM in an experimental model of UC. Male Wistar rats were subjected to UC induction and subsequently treated or not with local or transcutaneous vascular PBM. The study evaluated myeloperoxidase enzyme activity (MPO), conducted histological analysis, assessed mast cell degranulation, and measured cytokine release. The findings indicated that local PBM reduced intestinal histological scores and MPO activity. Conversely, transcutaneous vascular PBM only reduced intestinal MPO activity. Both local and transcutaneous vascular PBM increased mucous production and decreased mast cell degranulation. Moreover, both modalities similarly modulated the levels of TNF-alpha and IL-1 beta in the intestinal homogenates. However, only local PBM affected the gene expression of IL-6, TNF-alpha, and IFN-gamma in the intestinal tissue. In conclusion, comparing the two treatment modalities, we can infer that local PBM appears to be more promising than transcutaneous vascular PBM for treating UC. These findings highlight the potential of local PBM as coadjuvant treatment for UC, as it exerts beneficial effects on multiple aspects of the disease. However, further research is needed to fully understand the mechanisms underlying the observed effects and to optimize the parameters of PBM for UC treatment.

KEY WORDS: Ulcerative colitis, Transcutaneous vascular photobiomodulation, ILIB, Cytokines, Bowel disease.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA: Análise de variância

ATP: Adenosina trifosfato

B: Basal

BOC: Bronquite Obstrutiva Crônica

C: Celsius

CAT: Catalase

Células B: Linfócito B

Celulas T: Células Tronco

CD4

CXCL1/KC: Ligante de Quimiocina 1/KC

COX: Ciclooxygenase

CW: Continuous Wave/ Onda contínua

CU: Colite Ulcerativa

DC: Doença de Choun

DNAse: Desoxiribonuclease

DSS: Dextran Sulfato de Sódio

DII: Doenças inflamatórias intestinais

ELISA: *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*/ Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

EPM: Erro Padrão da Média

EROs: Espécies reativas de Oxigênio

FBM: Fotobiomodulação

FBML: Fotobiomodulação Local

FBMV: Fotobiomodulação Vascular

FAO: Formas Ativas de Oxigênio

g: grama

GM-CSF: Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos-Macrófagos

GPX : Glutathione peroxidase

H₁: antihistamine H₁

He- Ne:Hélio Neonio

HLA

ID; Intradérmica

IgE: Imunoglobulinas E

IFN-γ: Interferon- gama

IL: Interleucinas

IL-1β: Interleucina 1 beta

IL-3:Interleucina 3

IL-4- Interleucina4

IL-5:Interleucina5

IL-6: Interleucina 6

IL-10: Interleucina 10

IL-13:Interleucina 13

IL-17 A: Interleucina 17 A

ILIB: *Intravascular Laser Irradiation of Blood/ Irradiação Intravascular do Sangue com Laser*

J: Joule

J/cm²: Joule por centímetro quadrado

Kg: Quilograma

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation/ Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação

LBA: Lavado Broncoalveolar

LED: Light Emitting Diode/ Diodo Emissor de Luz

LPS: Lipopolissacarídeo

LTB4: Leucotrieno B4

LTC4: Leucotrieno C4

LTD4: Leucotrieno D4

Ltd: Limitada

LTE4: Leucotrieno e4 LTB4

MBP: Proteína Básica Principal

MCP-4: Proteína Quimiotática de Monócitos-4

Mg: Miligrama

mL: mililitros

mm: milímetro

MHC II: Complexo Principal de Histocompatibilidade II

MOP: Metaloprotease

mUV/ VIS: luz na faixa do visível, do ultravioleta próximo e do infravermelho

mW: miliwatt

NAALT:

NaCl: Cloreto de Sódio

NF-kappa B: Factor Nuclear kappa *B*

nm: nanometro

OVA: Ovoalbumina

pH: Potencial Hidrogeniônico

PG2: Prostaglandina 2

PSA:

RCU: Retocolite Ulcerativa

RBL-2H3:mastócito RBL- 2H3

RL: Radicais Livres

RNA: Ácido Ribonucleico

RNAm: Ácido Ribonucleico Mensageiro

RNAse: *Ribonuclease*

SDRA: Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

SOD: Superóxido Dismutase

Th: Receptor de Células T

Th1: Células T auxiliares de tipo 1

Th2: T helper tipo 2

TLR4: Receptor do tipo Toll 4

TNF- α : Interferon- alfa

TSLP: Linfopoietina Estromal Timica

TXA2: Tromboxano A2

U: unidade

UI: Unidades Internacionais

UV-A: Ultravioleta A

UV-B: Ultravioleta B

μ l: milionésima parte do litro

Watt:

μ M: micrometro

W/cm²: watts por centímetro quadrado

1 β

Λ : lambda

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tratamento com FBM local e vascular no escore histopatológico e na MPO

Figura 2. Tratamento com FBM local e vascular na produção de muco.

Figura 3. Tratamento com FBM local e vascular na desgranulação de mastócitos.

Figura 4 Tratamento com FBM local e vascular na produção de citocinas

Figura 5: Tratamento com FBM local e vascular na expressão gênica de citocinas.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 Doenças inflamatórias intestinais..... | 16 |
| 1.2 Fotobiomodulação | 20 |
| 1.2.1 Fotobiomodulação transcutânea vascular..... | 23 |
| 1.2.2 Fotobiomodulação local | 25 |
| 2 JUSTIFICATIVA..... | 27 |
| 3 OBJETIVOS..... | 28 |
| 3.1 Objetivo Geral | 28 |
| 3.2 Objetivos Específicos..... | 28 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 29 |
| 4.1 Animais | 29 |
| 4.2 Grupos experimentais | 29 |
| 4.3 Delineamento experimental | 30 |
| 4.4 Modelo experimental de indução a Colite Ulcerativa | 30 |
| 4.5 Tratamento da Fotobiomodulação Vascular Local e Transcutânea | 31 |
| 4.6 Parâmetro dosimétricos fotobiomodulação | 32 |
| 4.7 Análises histológicas no intestino | 32 |
| 4.8 Quantificação da atividade da mieloperoxidase intestinal..... | 34 |
| 5 RESULTADOS | 36 |
| 5.1 FBM local abdominal reduziu os escores histológicos intestinais e a atividade da MPO, enquanto a FBM vascular transcutânea reduziu a atividade da MPO intestinal sem alterar as pontuações histológicas intestinais | 36 |
| 5.2 FBM transcutânea vascular e local aumenta a produção de muco no intestino | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 5.3 FBM transcutânea vascular e local diminui a desgranulação de mastócitos no intestino | 40 |
| 5.4 FBM transcutânea local e vascular modula similarmente TNF-alfa e IL-1 beta no tecido intestinal | 42 |
| 5.5 FBM vascular, mas não local, modula a expressão gênica de IL-6, TNF- α e IFN- γ no tecido intestinal | 44 |
| 6 DISCUSSÃO | 46 |
| 7 CONCLUSÃO | 50 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS | 51 |
| ANEXOS | 60 |
| Aprovação do Comitê de Ética..... | 60 |
| Artigos..... | 61 |
| Check list ARRIVE | 63 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças inflamatórias intestinais

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são um grupo de doenças crônicas, de causas variáveis que afetam o trato gastrointestinal, causando inflamação e danos a mucosa das paredes que revestem intestino, consideradas muitas vezes redicivantes, alternando a localização da patologia no órgão [1].

As causas exatas das DII não são totalmente compreendidas, mas acredita-se que seja resultado de uma interação complexa entre fatores intrínsecos e extrínsecos no indivíduo, estes fatores podem ser pré-disposição genética, ambientais, imunológicos e microbianos que acarreta o desequilíbrio na microbiota intestinal [2,3,4,1].

Ainda sobre a causa desconhecida das DII, estudos epidemiológicos consideram que a doença apresenta caráter multifatorial, sendo resultado da interação de fatores genéticos e imunológicos, associados a fatores ambientais como, por exemplo, ingesta alimentar inadequada, estresse psicológico e a utilização de fármacos anti-inflamatórios [5].

Estudos em camundongos demonstraram que fatores genéticos desempenham um papel crucial na suscetibilidade ao desenvolvimento de colite ulcerativa (CU). Entre esses fatores, as citocinas do tipo IL-10 têm sido identificadas como especialmente relevantes na causa da CU. Além disso, outra citocina importante na proteção da mucosa intestinal contra a inflamação é a IL-22, que pertence à família das citocinas IL-10 e inclui membros como a IL-19, IL-20, IL-24 e IL-26. A IL-22 é expressa por diferentes tipos de células do sistema imunológico inato, incluindo células dendríticas, células indutoras de tecido linfoide e células natural killers. As células da microbiota intestinal e linfócitos adaptativos também expressam IL-22. Essa citocina desempenha um papel essencial na produção de muco pelas células caliciformes, que são responsáveis por proteger a barreira de defesa e promover o reparo do epitélio da mucosa intestinal.[6]

Quanto ao diagnóstico, as manifestações dos sinais e sintomas são muitas vezes complexas devido as suas formas de apresentação, porém podem ser diagnosticadas com investigação da história clínica, exame físico, exames laboratoriais, de imagens (endoscopia, colonoscopia), biopsias e o extremo que são as cirurgias.

A epidemiologia das DII está atribuída a muitos fatores principalmente relacionada sociedade do mundo ocidental, considerando a incidência acelerada em países em maior ascensão ritmos industrializados, com classes econômicas mais elevadas, que adotam a “vida industrializada”, cuja população rural se desloca para os grandes centros, alterando seus hábitos o que sugere que os fatores ambientais influenciam no desencadeamento do início das doenças inflamatórias intestinais. [7]

A maior incidência está na população adulta jovem, na faixa etária 20-40 anos, raça branca, em ambos os sexos, podem manifestar-se nas formas mais graves, sendo em homens a prevalência da RCU, e nas mulheres a doença de Crohn (DC), estas doenças serão abordadas com mais detalhes no decorrer do texto. [8,9,10]

É importante mencionar que as DII tem também maior incidência em pessoas tabagistas e com parentesco de primeiro grau de outros indivíduos acometidos, com antígenos HLA-DR7 e HLA-DQ4, são moléculas de histocompatibilidade humana e desempenham um papel importante no sistema imunológico, por apresentar antígenos aos linfócitos T auxiliares CD4+ e desempenhar um papel crucial na ativação da resposta imune adaptativa [11,12].

Ainda sobre os hábitos de vida, uma revisão sistemática da literatura e uma metanálise revelaram que o padrão alimentar ocidental, caracterizado pelo consumo elevado de grãos refinados, carne vermelha e processada, proteína animal, gorduras animais ou laticínios com alto teor de gordura, e baixo consumo de frutas e vegetais (fibras), está associado a um aumento do risco de desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais [12].

Outra evidência epidemiológica importante está relacionada ao uso de forma acelerada de anti-inflamatórios não esteroidais, estes analgésicos mais comumente

prescritos para o tratamento de uma variedade de condições inflamatórias e a para recaída da DII. A recidiva clínica ocorre em cerca de 20% dos pacientes, o que pode ser resultado da inibição dupla das enzimas ciclooxygenases (COX) [13].

No Brasil, as doenças intestinais inflamatórias apresentam poucos estudos epidemiológicos, sabe-se que a sua incidência também vem aumentando consideravelmente [14]. Infelizmente as DII não são consideradas doenças de notificação compulsória, assim não há dados epidemiológicos exatos tornando difícil os registros de dados da população bem como da dificuldade de acesso às informações no sistema público de saúde, ainda que existam alguns dados publicados por serviços médicos e de ensino que mostraram o aumento das taxas de incidência da doença no país [15,16,17,18].

