



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

MARLON DA PALMA CRUZ

EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO LOCAL E SISTÊMICA
SOBRE A INFLAMAÇÃO NA LESÃO PULMONAR AGUDA
INDUZIDA POR LPS

SÃO PAULO, SP

2025



MARLON DA PALMA CRUZ

**EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO LOCAL E SISTÊMICA
SOBRE A INFLAMAÇÃO NA LESÃO PULMONAR AGUDA
INDUZIDA POR LPS**

**Tese de doutorado apresentada à Universidade
Nove de Julho, para obtenção do título de Doutor
em Medicina - Biofotônica.
Orientador(a): Prof. (a) Ana Paula Ligeiro de Oliveira**

SÃO PAULO, SP

2025

Cruz, Marlon da Palma.

Efeitos da fotobiomodulação local e sistêmica sobre a inflamação na lesão pulmonar aguda induzida por LPS. / Marlon da Palma Cruz. 2025.

83 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2025.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Ana Paula Ligeiro de Oliveira.

1. Lesão pulmonar aguda. 2. Terapia com fotobiomodulação. 3. Lipopolissacarídeo. 4. Inflamação. 5. Modulação imunológica. 6. Citocinas.

I. Oliveira, Ana Paula Ligeiro de.

II. Título.

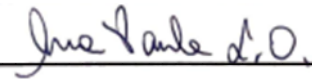
São Paulo, 18 de dezembro de 2025.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Marlon da Palma Cruz

Título da Tese: “Efeitos da fotobiomodulação local e sistêmica sobre a inflamação na lesão pulmonar aguda induzida por LPS”.

Presidente: PROF^a. DR^a. ANA PAULA LIGEIRO DE OLIVEIRA



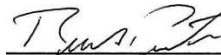
Membro: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS



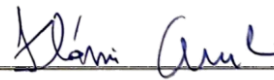
Membro: PROF. DR. HUMBERTO DELLE



Membro: PROF. DR. RENATO ARAUJO PRATES



Membro: PROF. DR. FLAVIO AIMBIRE SOARES DE CARVALHO



FINANCIAMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) – programa de bolsas para a formação do pesquisador e com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – processo: 88887.818189/2023-00.

DEDICATÓRIA

À memória da minha querida avó, Antônia Tavares, que sempre me chamou de “meu doutor” muito antes de qualquer título existir no papel.

Vó, este trabalho é para você.

Mesmo não estando mais aqui desde março para ver a minha formatura, foi o seu carinho, a sua fé em mim e o orgulho nos seus olhos que me deram força para chegar até aqui. Cada página desta tese carrega um pouco do amor, dos conselhos e dos sonhos que compartilhamos.

Onde quer que a senhora esteja, espero que se orgulhe do seu “doutor”. Este doutorado é nosso.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por ter sustentado cada passo desta caminhada ao longo desses quatro anos. Pela força nos momentos de cansaço, pelo consolo nos dias difíceis e por me permitir chegar até aqui, mesmo quando eu duvidei de mim.

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Ana Paula Ligeiro de Oliveira, deixo minha profunda gratidão. Obrigado por me acolher quando minha antiga orientadora deixou o programa, por ter acreditado em mim em um momento de incertezas e por me oferecer orientação firme, paciente e generosa. Sua confiança, suas correções, seus conselhos científicos e pessoais foram fundamentais para a construção deste trabalho e para o meu crescimento como pesquisador e como pessoa.

Às minhas amigas e parceiras de laboratório Tawany Gonçalves, Cintia Estefano, Keilla Soares, Kelly Gomes e Bibiana de Menezes, meu muito obrigado. Sem a ajuda, a dedicação e a amizade de vocês, a realização dos experimentos teria sido impossível. Cada coleta, cada dia longo de bancada e cada momento de desespero compartilhado fizeram toda a diferença. Levo comigo não só os resultados deste estudo, mas também o carinho e as memórias que construímos juntos.

À minha família, pela força incondicional e pelo apoio nos períodos mais delicados, especialmente durante as crises de ansiedade. Obrigado pela paciência, pelo amor, pela compreensão e por nunca deixarem que eu desistisse, mesmo quando tudo parecia pesado demais.