Mencionando as doenças mais prevalentes no cenário de doenças intestinais inflamatórias destacam-se: Doença de Crohn e colite ulcerativa [19].

Sabe -se que a Doença de Crohn(DC) é caracterizada por inflamação que pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal, desde a boca até o ânus, com envolvimento maior próximo ao cólon e perianal, caracterizando com fistulas (25%), granulomas (50%). Os sintomas da DC incluem dor abdominal, diarreia, perda de peso, fadiga e sangramento retal e envolvimento de todas as camadas da parede intestinal, comparando-se com o envolvimento limitado à mucosa da retocolite ulcerativa [2].

A colite ulcerativa(CU) é outra doença também crônica bastante comum com consequências significativas, afeta intestino grosso nas porções do cólon e o reto, causa inflamação superficial e contínua no revestimento interno do cólon, resultando em sintomas como diarreia com sangue, cólicas abdominais e urgências para evacuar, a inflamação gastrointestinal é grave e leva a sintomas debilitantes com perda acentuada de peso corporal, impactando significativamente na qualidade de vida do portador [20,21,22].

Fisiologicamente, a CU é caracterizada por inflamação repetitiva e contínua na camada mais superficial do revestimento interno do colón, conhecido como mucosa. Tal inflamação resulta na formação de úlceras, que são lesões abertas e dolorosas na mucosa intestinal. Outro efeito fisiológico significativo é o aumento da

produção de substâncias inflamatórias, como citocinas, como parte da resposta do sistema imunológico alterada/ desregulada no indivíduo.

A disfunção da barreira epitelial na DII resulta em aumento da permeabilidade intestinal e recrutamento de macrófagos, neutrófilos e linfócitos [23]. Essas células inflamatórias liberam várias citocinas, incluindo IL-6, IL-1beta, IFN-gama e TNF-alfa, que estimulam ainda mais o recrutamento de células imunes e aumentam a resposta inflamatória [24,25]. Embora existam mecanismos regulatórios envolvendo mediadores endógenos pró-resolução, os mecanismos anti-inflamatórios não são suficientes, levando a dano tecidual crônico [24].

Durante a CU, células inflamatórias, incluindo citocinas, leucócitos e macrófagos ativados, produzem quantidades significativas de EROs, ocorrendo não só o estresse oxidativo mas também a disbiose (desequilíbrio da microbiota intestinal) e lesões no intestino. Tal intercorrência pela diminuição da capacidade antioxidante celular, resulta na deterioração da barreira protetora intestinal [26]. No entanto, o organismo possui sistemas de defesa antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx), que protegem a mucosa intestinal e controlam a produção de estresse oxidativo (EROs) [27,28].

Ainda sobre o diagnóstico de DII, no quesito histologia é importante realizar análise histopatológica, a qual não apenas auxilia na confirmação do diagnóstico, mas também é útil para descartar outras causas possíveis, como infecções, seja por fungos, bactérias e microrganismos específicos (especialmente tuberculose intestinal) e até mesmo a hipótese de neoplasias. Ao exame histológico das DII, estas apresentam características distintas, principalmente nas alterações da mucosa em relação a morfologia e densidade dos tecidos, em células com características criptas, com alteração na celularidade da lâmina própria, como a presença de infiltração de células inflamatórias e plasmócitos na base, onde é comum identificar presença neoplasia epitelial. Ao contrário da CU, nas quais as alterações inflamatórias são geralmente contínuas e difusas, na DC elas são frequentemente focais e descontínuas. Deve-se considerar que a presença de granuloma epitelióide, composto por histiócitos ativados é um diferencial (marcador) no diagnóstico entre DC e CU [11,29,30].

Atualmente, os objetivos de tratamento da CU induzem a remissão da doença e previnem recidivas, estas estratégias são medicamentosas que incluem aminosalicílicos, corticosteroides, imunossupressores e terapias biológicas (probióticos), todos com o propósito de reduzir, amenizar a inflamação das paredes do trato intestinal. Outras tentativas como opção de tratamento, são o equilíbrio da flora gastrointestinal, dietas, suprimir o sistema imunológico, manejo do estresse, e em casos mais graves, tem-se a opção de realização de cirurgias, que resulta em alívio dos sintomas atuais, menor frequência de recidivas e melhor qualidade de vida [31,32, 30,33,34,35,36].

Ainda no cenário de DII, existe a categoria da Colite Não Classificável (CNC), onde o processo inflamatório limita-se ao cólon, sem comprometimento do intestino delgado, muitas vezes o diagnóstico é definido quando os resultados de exames específicos como endoscopia não forem conclusivos e não houver indícios de DC ou CU, a realização de biopsias são determinantes.

Assim, o estudo de novas terapias são necessárias para o controle das DII e principalmente para melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

A fotobiomodulação (FBM) surge como uma opção para tratamento para as DII, devido aos seus efeitos promissores em doenças com perfil inflamatório.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa realizou um estudo inovador demonstrando os efeitos benéficos do tratamento da FBM em um modelo experimental de colite em camundongos [25].

1.2 Fotobiomodulação

Entende-se que luz é uma forma de energia que se propaga através de ondas eletromagnéticas. Essas ondas podem ser classificadas em diferentes feixes de luz de acordo com seu comprimento de onda (λ), que é a distância percorrida por uma onda completa, medida em nanômetros (nm), no espectro eletromagnético. Essa classificação permite entender e distinguir os diferentes tipos de luzes com base em

sus características de onda, como ultravioleta, luz visível vermelha ou Luz não visível infravermelha.

O termo fotobiomodulação (conhecido como photobiomodulation - PBM) foi substituído pelo antigo termo "LLL", com as instituições científicas mundiais "North American Association for Light Therapy" (NAALT) e a "World Association for Laser Therapy" (WALT) em consensos distantes, definiram a terapia de fotobiomodulação (FBM/PBM) como terapia de fontes de luzes não ionizantes, como diodos laser ("laser diodes" - LD), diodos emissores de luz ("light-emitting diodes" - LEDs) , utilizando -se a nova nomenclatura pela comunidade científica [37].

Considerando a luz LED, fonte de estudo neste experimento, esta será abordada com mais detalhe, uma vez que é uma terapia de escolha no tratamento de diversas doenças de caráter inflamatório, atuando sobre as células, em mitocôndrias, na síntese de ATP, na produção de colágeno e elastina, com características anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana [37,38].

A fotobiomodulação é usada há mais de 20 anos na prática clínica como biomoduladora, uma vez que pode inibir ou estimular os processos biológicos, considerando o tipo de tecido alvo assim como os parâmetros dosimétricos (comprimento de onda, tempo de exposição, potência, irradiância, energia) e entre outros [39].

Quanto aos efeitos terapêuticos da FBM, são atribuídos ainda à capacidade da luz, nos comprimentos de onda principalmente vermelho ou infravermelho próximo, de modificar o metabolismo celular em consequência da absorção desta por fotorreceptores existentes nas células.

É uma terapia não invasiva, indicado para reduzir a dor, acelerar o processo cicatricial na regeneração tecidual (cicatrização de feridas), redução da inflamação uma vez que possui características modulatórias [40,41,42].

Em nível celular, já foi demonstrado em vários estudos, *in vitro* e *in vivo*, que a fotobiomodulação pelo laser estimula o fotorreceptor citocromo-C-oxidase, resultando no aumento do metabolismo e produção de energia, consequentemente aumentando o metabolismo oxidativo mitocondrial e iniciando uma cascata de reações celulares que modulam o comportamento biológico, a angiogênese,

macrófagos e linfócitos, assim como a proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno; a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos, entre outros, acelerando o processo de reparação tecidual e óssea [43].

Considerando os resultados terapêuticos satisfatório citados, a fotobiomodulação é uma terapia importante na regeneração tecidual na cicatrização de lesões tegumentares, como redução do processo inflamatório e analgesia, ocorrendo a imunomodulação, proporcionando efeitos positivos também na angiogênese [40,41,42].

O LED (Light Emitting Diode) é uma luz não colimado, não coerente e policromático que age por meio da sua atuação nos cromóforos. Os cromóforos são agrupamentos funcionais de moléculas atuantes na região ultravioleta e visível que permitem que as substâncias como, por exemplo, melanina e hemoglobina absorvam a luz visível e tenham sua ação ativada ou inibida. Vale ressaltar que esta luz tem se mostrado eficiente e possibilitou uma alternativa eficaz a luz LASER [44,45].

Existem mais de cinco tipos diferentes de LED disponíveis no mercado, com luzes e propriedades diferentes. Dentre eles, o LED vermelho com um comprimento de onda que varia de 630 a 700nm é conhecido por apresentar efeitos estimulantes na síntese de fibroblastos, promove circulação local, estimula a proliferação celular e aumenta a síntese de colágeno tipo I, elastina e ATP. Tudo isso faz com que o recurso apresente ação reparadora, cicatrizante e analgésica, se tornando um grande aliado no processo de reparo tecidual [46].

As vantagens dos LEDs incluem nenhuma consideração de segurança em relação à luz do laser, facilidade de uso doméstico, capacidade de irradiar uma grande área de tecido de uma vez, possibilidade de dispositivos vestíveis e custo muito mais baixo por mW [47,48].

Alguns estudos, inclusive do nosso grupo de pesquisas, sugerem que o tratamento com LED em determinadas doenças respiratórias reduziu o influxo de neutrófilos induzido por LPS, diminuiu os níveis de IL-1 β , TNF- α , IL-17 A e aumentou os níveis de IFN-gama no fluido do Lavado Broncoalveolar (LBA). Além disso, o

tratamento com LED pode aumentar os níveis de RNAm de IL-10 e IFN-gama, reduzir parcialmente o *burst* oxidativo elevado e contribuir para a menor migração de neutrófilos. Assim esses dados mostram, pela primeira vez, o efeito benéfico do tratamento com LED sobre a SDRA (Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo) induzida por sepse. Observa-se redução do infiltrado celular nos pulmões, muco, edema e da resposta contrátil da traqueia após tratamento com LED local. Tais efeitos foram modulados por IL-10, IFN-gama e por mastócitos. Ainda, com o modelo experimental de fibrose pulmonar, alguns estudos realizados recentemente, mostrou que a FBM com LED melhora os parâmetros inflamatórios e fibróticos apresentando-se como uma terapia promissora com baixo custo e ausente de efeitos colaterais. Também foi demonstrado que o tratamento com LED reduziu significativamente o número de células inflamatórias no espaço alveolar, produção de colágeno, espessamento intersticial e elastância pulmonar estática e dinâmica. Além disso, observamos níveis reduzidos de IL-6 e CXCL1/KC liberados por pneumócitos em cultura [48,50,47,49,51,52].

Ressaltamos que apesar da luz LED, ainda ser pouco pesquisada em relação ao LASER, nosso grupo de estudo, orientado e coordenado pela Profª. Dra. Adriana Lino dos Santos Franco no Programa de Pós- Graduação em Medicina Biofotônica na Universidade Nove de Julho, tem obtido resultados encorajadores, alguns já citados nas doenças respiratórias em estudos experimentais modelo animal com o uso da fonte ótica LED com foco na FBM, termo este utilizado no estudo tanto com entrega no Local (FBML) como também iniciamos pesquisas sobre os efeitos sistêmicos na FBM Vascular (FBMV), que será descrita com foco desse estudo.

1.2.1 Fotobiomodulação transcutânea vascular

Na sua forma original, a FBM com efeitos sistêmicos no organismo foi chamada de ILIB que significa “*Intravascular Laser Irradiation of Blood.*”, que significa Irradiação do Sangue Intravascular, sendo inicialmente realizada com

LASER de He-Ne, desenvolvido para tratamentos de patologias crônicas e agudas, o primeiro estudo com a FBM com irradiação intravascular foi originalmente desenvolvido para tratar doenças cardiovascular, a técnica era realizada com a introdução de um cateter intravenoso em um dos membros superiores, geralmente na artéria radial, através da aplicação do laser na forma Intravenosa, Meshalkin E.N e Sergievskiy V.S, 1981 por uma fibra óptica nas artérias, com a entrega da laserterapia vermelha (660nm). Aplicados de forma direta e contínua no local com distribuição do sangue irradiado, através da circulação, por todo o organismo. Preconizava-se 10 sessões iniciais, com irradiação de 20-60 minutos e de acordo com a evolução do quadro clínico. Após intervalo de 7 a 10 dias, iniciava-se uma nova série. [53]. Porém a desvantagem desta técnica, é que naquela época era considerada trabalhosa por ser uma técnica invasiva e dolorosa ao paciente, onde era necessário ter todo o material estéril e puncionar uma artéria que exigia treinamento específico, causando dor, desconforto ao paciente. Sendo assim, alguns estudos atuais sugerem que é possível alcançar um efeito semelhante ao da técnica original, sem manipulações intravenosas, portanto não invasivo [54,55,56,57]

Quanto a terapia fotobiomodulação vascular transcutânea (ILIB) apresenta - se limitada por ser uma terapia invasiva em modelos animais e clínicos restringindo sua aplicação. A técnica se apresenta como método não-invasivo e relativamente simples, de irradiação transcutânea no comprimento de onda 630nm de baixa intensidade na artéria radial em humanos, baseia-se na alta permeabilidade da pele e dos tecidos hipodérmicos, pode ser utilizado laser ou dispositivo de LED [54,58]. No entanto, em modelos animais a irradiação é realizada na cauda para mimetizar a irradiação humana. [57,54]

A partir da observação de estudos experimentais com FBM local (em pulmão, traqueia e outros) e de estudos clínicos tratados com método ILIB, pesquisas sobre o mecanismo envolvido foram intensificadas e evidencia o efeito antioxidante da laserterapia intravenosa com He-Ne, por aumento da produção da enzima Superóxido Dismutase (SOD) fundamental à quebra do mecanismo de formação de

Espécies Reativas derivadas do Oxigênio (EROs). A SOD protege os seres aeróbios contra toxicidade do radical superóxido promovendo um efeito neutralizante. [57]

Portanto, sugere-se que FBMV (ILIB) é um método que auxilia no cenário de combater ao estresse oxidativo por produzir uma alteração no potencial redox celular. A modulação do estado redox celular pode ativar ou inibir diversas vias de sinalização tais como síntese de ácidos nucleicos, síntese proteica, ativação enzimática e progressão do ciclo celular. [59,60,61,62,63,54]

1.2.2 Fotobiomodulação local

Considerando a importância da FBM no tratamento de doenças crônicas e agudas de cunho inflamatório, estudos tem sido conduzido utilização da FBM para o tratamento de diversas doenças inflamatórias, incluindo as DII. O tratamento com a Luz LED (940 nm, 4 J/cm², 9,5mW) aplicado sobre o colón de camundongos após a indução da colite experimental induzida por ácido acético, mostrou por meio de dados macroscópicos, microscópicos e moleculares que o tratamento que atua no tecido das lesões decorrentes da instilação de ácido acético, uma vez que amenizou o edema local, reduziu o escore médio de lesão macroscópica, auxiliando no retorno do trânsito intestinal normal destes animais. A terapia também foi efetiva na contenção da degranulação de neutrófilos, uma vez que houve uma menor concentração de mieloperoxidase e reduziu a produção de IL-1β, TNF-α, e IL-6. [64]

Outro estudo demonstrou que o uso sulfato de sódio dextrano como agente indutor de colite experimental revelou que o tratamento com LED (660 nm 100 mW 5 J/cm²) teve efeitos positivos, como a redução da displasia/edema de criptas, dos infiltrados inflamatórios e úlceras, bem como do apoptose. Apresentou aumento a proliferação de células de criptas e promoveu a expressão da anexina A1 no epitélio danificado, preservação da organização da claudina-1 e alteração do perfil das citocinas para um estado mais anti-inflamatório [25]

Zigmond et al. 2014.[65] evidenciou que o tratamento de animais com colite induzida por DSS (Dextran Sulfato de Sódio) utilizando LASER em diferentes

comprimimentos de onda e doses de energia resultou em uma melhora significativa dos sintomas clínicos e a resposta inflamatória intestinal.

Como pode ser constatado, a escassez de estudos que investigam o papel da FBM no contexto de doenças inflamatórias intestinais são relevantes.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando que a colite ulcerativa é de caráter inflamatório, de causas multifatoriais com alterações sistêmicas e locais impactando diretamente na qualidade de vida do indivíduo, cujos tratamentos frequentemente resultam em falhas, faz-se necessário buscar novas estratégias terapêuticas que possam alcançar a remissão mais rápida e reduzir os custos.

Diante do contexto, do impacto da doença e baseado em resultados anteriores do nosso grupo, aqui pretendemos ampliar as análises com FBM local e compará-las aos efeitos do tratamento com FBM pela via transcutânea vascular, uma vez que esta via promove alterações sistêmicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Considerando que a CU é uma importante doença inflamatória intestinal e que a FBM é uma ferramenta de tratamento promissora, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da FBM transcutânea local e vascular em um modelo de colite ulcerativa em ratos.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar:

- Inflamação intestinal por meio da liberação e expressão gênica de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 beta, IL-6 e IL-4) e anti-inflamatórias (IL-10, IFN- gama) no tecido intestinal
- Atividade da enzima mieloperoxidase
- Determinação da desgranulação dos mastócitos
- Determinação de alterações morfológicas por histologia

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo experimental aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de julho (UNINOVE), aprovado e protocolado sob o CEUA nº 143720052, atentando se as Normas Éticas para Experimentação Animal e a legislação nacional atual sobre Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei Federal nº 11.794, de 9 de outubro de 2008), com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, sendo aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 21/06/2021. (Anexo I)

4.1 Animais

Foram utilizados 24 animais, ratos Wistar machos adultos com aproximadamente 80 dias de vida (~180g), adquiridos do Biotério da Universidade Nove de Julho e os mesmos foram mantidos no biotério de experimentação da mesma Universidade em sala com temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 hora, condições de umidade (50 – 60%). Eles tiveram acesso irrestrito a comida e água.

Os animais foram eutanasiados por dessangramento da aorta abdominal por excesso de anestésico (cetamina (300 mg/Kg e xilasina (30 mg/Kg).

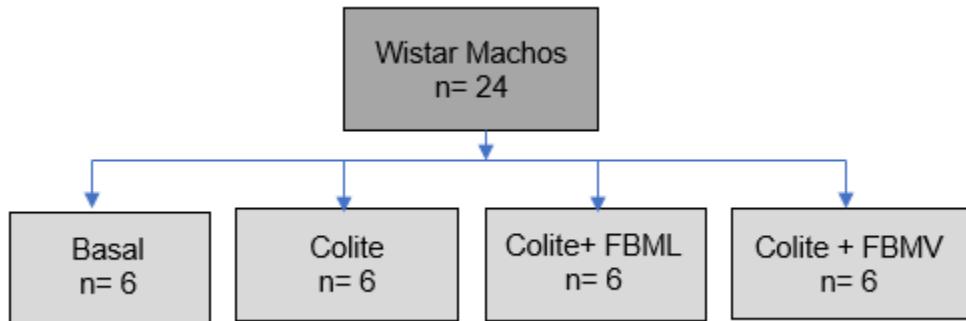
4.2 Grupos experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais:

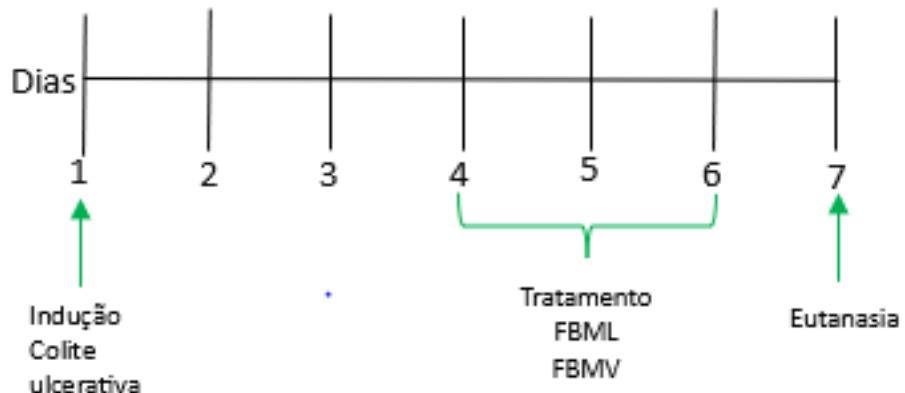
- **Grupo Basal (B):** consistiu de ratos controle, não manipulados.
- **Grupo Colite:** consistiu de ratos submetidos a colite.
- **Grupo FBML:** consistiu de ratos submetidos a colite e tratados com FBM local.

- **Grupo FBMV:** consistiu de ratos submetidos a colite e tratados com FBM na veia caudal.

Fluxograma Experimental:



4.3 Delineamento experimental



4.4 Modelo experimental de indução a Colite Ulcerativa

A colite foi induzida experimentalmente no dia 1 e o tratamento começou no dia 7 utilizando a metodologia previamente estabelecida Owusu et al. (39) e modificada pelo nosso grupo de estudo com base em nossas descobertas anteriores, agora expandimos nossos estudos usando um método diferente de modelo experimental, nomeadamente colite induzida por ácido acético em ratos [39]

e adaptado pela equipe da Prof.a Dra. Adriana Lino Santos. Para isso, uma sonda nasogástrica nº10 (adaptada) foi suavemente inserida (~6 cm) no reto de cada rato e, em seguida, uma injeção gradual de 1 ml de uma solução de ácido acético a 10% (v/v) foi administrada. Antes de remover o tubo, ele foi lavado com 1 ml de ar para garantir a distribuição uniforme do ácido por todo o cólon. O tubo foi então cuidadosamente removido para minimizar qualquer potencial desconforto ou trauma.

4.5 Tratamento da Fotobiomodulação Vascular Local e Transcutânea

Para a realização da FBM, foi utilizado o equipamento BioLambda LEDsab-BlackBox Mini, São Paulo, Brasil, para tratar os animais.

Os ratos foram submetidos ao tratamento FBM transcutâneo vascular e local. Para o tratamento FBM local, os animais receberam irradiação com LED vermelho em três pontos específicos: lados direito e esquerdo da superfície ventral e região anal externa. Em relação ao tratamento FBM vascular, os ratos foram irradiados pela pele na veia caudal. Para o grupo controle, foi simulado da mesma forma que os animais tratados com LED, porém com o dispositivo emissor de LED desligado com o propósito de padronizar o estresse de exposição entre os grupos. A duração do tratamento foram três dias consecutivos.