Por fim, agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Medicina – Biofotônica Universidade Nove de Julho pela oportunidade de realização deste doutorado, pela estrutura oferecida, pela formação acadêmica e científica e por todo o suporte ao longo dessa jornada.

RESUMO

A lesão pulmonar aguda (LPA) é uma condição inflamatória grave caracterizada pelo acúmulo de células inflamatórias e aumento da permeabilidade da barreira alvéolo-capilar, frequentemente associada à sepse e ao desenvolvimento da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). A terapia com fotobiomodulação (TFBM) destaca-se como alternativa não farmacológica, de baixo custo e sem efeitos adversos conhecidos, com reconhecida ação anti-inflamatória e moduladora da resposta imune. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da TFBM local e sistêmica sobre a resposta inflamatória em modelo experimental de LPA induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos C57BL/6. A inflamação foi induzida por instilação orotraqueal de LPS (10 µg/animal), e o tratamento iniciou-se 1 hora após, com três aplicações a intervalos de 1 hora. Utilizou-se laser vermelho (660 nm, 30 mW, 60 s/ponto, 60 J/cm²) aplicado na região torácica (TFBM local), na artéria caudal (TFBM sistêmica) ou de forma combinada. Setenta e duas horas após a indução, foram analisadas amostras do lavado broncoalveolar (LBA), sangue periférico e lavado femoral para contagem celular total e avaliação de citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-17A, TNF- α , CXCL1 e IL-10). O grupo LPS apresentou aumento significativo da celularidade no LBA e leucocitose periférica, acompanhados de redução da celularidade medular. Todos os protocolos de TFBM reduziram a infiltração celular pulmonar, restauraram a celularidade femoral e normalizaram os níveis de leucócitos circulantes. No LBA, a TFBM atenuou os níveis de IL-6, TNF- α e CXCL1 em todos os protocolos, enquanto IL-17A e IL-10 foram aumentadas preferencialmente pelas modalidades sistêmica e combinada. Na medula, observou-se redução dos níveis de IL-6 em todos os grupos tratados e diminuição de IL-17A e IL-1 β principalmente no protocolo combinado, ao passo que, no soro, apenas a IL-6 foi parcialmente revertida pelo tratamento combinado. Esses achados indicam que, em 72 horas, a TFBM principalmente nas modalidades sistêmica e combinada são capazes de modular de forma integrada a celularidade inflamatória e eixos de citocinas nos compartimentos pulmonar e hematopoiético, reforçando seu potencial como terapia adjuvante, segura e não invasiva para o controle da inflamação pulmonar aguda e a regulação do equilíbrio imunológico.

Palavras-chave: Lesão Pulmonar Aguda; Terapia com Fotobiomodulação; Lipopolissacarídeo; Inflamação; Modulação imunológica; Citocinas.

ABSTRACT

Acute lung injury (ALI) is a severe inflammatory condition characterized by the accumulation of inflammatory cells and increased permeability of the alveolar–capillary barrier, frequently associated with sepsis and the development of acute respiratory distress syndrome (ARDS). Photobiomodulation therapy (PBMT) stands out as a non-pharmacological, low-cost approach with no known adverse effects, with well-recognized anti-inflammatory and immunomodulatory actions. This study aimed to evaluate the effects of local and systemic PBMT on the inflammatory response in an experimental model of LPS-induced ALI in C57BL/6 mice. Inflammation was induced by orotracheal instillation of LPS (10 µg/animal), and treatment began 1 hour later, with three applications at 1-hour intervals. A red laser (660 nm, 30 mW, 60 s/point, 60 J/cm²) was applied to the thoracic region (local PBMT), to the tail artery (systemic PBMT), or in a combined manner. Seventy-two hours after induction, bronchoalveolar lavage fluid (BALF), peripheral blood, and femoral lavage samples were analyzed for total cell counts and cytokine assessment (IL-1 β , IL-6, IL-17A, TNF- α , CXCL1, and IL-10). The LPS group showed a significant increase in BALF cellularity and peripheral leukocytosis, accompanied by reduced bone marrow cellularity. All PBMT protocols reduced pulmonary cell infiltration, restored femoral cellularity, and normalized circulating leukocyte levels. In BALF, PBMT attenuated IL-6, TNF- α , and CXCL1 levels across all protocols, whereas IL-17A and IL-10 were preferentially increased by the systemic and combined modalities. In bone marrow, IL-6 levels were reduced in all treated groups, and IL-17A and IL-1 β were decreased mainly in the combined protocol, while in serum only IL-6 was partially reversed by the combined treatment. These findings indicate that at 72 hours PBMT particularly the systemic and combined modalities can integratively modulate inflammatory cellularity and cytokine axes in pulmonary and hematopoietic compartments, reinforcing its potential as a safe, non-invasive adjuvant therapy for controlling acute pulmonary inflammation and regulating immune homeostasis.

Keywords: Acute lung injury; Photobiomodulation Therapy; Lipopolysaccharide; Inflammation; Immunomodulation; Cytokines.

DESTAQUES

Proposta inovadora:

- O estudo investigou, um modelo experimental da fase intermediária da lesão pulmonar aguda induzida por LPS, os efeitos comparativos da Terapia com fotobiomodulação aplicada por vias local, sistêmica e combinada, explorando o eixo medula–sangue–pulmão como um sistema integrado de resposta inflamatória.

Abordagem multicompartimental:

- A pesquisa avaliou simultaneamente a celularidade do lavado broncoalveolar, sangue periférico e medula óssea, permitindo compreender de forma inédita como a inflamação pulmonar afeta a celularidade nos diferentes compartimentos.

Evidência de modulação imunológica sistêmica:

- Os resultados demonstraram que a fotobiomodulação não atua apenas no local da inflamação, mas também restaura a homeostase hematopoiética e reduz a leucocitose periférica, evidenciando um efeito imunomodulador sistêmico coordenado.

Modelo experimental robusto e reprodutível:

- A indução da LPA por instilação orotraqueal de LPS reproduziu de forma controlada e confiável os eventos celulares e moleculares da Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo, consolidando o modelo como plataforma experimental para avaliação terapêutica.

Potencial translacional e terapêutico:

- Os achados reforçam a fotobiomodulação como terapia adjuvante, não invasiva e de baixo custo, com potencial aplicação clínica no manejo de doenças inflamatórias pulmonares agudas, incluindo quadros relacionados à Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo.

HIGHLIGHTS

Innovative proposal:

- The study investigated, in an experimental model of the intermediate phase of LPS-induced acute lung injury, the comparative effects of photobiomodulation therapy delivered via local, systemic, and combined routes, exploring the bone marrow–blood–lung axis as an integrated inflammatory response system.

Multicompartmental approach:

- The research simultaneously evaluated the cellularity of bronchoalveolar lavage, peripheral blood, and bone marrow, providing an unprecedented understanding of how pulmonary inflammation affects cellularity across different compartments.

Evidence of systemic immunomodulation:

- The results demonstrated that photobiomodulation acts not only at the site of inflammation but also restores hematopoietic homeostasis and reduces peripheral leukocytosis, revealing a coordinated systemic immunomodulatory effect.

Robust and reproducible experimental model:

- The induction of ALI by orotracheal instillation of LPS reliably reproduced the cellular and molecular events characteristic of acute respiratory distress syndrome (ARDS), consolidating the model as a robust platform for therapeutic evaluation.

Translational and therapeutic potential:

- The findings reinforce photobiomodulation as an adjuvant, noninvasive, and low-cost therapy with potential clinical application in the management of acute and inflammatory lung diseases, including conditions related to Acute Respiratory Distress Syndrome.