Os parâmetros de irradiação com LED foram baseados em estudos prévios e está na Tabela 1. Nota -se que a energia total fornecida pela FBM local(45J) foi maior que FBM vascular (15J)

4.6 Parâmetro dosimétricos fotobiomodulação

| | |
|----------------------------|----------------------------|
| Potência média | 100 mW |
| Área | 2,8 cm ² |
| Modo | Contínuo (CW) |
| Comprimento de onda | 660 ± 10nm |
| Total de Energia por ponto | 15J |
| Densidade de energia | 5,35 J/cm ² |
| Densidade de potência | 33,3 mW/cm ² |
| Tempo de irradiação/ponto | 150 s |
| Número de pontos | 3 Local FBM Local e 1 FBMV |
| Total de energia | 45J FBM Local; 15J FBMV |

Tabela 1 – Parâmetros dosimétricos



Figura 1- Aparelho BioLambda LEDsabre- BlackBox Min

4.7 Análises histológicas no intestino

Após o procedimento de eutanásia, que envolveu a secção da aorta abdominal sob anestesia profunda com injeção intraperitoneal de cetamina (100mg/kg) e xilagina (20mg/kg) como já descrito, o intestino grosso foi cuidadosamente extraído. Essas amostras foram então colocadas em solução

tamponada de paraformaldeído a 4% e transportadas para o laboratório de histologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Após serem preservadas no fixador por 24 horas, as amostras foram submetidas a um processo de desidratação utilizando soluções de etanol de concentração crescente, seguida de clarificação em xanol e inclusão em parafina. Posteriormente, as amostras incluídas em parafina foram seccionadas em cortes de 3 µm usando o micrótomo RM2125RT (Leica, EUA). Esses cortes foram montados em lâminas histológicas e submetidos à desparafinização e reidratação antes de serem submetidos aos procedimentos de coloração.

A coloração hematoxilina-eosina foi utilizada para análise histopatológica, a coloração com ácido periódico de Schiff (PAS) para análise mucosa e a coloração com azul de toluidina para análise de mastócitos.

O exame microscópico histopatológico das lâminas foi realizado com o microscópio AxioScope A1 (Carl Zeiss, Alemanha) e analisado com o software Zen (Carl Zeiss, Alemanha).

As avaliações histopatológicas foram realizadas com base no seguinte sistema de pontuação:

- 0 indicando ausência de dano;
- 1 indicativo de lesão focal da mucosa;
- 2 indicando lesão da mucosa com foco de infiltrado leucocitário;
- 3 indicando lesão mucosa grave com foco de infiltrado leucocitário;
- 4 indicando destruição completa da estrutura mucosa e intenso infiltrado leucocitário.

Quanto à coloração da PAS, foram consideradas as seguintes classificações de escores:

- 0 denotando ausência;
- 1 representando coloração fraca;
- 2 indicando coloração moderada;
- 3 indicando coloração intensa;
- 4, representando coloração muito intensa.

4.8 Quantificação da atividade da mieloperoxidase (MOP) intestinal

Os animais foram eutanasiados seccionando a aorta abdominal sob anestesia profunda com injeção intraperitoneal de quetamina (100 mg/kg **Dopalen®**) e xilazina (20 mg/kg **Xilazin®**). Após a eutanásia, o intestino foi cuidadosamente removido (cólon).

Fragmentos do cólon médio, medindo aproximadamente 1,0 cm foram pesados e então homogeneizados em tampão contendo EDTA/NaCl 5% (pH 4,7) e, em seguida, centrifugados a 10.000 rpm a 4 °C por 15 minutos.

Para determinar o nível de inflamação intestinal, a atividade da mieloperoxidase (MPO) foi quantificada, uma vez que esta enzima é considerada um biomarcador da presença de neutrófilos nos tecidos. A atividade da MPO foi analisada medindo-se sua capacidade de catalisar a oxidação da o-dianisidina na presença de peróxido de hidrogênio. As amostras (50 µl) foram incubadas por 15 minutos com H₂O₂ (0,1%) e o-dianisidina (1%). A reação foi interrompida pela adição de NaN₃ a 1%. A absorbância foi medida a 450 nm usando um leitor de microplacas (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, EUA).

Os resultados foram expressos como a média ± S.E.M. da densidade óptica (DO) normalizada pelo peso de cada amostra (DO./mg).

4.9 Quantificação de citocinas por método ELISA e qPCR em tempo real

Os níveis de citocinas (IL-4, IL-6, IL-1beta, TNF-alfa, IL-10 e IFN-gama) foram quantificados nos homogeneizados intestinais, o tecido removido foi padronizado em torno de 1cm e pesado.

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) foi utilizado para medir os níveis de citocinas seguindo as instruções do fabricante (BD® Biosciences, New Jersey, EUA). Os resultados foram relatados como picogramas de citocinas por mililitro (pg/mL) de tecido homogeneizado.

A expressão gênica de citocinas foi determinada pela transcrição reversa da cadeia da polimerase reação (RT-PCR). Utilizamos o ensaio Taqman RT-PCR

(Applied Biosystem Foster City, Califórnia, EUA) para as seguintes moléculas: IL-6 (Mm00446190_m1), IL-10 (Mm01288386_m1), TNF- α : (Mm00443258_m1), IL1 β (Mm00434228_m1) e HPRT (Mm00446968_m1). Software de detecção de sequência 1.9 (SDS, Applied Biosystem, Foster City, Califórnia, EUA) foi utilizado para análise e expressão de mRNA que foi normalizado para expressão de hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HPRT).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram avaliados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, que indicou que os dados eram paramétricos ($p>0,05$). Os resultados foram expressos em média \pm EPM (erro padrão da média).

Para comparar os grupos experimentais, foi realizada uma ANOVA (análise de variância) one-way, seguida do teste de Newman-Keuls de Student para comparações múltiplas utilizando o software GraphPad Prism, versão 5. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 FBM local abdominal reduziu os escores histológicos intestinais e a atividade da MPO, enquanto a FBM vascular transcutânea reduziu a atividade da MPO intestinal sem alterar as pontuações histológicas intestinais

A Figura 1, mostra que a análise histopatológica intestinal do grupo basal apresentou estruturas da mucosa, submucosa e musculatura em condições normais (Painéis A e E).

Por outro lado, houve migração de células inflamatórias para a mucosa e regiões submucosas nos grupos colite, colite-FBM e colite-VFBM quando comparados ao grupo controle (Painéis B, C, D e E).

Também observamos redução na migração de células inflamatórias no grupo colite-FBM quando comparado ao grupo colite (Painéis B, C e E), enquanto não foram observadas diferenças entre os grupos colite e colite-VFBM Painéis B, D e E).

No painel F podemos observar elevada atividade da MPO nos grupos colite, colite-FBM e colite-VFBM quando comparados aos grupos basais. Também observamos redução da atividade da MPO nos grupos colite-PBM e colite-VPBM quando comparados aos grupos colite.

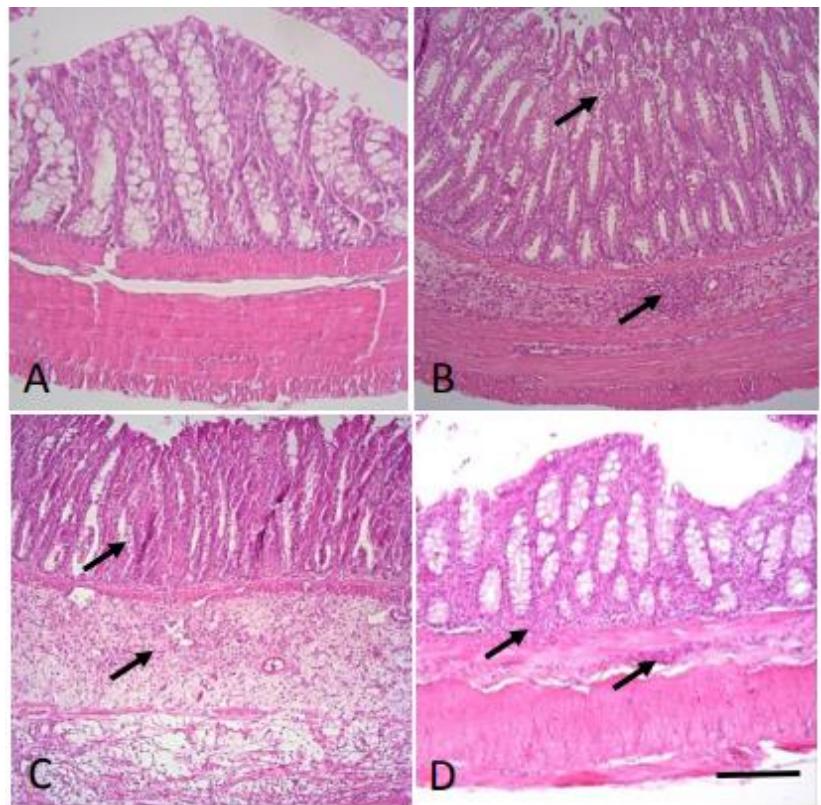


Figura 1. Tratamento com FBM local e vascular no escore histopatológico e na MPO.
 Grupo de ratos foram submetidos à indução de CU e tratados ou não com FBM local e vascular. No dia 7 a histologia intestinal e a enzima MPO foram avaliadas. Os dados representam a média ± SEM de 6 animais. *P < 0,05 em relação ao grupo B; ^θP < 0,05 em relação ao grupo Colite (one-way ANOVA).

5.2 FBM transcutânea vascular e local aumenta a produção de muco no intestino

A Figura 2, mostra a produção de muco pelas células caliciformes do intestino. Podemos observar elevada produção de muco em todos os grupos de estudo quando comparados ao grupo basal (Painéis A, B, C, D e E).

Observamos também aumento da produção de muco nos grupos colite-FBM e colite-FBM quando comparados ao grupo colite (Painéis B, C, D e E).

Além disso, podemos observar elevada produção de muco no grupo colite-VFBM quando comparado ao grupo colite-FBM (C, D, E).

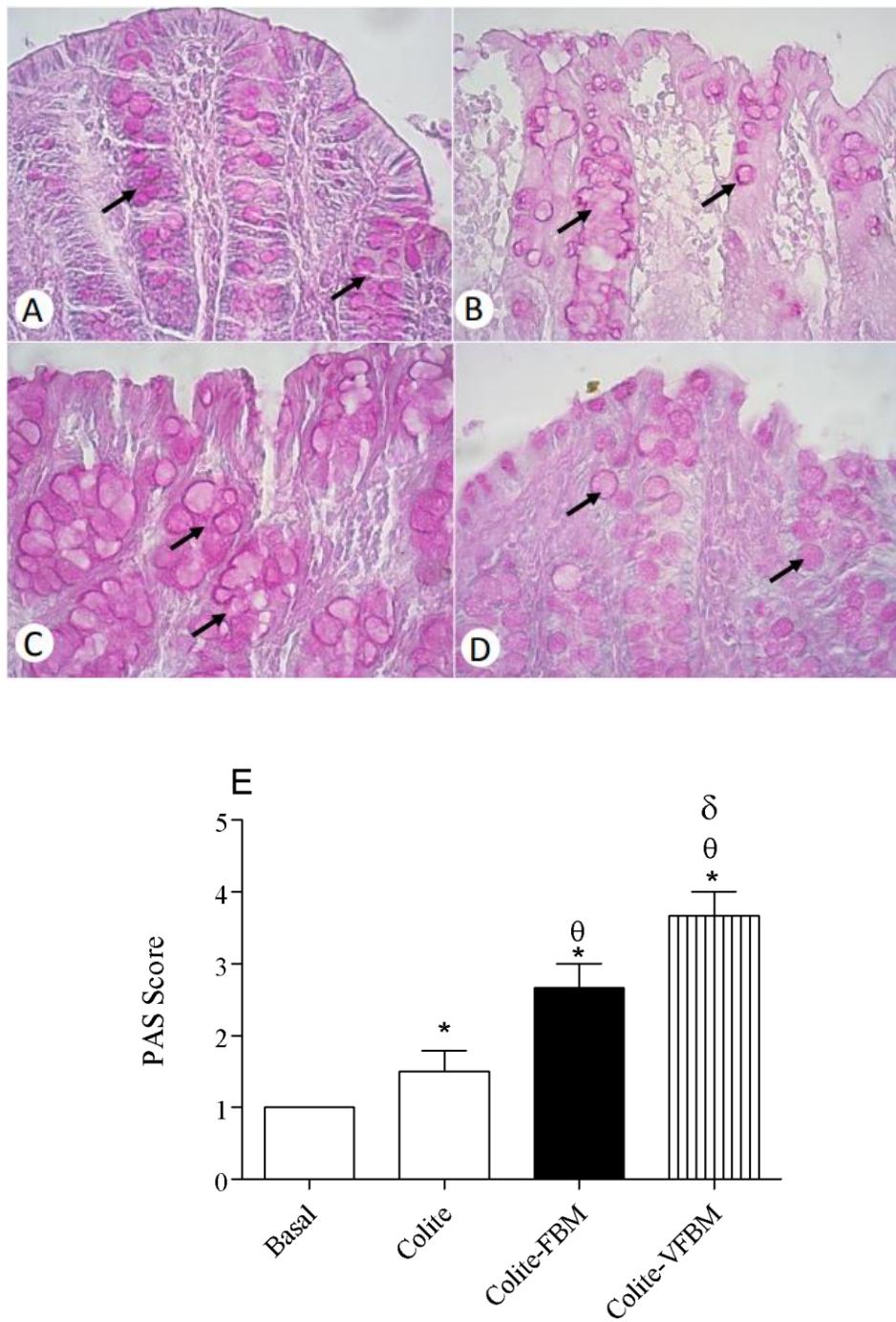


Figura 2. Tratamento com FBM local e vascular na produção de muco. Grupo de ratos foram submetidos à indução de CU e tratados ou não com FBM local e vascular. No dia 7 a produção de muco foi avaliada. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. *P < 0,05 em relação ao grupo B; ^θP < 0,05 em relação ao grupo Colite, ^δP<0,05 em relação ao colite-FBM (one-way ANOVA).

5.3 FBM transcutânea vascular e local diminui a desgranulação de mastócitos no intestino

A Figura 3, mostra mastócitos íntegros no grupo basal (Painéis A e E). Também foi demonstrada ativação de mastócitos com grânulos de extrusão nos grupos colite, colite-FBM e colite-VFBM quando comparados ao grupo basal (Painéis A, B, C, D e E).

Por outro lado, após o tratamento com a FBM local e vascular observa-se redução da degranulação dos mastócitos, com células intactas quando comparado ao grupo colite (Painéis B, C, D e E).

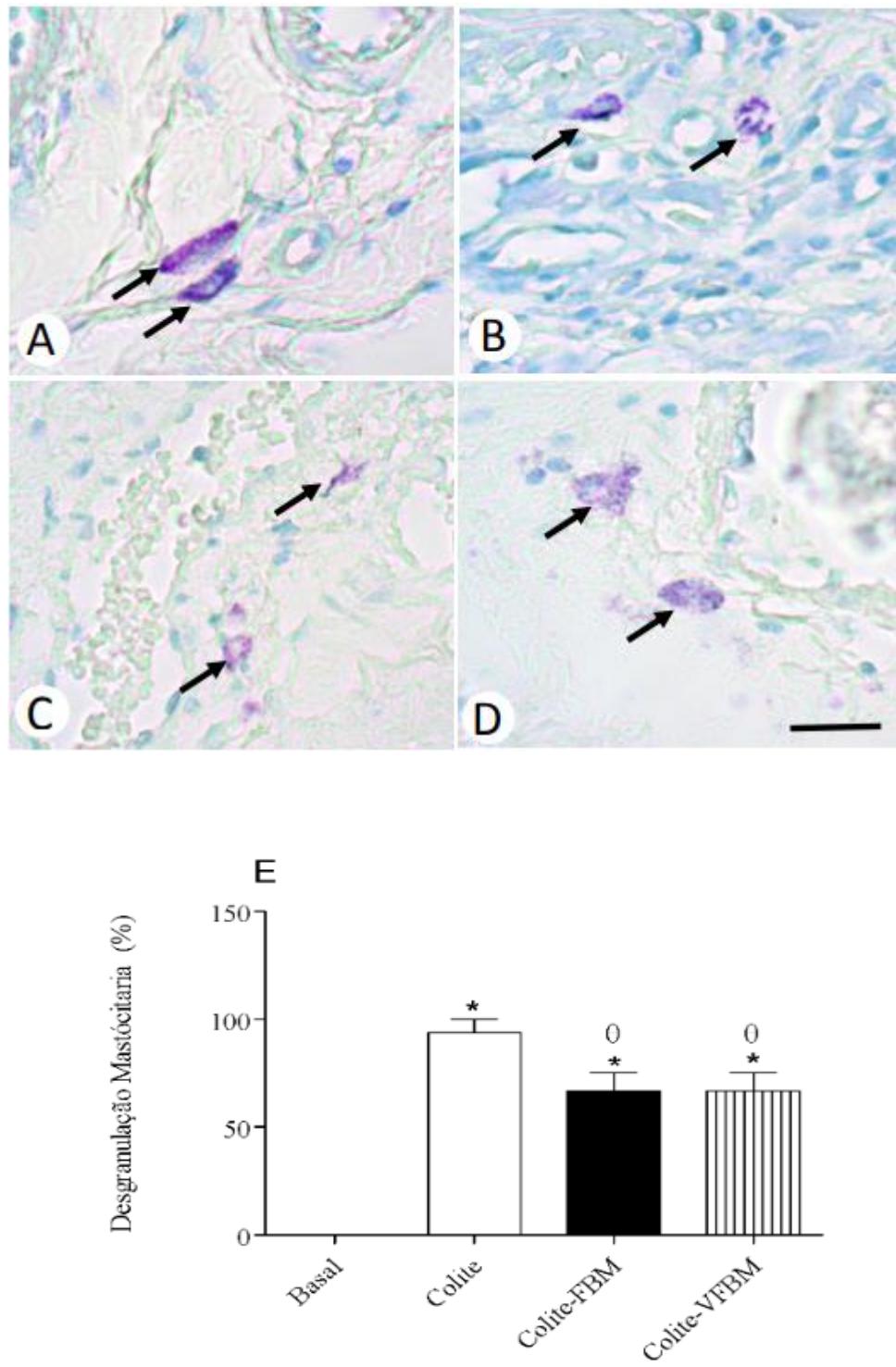


Figura 3. Tratamento com FBM local e vascular na desgranulação de mastócitos.
 Grupo de ratos foram submetidos à indução de CU e tratados ou não com FBM local e vascular. No dia 7 a produção de muco foi avaliada. Os dados representam a média ± SEM de 6 animais. *P < 0,05 em relação ao grupo B; ⁰P < 0,05 em relação ao grupo Colite (one-way ANOVA).

5.4 FBM transcutânea local e vascular modula similarmente TNF-alfa e IL-1 beta no tecido intestinal

A Figura 4, (Painel A) mostrou que os grupos colite e colite-VFBM aumentaram os níveis de IL-4 quando comparados ao grupo basal. Também mostramos níveis reduzidos de IL-4 no grupo colite-FBM quando comparado aos grupos colite e colite-VFBM.

No painel B podemos observar que os grupos colite, colite-FBM e colite-VFBM aumentaram os níveis de IL-6 quando comparados ao grupo basal. Por outro lado, observamos que o grupo colite-FBM apresentou nível reduzido de IL-6 quando comparado ao grupo colite.

No painel C mostramos níveis elevados de IL-1 beta em todos os grupos de estudo quando comparados ao grupo basal. Mostramos também que tanto o tratamento FBM vascular e local reduziram os níveis de IL-1 beta quando comparados ao grupo colite. Podemos observar no painel D que a colite aumentou os níveis de TNF- α quando comparada ao grupo basal e ambos os tratamentos com FBM diminuíram esses níveis.

No painel E podemos observar que todos os grupos de estudo apresentaram níveis reduzidos de IL-10 quando comparados ao grupo basal.

Finalmente, no painel F mostramos níveis elevados de IFN- γ em todos os grupos de estudo quando comparados ao grupo basal.

Observamos também que o tratamento local com FBM aumentou os níveis de IFN- γ enquanto o tratamento vascular transcutâneo não se alterou quando comparado ao grupo colite.

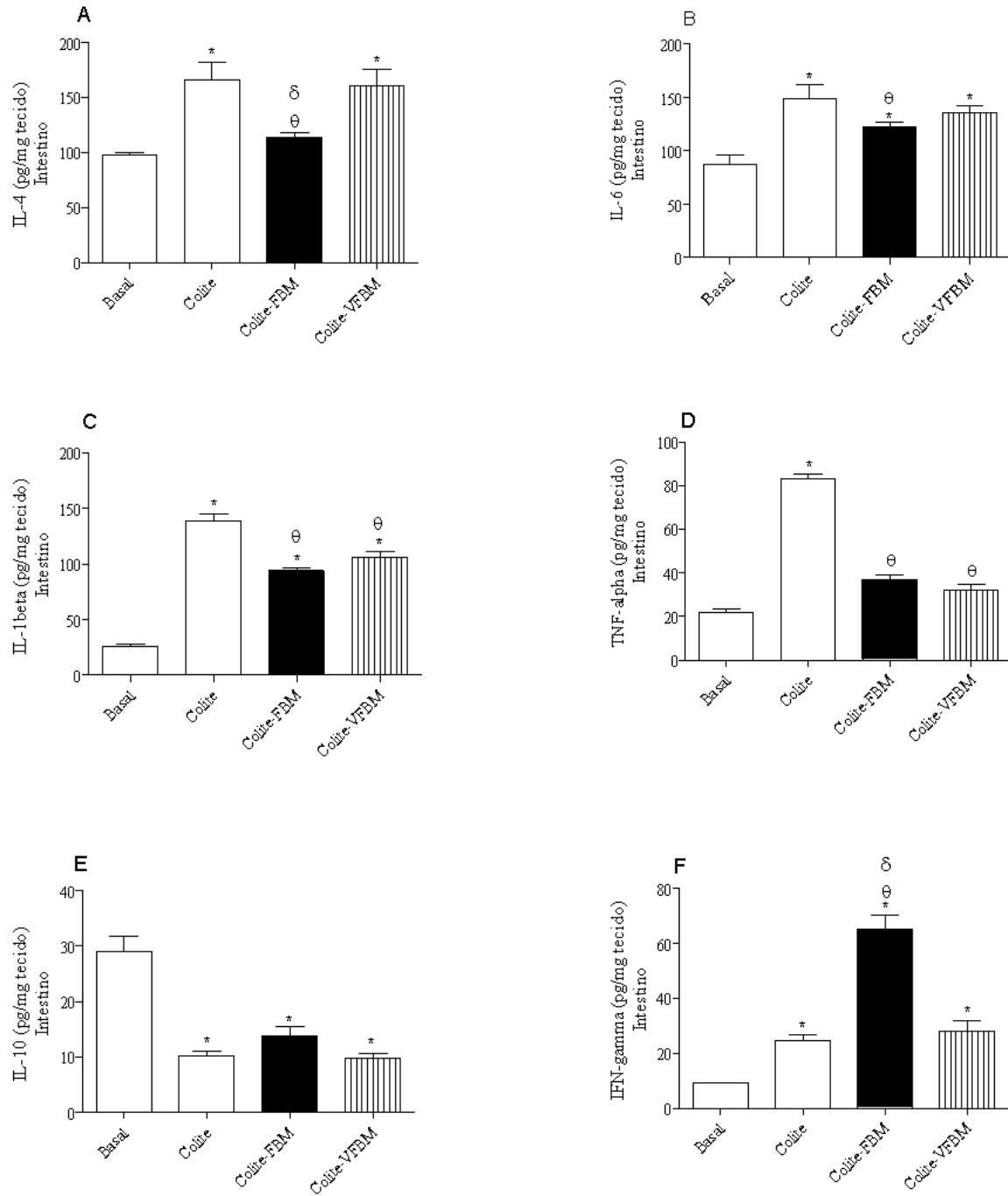


Figura 4: Tratamento com FBM local e vascular na produção de citocinas. Grupo de ratos foram submetidos à indução de CU e tratados ou não com FBM local e vascular. No dia 7 a produção de muco foi avaliada. Os dados representam a média ± SEM de 6 animais. *P < 0,05 em relação ao grupo B; ^θP < 0,05 em relação ao grupo Colite, ^δP < 0,05 em relação ao colite-FBM (one-way ANOVA).