RESUMO PARA LEIGOS

A lesão pulmonar aguda é uma inflamação grave nos pulmões que pode surgir em situações como infecções respiratórias, inalação de substâncias tóxicas ou complicações durante internações hospitalares. Nessa condição, os pulmões ficam cheios de células inflamatórias e líquido, dificultando a respiração e a troca de oxigênio. Neste estudo, foram usados camundongos para entender melhor como a fotobiomodulação uma técnica que utiliza luz de baixa intensidade (laser vermelho) pode ajudar o organismo a controlar essa inflamação. Essa luz não causa dor nem aquece o tecido, mas estimula as células a trabalharem melhor, ajudando o corpo a se recuperar. Os animais receberam uma substância chamada LPS, que provoca inflamação nos pulmões de forma semelhante ao que ocorre em doenças respiratórias em humanos. Depois, eles foram tratados com o laser de duas formas: diretamente sobre a região dos pulmões (aplicação local) e sobre a artéria da cauda (aplicação sistêmica), que espalha os efeitos por todo o corpo. Os resultados mostraram que o tratamento com luz diminuiu a inflamação nos pulmões, ajudou a equilibrar as células do sangue e da medula óssea e reduziu os sinais de resposta inflamatória exagerada. Isso significa que a terapia com fotobiomodulação ajudou o corpo a controlar melhor a inflamação e a restaurar o equilíbrio do sistema imunológico. Essas descobertas indicam que a fotobiomodulação pode ser uma terapia simples, segura e de baixo custo, com potencial para auxiliar no tratamento de doenças respiratórias inflamatórias tanto agudas quanto crônicas, melhorando a recuperação e a qualidade de vida dos pacientes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Parede de Bactéria Gram-negativa	21
FIGURA 2. Resumo da cascata de ativação via TLR4	23
FIGURA 3. Evolução temporal do infiltrado celular na lesão pulmonar aguda induzida por LPS	25
FIGURA 4. Câmara de Neubauer – Contagem Global de Leucócitos	39
FIGURA 5. Procedimento – Lavado Femoral	40
FIGURA 6. Tratamento com fotobiomodulação atenua a infiltração celular no LBA em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	42
FIGURA 7. Tratamento com fotobiomodulação reduz a proporção de neutrófilos, macrófagos e linfócitos no lavado broncoalveolar em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	44
FIGURA 8. Tratamento com fotobiomodulação reduz o número total de leucócitos circulantes em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	45
FIGURA 9. Tratamento com fotobiomodulação modula o perfil leucocitário no sangue periférico em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	47
FIGURA 10. Tratamento com fotobiomodulação restabelece a celularidade medular em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	49
FIGURA 11. Tratamento com fotobiomodulação modula o perfil de citocinas no lavado broncoalveolar em modelo de LPA induzida por LPS	50
FIGURA 12. Tratamento com fotobiomodulação modula o perfil de citocinas no lavado broncoalveolar em modelo de LPA induzida por LPS	51
FIGURA 13. Tratamento com fotobiomodulação induz alterações específicas no perfil de citocinas da circulação periférica em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	53

FIGURA 14. Tratamento com fotobiomodulação induz alterações específicas no perfil de citocinas da circulação periférica em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	54
FIGURA 15. Tratamento com fotobiomodulação modula expressivamente o perfil de citocinas no lavado femoral em modelo de LPA induzida por LPS	55
FIGURA 16. Tratamento com fotobiomodulação modula expressivamente o perfil de citocinas no lavado femoral em modelo de LPA induzida por LPS	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Fatores etiológicos mais comuns associados ao desenvolvimento da LPA	20
TABELA 2. Parâmetros laser local	35
TABELA 3. Parâmetros sistêmico	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COX-2 – Ciclooxigenase-2
CXCL1/KC – Quimiocina Derivada de Queratinócitos
CXCL2/MIP-2 – Proteína Inflamatória de Macrófagos 2
DAMPs – Padrões Moleculares Associados a Dano
ECMO – Oxigenação por Membrana Extracorpórea
ERONs – Espécies Reativas Derivadas do Oxigênio e do Nitrogênio
TFBM – Terapia com Fotobiomodulação
ICAM-1 – Molécula de Adesão Intercelular 1
IFN- γ – Interferon Gama
IL-1 β – Interleucina 1 Beta
IL-4 – Interleucina 4
IL-6 – Interleucina 6
IL-8 – Interleucina 8
IL-10 – Interleucina 10
IL-12 – Interleucina 12
IL-13 – Interleucina 13
IL-17 – Interleucina 17
ILIB – Irradiação Intravascular de Sangue por Laser
iNOS – Óxido Nítrico Sintase Induzida
LBA – Lavado Broncoalveolar
LBP – Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo
LED – Diodo Emissor de Luz
LF – Lavado Femoral
LPA – Lesão Pulmonar Aguda
LPS – Lipopolissacarídeo
MD-2 – Proteína de Diferenciação Mieloide 2
MMPs – Metaloproteinases de Matriz
MPO – Mieloperoxidase
NETs – Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos
NF- κ B – Fator Nuclear Kappa B
PAF – Fator Ativador de Plaquetas
PAMPs – Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PUFAs – Ácidos Graxos Poli-insaturados
SDRA – Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SIRS – Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
SPMs – Mediadores Especializados Pró-resolução
STAT3 – Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 3
TGF- β – Fator de Crescimento Transformador Beta
TLRs – Receptores Toll-Like
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa
TRALI – Lesão Pulmonar Aguda Relacionada à Transfusão
VCAM-1 – Molécula de Adesão Celular Vascular 1