5.5 FBM vascular, mas não local, modula a expressão gênica de IL-6, TNF- α e IFN- γ no tecido intestinal

A Figura 5, (Painel A) mostrou que não foram observadas diferenças na expressão gênica de IL-4 entre os grupos de estudo.

Nos painéis B, C e D mostramos expressão gênica elevada de IL-6, IL-1 β e TNF- α nos grupos colite e colite-VFBM quando comparados ao grupo basal. Por outro lado, mostramos expressão gênica reduzida dessas citocinas após tratamento FBML quando comparado ao grupo colite.

No painel E diminuição da expressão gênica de IL-10 em todos os grupos de estudo quando comparados ao grupo basal. Por outro lado, expressão gênica elevada de IFN- γ foi observada em todos os grupos de estudo, e o tratamento FBML aumentou esse gene quando comparado ao grupo colite (Painel F).

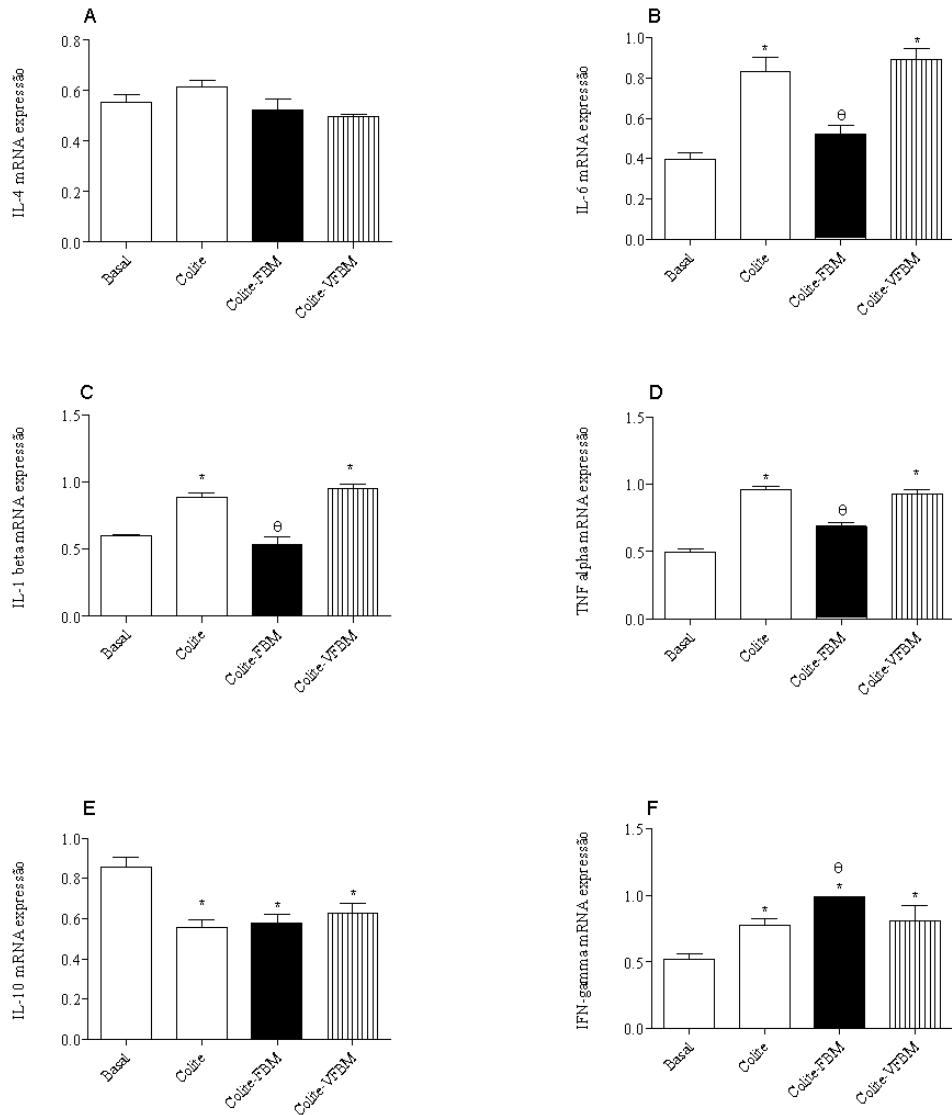


Figura 5: Tratamento com FBM local e vascular na expressão gênica de citocinas.
 Grupo de ratos foram submetidos à indução de CU e tratados ou não com FBM local e vascular. No dia 7 a produção de muco foi avaliada. Os dados representam a média ± SEM de 6 animais. *P < 0,05 em relação ao grupo B; ^θP < 0,05 em relação ao grupo Colite (one-way ANOVA).

6 DISCUSSÃO

Reconhecemos que a CU é uma importante doença inflamatória crônica caracterizada por inflamação gastrointestinal acentuada, que resulta em sintomas debilitantes [25,29].

Os tratamentos atualmente disponíveis para a CU oferecem apenas alívio paliativo [29]. Neste estudo, foram investigados os efeitos do tratamento FBM local e vascular usando um modelo experimental de CU em ratos induzida por ácido acético no intestino, na região do cólon.

Nossos resultados indicam que o tratamento da FBM local é mais promissor do que a FBM vascular transcutânea para o tratamento da CU nos parâmetros dosimétricos empregados nesse estudo.

A administração de ácido acético neste modelo experimental replica as características da CU ao desencadear a síntese de citocinas inflamatórias, incluindo IL-1beta, IL-4, IL-6, TNF-alfa e IFN-gama. Esse processo leva à dilatação e espessamento das paredes do cólon devido ao grave dano epitelial causado pelo aumento do infiltrado inflamatório. Além disso, a exposição ao ácido acético reduz a produção de muco e remodelamento do tecido conectivo da mucosa e da submucosa, modulando os biomarcadores de estresse oxidativo [66].

Estudos prévios do nosso grupo avaliaram o uso da fotobiomodulação no tratamento de doenças inflamatórias intestinais utilizando um modelo experimental de colite ulcerativa induzida por dexatrina acrescida na água dos camundongos [25]. No entanto, naquele estudo, a fotobiomodulação foi realizada localmente, por meio da irradiação na região gastrointestinal pelo contato com a pele.

No presente estudo, optou-se por estender os parâmetros avaliados, bem como investigar a via vascular transcutânea da FBM, pois já havíamos demonstrado os efeitos benéficos do tratamento vascular transcutâneo na veia caudal em modelos animais de lesão pulmonar aguda e asma. [68;57,78]

O método de irradiação vascular transcutânea aqui empregado foi baseado em pesquisas anteriores que sugeriram efeitos semelhantes entre a técnica intravenosa original e a via transcutânea, utilizando os mesmos parâmetros

dosimétricos [69,70]. Esses estudos demonstraram que a irradiação transcutânea exibiu alta permeabilidade através da pele e tecidos hipodérmicos. Vale ressaltar que, em modelos animais, a irradiação sistêmica é tipicamente conduzida através da cauda do animal para simular a irradiação da artéria radial observada em humanos [57,54,75].

Pesquisas têm sido conduzidas pelo nosso grupo para melhor compreender as respostas fisiológicas associadas às diferentes vias de tratamento com luz. Ao comparar vários métodos de administração, recentemente publicamos uma revisão da literatura sobre a eficácia do ILIB para tratar doenças pulmonares em animais e humanos, [75].

Esses estudos contribuem para o avanço do conhecimento na área e ajudam a orientar o desenvolvimento de abordagens terapêuticas eficazes utilizando o tratamento com luz.

No presente estudo revelou que o tratamento local com FBM reduziu efetivamente o escore histopatológico e a atividade da mieloperoxidase (MPO), sugerindo indicando uma redução na migração de neutrófilos para o intestino. Por outro lado, o tratamento FBM vascular transcutâneo reduziu especificamente a atividade da MPO, sem alterar o escore histológico no intestino.

Esse achado sugere que, embora ambas as abordagens tenham diminuído a atividade da MPO, que é um biomarcador de neutrófilos, apenas o tratamento local com FBM foi capaz de atenuar as alterações histológicas associadas à migração de células inflamatórias para a mucosa e submucosa.

As hipóteses plausíveis para as discrepâncias observadas nos efeitos dos tratamentos FBM vascular transcutâneo e FBM local sobre as alterações histológicas poderiam primeiramente estar relacionadas as diferentes respostas celulares dentro do intestino e a segunda hipótese diz respeito às diferentes doses totais de luz entregue por cada rota, ou seja, 45 J por PBM local e 15 J por VFBM. Vale ressaltar que estes valores foram usados porque já havíamos empregado esses parâmetros em estudos animais anteriores [57,75].

É possível que, enquanto tratamento FBM vascular transcutâneo reduziu efetivamente a migração de neutrófilos, os macrófagos e linfócitos podem ter

permanecidos elevados na parede intestinal. Isso poderia explicar por que as alterações histológicas associadas à migração de células inflamatórias à mucosa e submucosa, só foram reduzidos pelo tratamento local com FBM.

Mais investigações são necessárias para elucidar as respostas e mecanismos celulares específicos e subjacentes aos efeitos diferenciais das duas modalidades de tratamento e explorar mais a ampla faixa de doses totais de energia. A compreensão destes fatores podem fornecer informações valiosas para otimizar intervenções terapêuticas direcionadas as populações celulares específicas envolvidas em processos inflamatórios.

Neste experimento, avaliamos a produção de muco no intestino e verificamos que tanto o tratamento local quanto o vascular transcutâneo tiveram efeitos fisiológicos semelhantes. A camada de muco no intestino tem propriedades hidrofóbicas e surfactantes que contribuem para a retenção de secreções de glândulas mucosas. Desempenha um papel crucial na proteção da mucosa intestinal, prevenindo a adesão de microrganismos e bactérias luminais, facilitando sua destruição e ou eliminação [71]. Ambos os tratamentos aumentaram a produção de muco mostrando os importantes efeitos protetores da FBM, considerando que a camada de muco desempenha um papel protetor na mucosa intestinal.

Os mastócitos desempenham um papel crítico na mucosa intestinal e estão envolvidos em vários processos biológicos [72,76]. São importantes mediadores do eixo cérebro-intestino, conectando a mucosa intestinal com o tecido nervoso periférico, [73]. Além disso, os mastócitos liberam várias citocinas, incluindo IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10 e TNF-alfa, que podem ter efeitos significativos na mucosa intestinal [25].