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VILI – Lesão Pulmonar Induzida pelo Ventilador

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 LESÃO PULMONAR AGUDA (LPA)	19
1.2 LPS: ENDOTOXINA E RESPOSTA IMUNE	21
1.3 LPS E LESÃO PULMONAR AGUDA EXPERIMENTAL	23
1.4 LESÃO PULMONAR AGUDA: TRATAMENTO CONVÊNCIONAL	26
1.5 NOVAS PERSPECTIVAS COM A FOTOBIMODULAÇÃO	27
1.6 TERAPIA COM FOTOBIMODULAÇÃO SISTÊMICA: FUNDAMENTOS E ABORDAGEM TRANSCUTÂNEA	29
1.6 JUSTIFICATIVA	31
2. OBJETIVOS	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 ANIMAIS	34
3.2 INDUÇÃO DA LESÃO PULMONAR AGUDA PELA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)	34
3.3 TRATAMENTO COM LASER	35
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	37
3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO	37
3.6 RANDOMIZAÇÃO	37
3.7 CEGAMENTO	38
3.8 CONTAGEM E DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS PRESENTES NO LBA	38
3.9 DETERMINAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DO NÚMERO DE LEUCÓCITOS	38
3.10 CONTAGEM DE CÉLULAS PRESENTES NO LAVADO FEMORAL	40
3.11 QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS (LBA, LAVADO FEMORAL E SORO).....	40

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
<u>4 RESULTADOS.....</u>	<u>42</u>
4.1 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO ATENUA A INFILTRAÇÃO CELULAR NO LBA EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	42
4.2 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO REDUZ A PROPORÇÃO DE NEUTRÓFILOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	43
4.3 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO REDUZ O NÚMERO TOTAL DE LEUCÓCITOS CIRCULANTES EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	44
4.4 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA O PERFIL LEUCOCITÁRIO NO SANGUE PERIFÉRICO EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	46
4.5 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO RESTABELECE A CELULARIDADE MEDULAR EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	47
4.6 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA O PERFIL DE MEDIADORES NO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM MODELO DE LPA INDUZIDA POR LPS	48
4.7 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES ESPECÍFICAS NO PERFIL DE MEDIADORES NA CIRCULAÇÃO PERIFÉRICA EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS	51
4.8 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA EXPRESSIVAMENTE O PERFIL DE MEDIADORES NO LAVADO FEMORAL EM MODELO DE LPA INDUZIDA POR LPS	54
<u>5 DISCUSSÃO</u>	<u>58</u>

6 CONCLUSÃO.....	67
7 REFERÊNCIAS	68
8 ANEXOS	74

1 INTRODUÇÃO

1.1 LESÃO PULMONAR AGUDA (LPA)

A Lesão Pulmonar Aguda (LPA) é uma condição inflamatória grave caracterizada por comprometimento da troca gasosa, infiltração de células inflamatórias e aumento da permeabilidade da barreira alvéolo-capilar. Essa condição representa uma das principais causas de insuficiência respiratória aguda em pacientes hospitalizados, e sua forma mais severa é conhecida como Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), frequentemente associada a elevadas taxas de morbimortalidade.¹⁻³