Em nosso estudo, observamos uma redução da degranulação mastocitária após tratamento com FBM local e vascular.

Esse achado sugere que a terapia com FBM tem o potencial de modular a atividade dos mastócitos e subsequente liberação de citocinas, destacando seu potencial como abordagem terapêutica para influenciar a mucosa intestinal reduzindo os sintomas da UC.

Considerando a importância do papel das citocinas no universo da fisiologia intestinal porque afetam a defesa e a manutenção da integridade da mucosa intestinal, os resultados deste estudo apontaram algumas diferenças significativas entre os tratamentos podem ser atribuídas às citocinas. A IL-6 é uma molécula-chave que contribui para a infiltração de neutrófilos e apoptose celular na UC [71], 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, [77].

Em nosso estudo, observamos que o tratamento local com FBM levou à diminuição dos níveis de IL-6 e IL-4 no intestino. Entretanto, o tratamento vascular transcutâneo não teve efeito significativo sobre essas citocinas. Em contraste, tanto o tratamento vascular local quanto o transcutâneo resultaram em níveis reduzidos de TNF- α e IL-1beta, que são conhecidos por desempenhar papéis como facilitadores e mediadores da inflamação. Essas citocinas estão envolvidas em processos como hipervascularização, angiogênese e estimulação de outras citocinas pró-inflamatórias e de células T [25].

Finalmente, quantificamos os níveis expressão de RNAm para de IL-10 e IFN-gama. Nossos resultados revelaram que o tratamento local com FBM aumentou o nível de IFN-gama, enquanto os níveis de IL-10 permaneceram inalterados. A IL-10 é conhecida como uma citocina anti-inflamatória, enquanto o IFN-gama desempenha um papel na resolução da CU por promover a polarização de macrófagos anti-inflamatórios [74]. O aumento observado nos níveis de IFN-gama após o tratamento local com FBM sugere um potencial efeito benéfico.

Esses achados sugerem que o tratamento local com PBM exerce seus efeitos sobre a produção de citocinas, modulando a expressão gênica, levando a uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias e um aumento de uma citocina anti-inflamatória.

7 CONCLUSÃO

Concluindo, o nosso estudo comparou duas modalidades de tratamento, FBM transcutânea vascular e local, sugerindo que a FBM local é mais promissora para o tratamento da CU.

No entanto, uma limitação do nosso estudo observado é que as doses totais de energia foram diferentes para as duas rotas de entrega (45 J vs 15 J). Estudos adicionais usando uma gama mais ampla de doses de energia são necessárias para tirar conclusões firmes.

Esses achados destacam o potencial da FBM local como tratamento adjuvante da CU, uma vez que exerce efeitos benéficos em vários aspectos da doença, incluindo inflamação, dano tecidual e resposta imune.

No entanto, mais pesquisas são necessárias para compreender completamente os mecanismos subjacentes aos efeitos observados e otimizar os parâmetros da FBM para o tratamento da CU.

Sendo assim, nossos resultados apoiam a noção de que o FBM local é promissor como uma abordagem terapêutica para melhorar o manejo e os resultados da CU.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1-. Venegas DP, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G Harmsen HJM, Faber KN, Hermoso MA. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. March 2019. *Front Immunol.* 2019; 10, Article 277:1-16.
- 2- Wilhelm S, Love B. Management of patients with inflammatory bowel disease: current and future treatments. *Clin Pharm.* 2017;9(3).
- 3- Dovrolis N, Filidou E, Kolios G. Systems biology in inflammatory bowel diseases: on the way to precision medicine. *Ann Gastroenterol.* 2019; 32(3): 233–46.
- 4- Sugihara K, Morhardt TL, Kamada N. The Role of Dietary Nutrients in Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Immunology.* 2019; 9 article 3183:1-16.
- 5- Neurath MF, Leppkes M, editors. Resolution of ulcerative colitis. Seminars in Immunopathology; 2019: Springer.
- 6- Neurath MF, Leppkes M, editors. Resolution of ulcerative colitis. Seminars in Immunopathology; 2019: Springer.
- 7- Kaplan G, Ng SC. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol.* 2017; 152:313-21.
- 8- Ferreira GS, Deus MHA, Antonacci Junior E. Fisiopatologia e etiologias das doenças inflamatórias intestinais: uma revisão sistemática de literatura. *Brazilian Journal Health Review* 2021; 4(4):1-8.
- 9- Silva GSS, Gonçalves PVP, Bessa CA, Silva JLR, Vilaça JLL. Doença inflamatória intestinal: representação epidemiológica de internações e óbitos no Distrito Federal da doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa. *Brazilian Journal Health Review* 2022;5(2):5428-38.

- 10 - Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet.* 2017; 390(10114):2769-2777.
- 11- Palmiro LP, Andrade JS, Sousa KMM, Dias AGN, Andrade MN, Almeida NP et al. Aspectos sociodemográficos em pacientes com doenças inflamatórias intestinais em um centro de referência em Salvador- BA. *Brazilian Journal of Development* 2021;7(3):32503-13.
- 12- 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.
- 13- Kvasnovsky. C.L., AUJLA, U. & BJARNASON, I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and exacerbations of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol,* pp.1–9, 2014.
- 14- Quaresma, A. B., Kaplan, G., & Kotze, P. (2019). The globalization of inflammatory bowel disease: The incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Brazil. *Current Opinion in Gastroenterology,* 35(4), 259–264.
- 15- Souza R G M, Gomes A C, Prado C M M, Mota J F. Métodos de análise da composição corporal em adultos obesos. *Rev Nutr.* 2014; 27(5):569-583.
- 16- Victoria CR, Sasaki LY, Nunes HRC. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in Midwestern of São Paulo state, Brazil *Arq Gastroenterol.* 2009; 46 (1):20-24.
- 17- Parente JML, Coy CSR, Campelo V, Parente MPPD, Costa LAC, Silva RM, Stephan C, Zeitune JMR. Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(4):1197-1206.

- 18- Martins AL, Volpato RA, Zago-Gomes MP. The prevalence and phenotype in Brazilian patients with inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* 2018; 18(87):17.
- 19- Vedamurthy A, Ananthakrishnan AN. Influence of Environmental Factors in the Development and Outcomes of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol.* 2019; 2(15):72-82.
- 20-. S.M. Wilhelm, B.L. Love, Manejo de pacientes com doença inflamatória intestinal: tratamentos atuais e futuros, *Clin. 9 (3) (2017) 1–24*, <https://doi.org/10.1211/CP.2017.20202316>
- 21- 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. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research.* 2019.
- 22-. Ghosh S, Mitchell R. Impacto da doença inflamatória intestinal na qualidade de vida: Resultados da pesquisa de pacientes da Federação Europeia de Crohn e Associações de Colite Ulcerativa (EFCCA). *Colite de J Crohn.* 2007 Set;1(1):10-20
- 23- Luissint AC, Parkos CA, Nusrat A. Inflamação e a Barreira Intestinal: Interações Leucócito-Células Epiteliais, Remodelamento da Junção Celular e Reparo da Mucosa. *Gastroenterologia,* 2016;151(4):616-32.
- 24-. Cavalcante RMS, Moura MSBd, Braz DC, Nogueira NdN. Ulcerative colitis and cytokines: a literature review. *RSD* 2020;9:e314997145
- 25- De 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. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2020; 212:112018
- 26- Rana, S.V. et al. Relationship of cytokines, oxidative stress, and GI motility with bacterial overgrowth in ulcerative colitis patients. *Journal of Crohn's and Colitis,* 8(8), pp.859–865, 2014.

- 27- Hellou, J., ROSS, N. W., MOON, T. W.. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. *Environ Sci Pollut Res*, v. 19: p. 2007–2023, 2012.
- 28- Pereira, C. et al. DNA Damage and Oxidative DNA Damage in Inflammatory Bowel Disease. *J. Crohn's Colitis*, 2016.
- 29- Langan RC, Gotsch PB, Krafczyk MA, Skillinge DD. Ulcerative colitis: diagnosis and treatment. *American family physician*. 2007;76(9):1323-30.
- 30- 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.
- 31-. Kaplan GG, Bernstein CN, Coward S, Bitton A, Murthy SK, Nguyen GC, et al. The impact of inflammatory bowel disease in Canada 2018: epidemiology. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*. 2019;2(Supplement_1):S6-S16
- 32- Scribano ML, Prantera C. Antibióticos e doenças inflamatórias intestinais. 2013;31(3-4):379-84.
- 33- Souza FG, Prete ACL, Ribeiro CHMA. Adesão ao tratamento farmacológico em pacientes com doenças inflamatórias intestinais: uma revisão integrativa da literatura. *Rev. Eletrônica Acervo Saúde* 2021;13(2): e4601.
- 34- Silva MT, Leite FMM, Santiago FVP, Albuquerque IGS, Brito APSO, Garcia HCR. Diagnóstico e tratamento da síndrome do intestino irritável: revisão sistemática. *Pará Research Medical Journal* 2020;4: e41.
- 35- Torres J, Mehandru S, Colombel J, Peyrin-Biroulet L. Crohns disease. *Lancet* 2017; 389(10080): 1741-55.
- 36- Zaltman C, Amarante H, Brenner MM, Costa MHM, Flores C, Leal R F et al. Doença de Chron - tratamento com medicamentos biológicos. *Rev. Associação Médica Brasileira Online*, 2019; 65(4):554-67.

- 37- Mester A, Mester A. The history of photobiomodulation: Endre Mester (1903–1984). *Photomed Laser Surg.* 2017;35(8):393-4.
- 38- 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.
- 39- Owusu G et al. Acetic acid-induced ulcerative colitis in sprague dawley rats is suppressed by hydroethanolic extract of cordia vignei leaves through reduced serum levels of tnf- α and il6. *Int J Chronic Dis.* 2020:8785497.
- 40 - os Santos Malavazzi TC, Fernandes KPS, Lopez TCC, Rodrigues MFSD, Horliana ACRT, Bussadori SK, et al. Effects of the invasive and non-invasive systemic photobiomodulation using low-level laser in experimental models: A systematic review. *Lasers in Medical Science.* 2023;38(1):137.
- 41- Mouffron V, Furlan RMM, Motta AR. Immediate effects of photobiomodulation on maximum lip pressure. *CoDAS* 2022;34(2):e20210024.
- 42- Salehpour F, Mahmoudi J, Kamari F, Sadigh-Eteghad S, Rasta SH, Hambline MR. Brain Photobiomodulation therapy: a narrative review. *Mol Neurobiol.* 2018;55(8):6601-36.
- 43- Pinheiro ALB, Soares LGP, Cangussú MCT, et al. Effects of LED phototherapy on bone defects grafted with MTA, bone morphogenetic proteins and guided bone regeneration: a Raman spectroscopic study. *Lasers Med Sci.* 2012; 27:903-16
- 44- MOURA, R. O. et al. Efeitos da luz emitida por diodos (LED) e dos compostos de quitosana na cicatrização de feridas: revisão sistemática. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*, Teresina, v. 35, n. 4, p. 513-518, 2014.
- 45- DE PAULA, S. Comparação do laser e do led no processo de cicatrização em feridas cutâneas: uma revisão. *Ciência & Saúde*, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 55-61, 2016.

- 46- ALBERTO, T. et al. Efeitos Do Diodo Emissor De Luz (Led) Vermelho a Estimulação De Fibroblastos: Ênfase Na Reparação Tecidual. Revista Científica Intellectus, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 94–105, 2016.
- 47- Dall MA, Dall A, Nicolau RA, De Lima CJ, Munin E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci.* 2009; 24(6): 909-16.
- 48- Heiskanen V, Hamblin MR. Photobiomodulation: lasers vs. light emitting diodes? *Photochem Photobiol Sci.* 2018 Aug 8;17(8):1003-1017.
- 49- Siqueira V.P.C, Evangelista M.I.S, Dos Santos A, Rodrigo M.L, Oliveira A.P.L, Pavani C, Damazo A.S, Lino Dos-Santos-Franco A. O tratamento com diodo emissor de luz melhora a inflamação pulmonar alérgica em modelo experimental de asma induzida por ovalbumina. *J Biofotônica.* 2017; 10(12): 1683-1693: 10.1002/jbio.201600247. EPub 2017 Abr 18.
- 50- Da-Palma-Cruz, Marlon., Lino-dos-Santos-Franco, Adriana., et al. A fotobiomodulação modula a resolução da inflamação durante a lesão pulmonar aguda induzida por sepse. *Lasers em Ciências Médicas* 2018; 34: 191: 199
- 51- Costa SG, Barioni ÉD, Ignacio A, Albuquerque J, Câmara NOS, Pavani C, et al. Beneficial effects of Red Light-Emitting Diode treatment in experimental model of acute lung injury induced by sepsis. *Sci Rep.* 2017; 7(1):12670.
- 52 - Brochetti RA, Leal MP, Rodrigues R, Da Palma RK, De Oliveira LVF, Horliana ACRT, et al. Photobiomodulation therapy improves both inflammatory and fibrotic parameters in experimental model of lung fibrosis in mice. *Lasers Med Sci.* 2017; 32(8):1825-34.
- 53- Mikhaylov VA. The use of Intravenous Laser Blood Irradiation (ILBI) at 630-640 nm to prevent vascular diseases and to increase life expectancy. *Laser Therapy.* 2015; 24 (1): 15-26.

- 54- Tomimura S, Silva BP, Sanches IC, Canal M, Consolim-Colombo F, Conti FF, De Angelis K, Chavantes MC (2014) Efeito hemodinâmico da laserterapia em ratos espontaneamente hipertensos. Arq Bras Cardiol 103(2):161–164
- 55- Yamaikina I, Malashevich P, Volkova E, Kovkova A, Pashkevich O, Podol'tsev A. Direct rheological, cytometric, and cardiological effect of intravenous laser irradiation of blood. Journal of Engineering Physics and Thermophysics. 2008;81(6):1207-13.
- 56- Timoshenko TE, Dvoretskiĭ DP. The effect of low-intensity red and infrared laser radiation on the rat arterial and deoxygenated blood. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. 2010;t;96(10):998-1004
- 57- Da Silva JGF, Dos Santos SS, de Almeida P, Marcos RL, Lino Dos-Santos-Franco A. Effect of systemic photobiomodulation in the course of acute lung injury in rats. Lasers in medical science. 2021; 36:965-73.
- 58- Domínguez A, Velásquez SA, David MA. Can transdermal photobiomodulation help us at the time of COVID-19? Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery. 2020;38(5):258- 9
- 59- Gasparyan L. Laser Irradiation of the blood. Laser Partner - Clinixperience - All Volumes. 2003:1-4.
- 60- Laakso E-L, Hona TWPT, Gabrielli Vassão P, Griffin A. Effect of transcutaneous radial artery photobiomodulation on continuous measures of interstitial glucose in a single subject: a brief report. Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery. 2021;39(10):637-41.
- 61- Chen AC-H, Arany PR, Huang YY, Tomkinson EM, Saleem T, Yull FE, et al. Low-Level Laser Therapy activates NF- κ B via generation of reactive oxygen species in mouse blasts. PloS One. 2011; 6(7): e.22453.
- 62- Lopez TCC, Malavazzi TCdS, Rodrigues MFSD, Bach EE, Silva DT, Hi EMB, et al. Histological and biochemical effects of preventive and therapeutic vascular

photobiomodulation on rat muscle injury. Journal of Biophotonics. 2022;15(5):e202100271.

63- Zhang J, Xing D, Gao X. Low-power laser irradiation activates Src tyrosine kinase through reactive oxygen species-mediated signaling pathway. *J Cell Physiol*. 2008; 217 (2): 518-28.

64- 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.

65- 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.

66- Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Modelos experimentais de doenças inflamatórias intestinais. *Célula Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015; 1;1(2):154-170.

67-. Raine T, Bonovas S, Burisch J, Kucharzik T, Adamina M, Annese V, et al. ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: medical treatment. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(1):2-17.

68- Tomé R.F.F et al., ILIB (irradiação intravascular do sangue a laser) como terapia adjuvante no tratamento de pacientes com doenças crônicas sistêmicas - revisão integrativa da literatura. *Lasers Med Sci*.2020;35(9):1899-1907.

69- Sarycheva TG, Tsybzhitova EB, Popova OV, Aleksandrov OV (2009) Morfometria e mobilidade eletroforética do sangue vermelho 1108 Lasers em Ciências Médicas (2022) 37:1101–1109.

70- Lusupalieva MM, Shatrov AAGT (1996) Irradiação intravenosa do sangue na fase de tratamento de pacientes com asma brônquica. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 5:9–12

- 71-Capaldo CT, Powell DN, Kalman D. Layered defense: how mucus and tight junctions seal the intestinal barrier. *Journal of Molecular Medicine*. 2017; 95:927-34.
- 72-. Ji Y, Sakata Y, Yang Q, Li X, Xu M, Yoder S, Langhans W, Tso P. Ativação de mastócitos da mucosa intestinal de ratos por absorção de gordura. *Sou J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012 Jun 1;302(11): G1292-300.
- 73- Lopes Silva JC, Campos S Évelin DC, Santana MLC de, Costa A dos S, Francelino JO. Microbiota intestinal e sistema nervoso central: explorando o eixo cérebro-intestino. *Rev Neurociência [Internet]*. 2022.
- 74- Cao L, Xu H, Wang G, Liu M, Tian D, Yuan Z. Extracellular vesicles derived from bone marrow mesenchymal stem cells attenuate dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis by promoting M2 macrophage polarization. *International immunopharmacology*. 2019; 72:264-74.
- 75- Schapochnik A, Alonso PT, de Souza V, Rodrigues V, Quintela K, Cruz MdP, et al. Intravascular laser irradiation of blood (ILIB) used to treat lung diseases: a short critical review. *Lasers in Medical Science*. 2023;38(1):93
- 76- Albert-Bayo M, Paracuellos I, González-Castro AM, Rodríguez-Urrutia A, RodríguezLagunas MJ, Alonso-Cotoner C, et al. Intestinal mucosal mast cells: key modulators of barrier function and homeostasis. *Cells*. 2019;8(2):135.
- 77-Roda G, Marocchi M, Sartini A, Roda E. Cytokine networks in ulcerative colitis. *Ulcers*. 2011; 2011:1-5.
- 78- Alonso PT, Schapochnik A, Klein S, Brochetti R, Damazo AS, de Souza Setubal Destro MF, et al. Transcutaneous systemic photobiomodulation reduced lung inflammation in experimental model of asthma by altering the mast cell degranulation and interleukin 10 level. *Lasers in Medical Science*. 2022;37(2):1101-9

8 ANEXOS

Aprovação do Comitê de Ética



*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "O PAPEL DA FOTOBIMODULAÇÃO NA COLITE EXPERIMENTAL: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÉMEAS", protocolada sob o CEUA nº 1437200522 (ID: 000010), 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 Heterogenous rats (males and females), protocol number CEUA 1437200522 (ID: 000010), 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 | Sexo: | Machos e Fêmeas | Idade: | 60 a 100 semanas | N: | 36 |
| Espécie: | Ratos heterogênicos | | | Peso: | 180 a 200 g | | |
| Linhagem: | Wistar | | | | | | |

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-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho

Artigos

Artigos publicados

PubMed

Advanced Create alert Create RSS

Search

User Guide

Found 1 result for 302746/2020-0/cnpq[Grants and Funding]

Save Email Send to Display options

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

Comparison between local abdominal and transcutaneous tail vein photobiomodulation in experimental rat model of ulcerative colitis

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

Affiliations + expand

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

FULL TEXT LINKS

SpringerLink FULL-TEXT ARTICLE

ACTIONS

Cite

Collections

SHARE

PubMed

Advanced Create alert Create RSS

Search

User Guide

Found 1 result for 36964849

Save Email Send to Display options

Review > Lasers Med Sci. 2023 Mar 25;38(1):93. doi: 10.1007/s10103-023-03750-0.

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

Adriana Schapochnik ¹, Paula Tatiane Alonso ¹, Vanessa de Souza ¹, Virginia Rodrigues ¹, Kelly Quintela ¹, Marlon da Palma Cruz ¹, Caroline Marcantonio Ferreira ², Rebeca Boltes Cecatto ¹, Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues ¹, Michael R Hamblin ³, Adriana Lino-Dos-Santos-Franco ⁴

Affiliations + expand

PMID: 36964849 PMCID: PMC10039675 DOI: 10.1007/s10103-023-03750-0

Free PMC article

FULL TEXT LINKS

SpringerLink FULL-TEXT ARTICLE

Full text PMC

ACTIONS

Cite

Collections

Artigo aceito para publicação:

Lasers in Medical Science
**Effects of Photobiomodulation in the experimental acetic acid-induced colitis:
 comparision between male and female**
 --Manuscript Draft--

| | |
|--|---|
| Manuscript Number: | LIMS-D-23-00182 |
| Full Title: | Effects of Photobiomodulation in the experimental acetic acid-induced colitis: comparision between male and female |
| Article Type: | Original Article |
| Keywords: | Colitis; Photobiomodulation; Sexual dimorphism; Cytokines; Mucus Production; Mast cells |
| Corresponding Author: | Adriana Lino-dos-Santos-Franco, PhD Universidade Nove de Julho - Campus Vergueiro São Paulo, BRAZIL |
| Order of Authors: | Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt Adriana schapochnik Vanessa de Souza Virginia Mendes Matias Rodrigues Marlon da-Palma-Cruz Amilcar Sabino Damazo Caroline Marcantonio Ferreirac Rebeca Boltes Cecattoa Maria Fernanda de Souza Setubal Destro Adriana Lino-dos-Santos-Franco, PhD |
| Corresponding Author Secondary Information: | |
| Corresponding Author's Institution: | Universidade Nove de Julho - Campus Vergueiro |

Artigo submetido a Revista

Lasers in Medical Science
**Repercussion of inflammatory bowel disease on lung homeostasis: The role of
 photobiomodulation**
 --Manuscript Draft--

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

Check list ARRIVE**CHECK LIST ARRIVE**

| | ITEM | |
|--|-------------|---|
| TÍTULO | 1 | Página 1 |
| RESUMO | 2 | Página 5 |
| INTRODUÇÃO | 3 | Páginas 14 - 24 |
| MATERIAIS E METODOS | 5 | Páginas 17 - 29 |
| DESENHO DO ESTUDO ANIMAIS | 6 | Página 28 |
| PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS | | Páginas 32-33 |
| | | Páginas 28-29 |
| CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/ EXCLUSÃO | 7 | Animais que foram a óbitos durante o período de realização do protocolo, foram excluídos. |
| RANDOMIZAÇÃO | 8 | Alocação aleatória de animais nos determinados grupos. |
| CEGAMENTO | 8 | Sem cegamento. |
| MÉTODOS ESTÁTISTICOS | 10 | Página 27 |