Na fisiopatologia da LPA, ocorre um desequilíbrio entre os mecanismos pró e anti-inflamatórios, levando à destruição tecidual, acúmulo de líquido nos alvéolos e prejuízo na oxigenação sanguínea. As causas são diversas e incluem infecções bacterianas, virais, aspiração de conteúdo gástrico, trauma torácico e inalação de agentes tóxicos.⁴⁻⁶ A LPA pode evoluir com importantes alterações fisiológicas, como redução da complacência pulmonar, hipoxemia e aumento da resistência vascular pulmonar. Em nível histopatológico, observa-se edema alveolar, deposição de fibrina, espessamento da membrana hialina e infiltração de neutrófilos. Essas alterações comprometem a função respiratória e, sem tratamento adequado, podem evoluir para falência respiratória e óbito.⁷

Durante sua progressão, a LPA apresenta duas fases distintas: a fase exsudativa e a fase fibroproliferativa. Na fase exsudativa ocorre ativação do sistema de coagulação, produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, que promovem influxo de neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos para a lesão pulmonar. A liberação desregulada de mediadores citotóxicos, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, elastase e metaloproteinases de matriz (MMPs) resulta em lesão do endotélio e epitélio pulmonar. Se esses danos forem persistentes, ocorre comprometimento funcional prolongado.⁸

A fase fibroproliferativa ocorre geralmente após três dias do início da lesão, sobrepondo-se aos eventos inflamatórios. Os espaços alveolares tornam-se preenchidos por células mesenquimais (fibroblastos e miofibroblastos), enquanto células epiteliais alveolares do tipo II proliferam para substituir células do tipo I necróticas. Essa resposta fibroproliferativa exacerbada está associada à maior mortalidade e prolongamento da

ventilação mecânica. Pacientes internados em unidades de terapia intensiva estão sob potencial redução da competência imune, e infecções bacterianas hospitalares constituem fator de risco significativo para o desenvolvimento da LPA.⁸⁻¹² Na tabela 1 observamos os fatores etiológicos comumente associados ao desenvolvimento da lesão pulmonar aguda.

TABELA 1 – Fatores etiológicos mais comuns associados ao desenvolvimento da LPA

Tipo de causa	Fator desencadeante	Mecanismo principal
Diretas (pulmonares)	Pneumonia bacteriana ou viral	Infecção alveolar direta com liberação de citocinas inflamatórias e recrutamento de neutrófilos.
	Aspiração de conteúdo gástrico	Lesão química do epitélio alveolar e aumento da permeabilidade capilar.
	Inalação de fumaça ou gases tóxicos	Danos oxidativos diretos ao epitélio e endotélio pulmonar.
	Contusão pulmonar (trauma torácico)	Ruptura capilar e extravasamento de plasma e proteínas no espaço alveolar.
	Ventilação mecânica excessiva (VILI)	Sobredistensão alveolar e estresse oxidativo induzido por volume corrente elevado.
Indiretas (extrapulmonares)	Sepse sistêmica	Liberação sistêmica de mediadores inflamatórios que atingem o endotélio pulmonar.
	Pancreatite aguda	Liberação de enzimas digestivas e citocinas inflamatórias que causam dano endotelial pulmonar.
	Politraumatismos / fraturas múltiplas	Liberação de mediadores inflamatórios e microêmbolos gordurosos que comprometem a microcirculação pulmonar.
	Transfusão sanguínea maciça (TRALI)	Reação imunológica entre anticorpos do doador e leucócitos do receptor, causando edema alveolar.
	Queimaduras extensas	Liberação sistêmica de mediadores inflamatórios e aumento da permeabilidade vascular.

Fonte: Elaborado pelo autor, adaptado de referências 1-12

1.2 LPS: ENDOTOXINA E RESPOSTA IMUNE

O Lipopolissacarídeo (LPS), ou endotoxina, é um dos principais elementos presentes em bactérias Gram-negativas, sendo essencial para sua sobrevivência e patogenicidade, desempenhando um papel crucial no desencadeamento de respostas imunes e inflamatórias. É amplamente utilizado em modelos experimentais de inflamação aguda pulmonar por sua capacidade de ativar de forma intensa o sistema imune inato.^{12–14}

O LPS é composto por um glicolípídeo que inclui um polissacarídeo hidrofílico (conhecido como Antígeno-O) e um domínio hidrofóbico altamente conservado, chamado lipídio A. O lipídio A é o principal responsável pela atividade biológica do LPS, sendo a porção que interage diretamente com o sistema imune.¹⁵

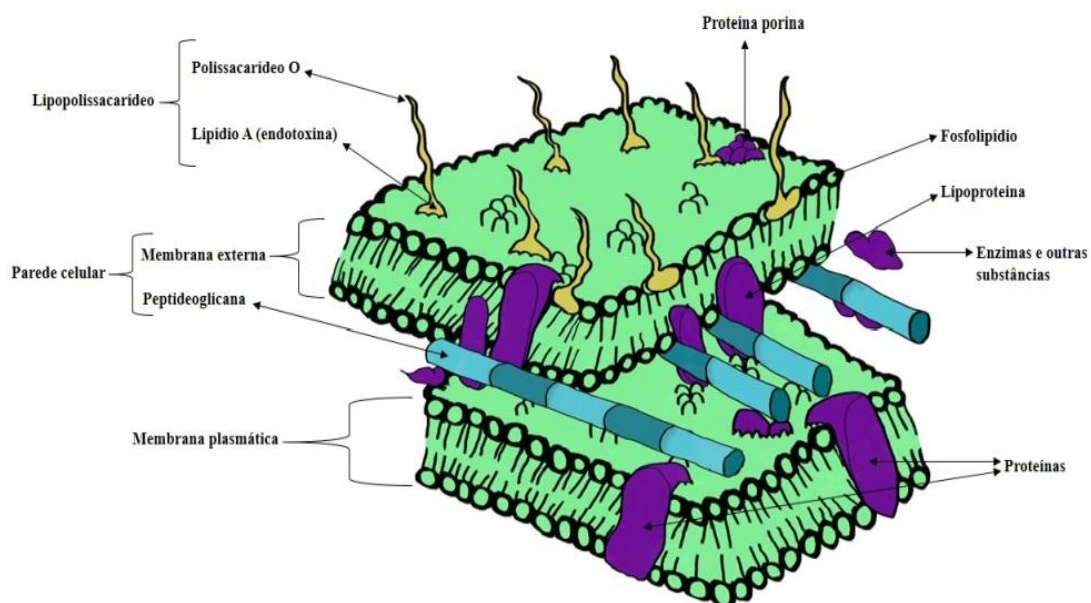


Figura 1. Estrutura da parede celular de bactérias Gram-negativas. Esquema ilustrando o lipopolissacarídeo (polissacarídeo O e lipídio A/endotoxina) na membrana externa, associada a fosfolípidios, lipoproteínas e porinas, sobre a camada de peptidoglicano e a membrana plasmática interna rica em proteínas.

Fonte: Elaborado pelo autor

A resposta imunológica se desenvolve através de uma série de mecanismos destinados a proteger o organismo contra patógenos, diferenciando entre substâncias próprias (self) e estranhas (non-self). Esses processos são atribuídos ao sistema imunológico inato e adaptativo.¹⁶

A imunidade inata é a primeira linha de defesa contra os patógenos. Os receptores do sistema imune inato têm a capacidade de identificar componentes específicos encontrados em bactérias, vírus ou fungos, conhecidos como Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs). Além dos PAMPs, o sistema imunológico inato também pode reconhecer Moléculas Associadas a Dano (DAMPs), que são liberadas por células danificadas ou mortas.¹⁵

As células do sistema imunológico inato, como macrófagos e células dendríticas, expressam receptores chamados TLRs (Toll-like receptors). Esses receptores desempenham papéis essenciais na detecção de diversos padrões moleculares associados a patógenos e moléculas de dano. O reconhecimento desses padrões leva à geração de citocinas, quimiocinas e moléculas coestimuladoras, que ajudam a eliminar os patógenos e a iniciar uma resposta inflamatória.¹⁷⁻¹⁹

Para que o LPS cause seus efeitos no organismo, é necessário que se ligue a receptores específicos, principalmente ao Toll-like receptor 4 (TLR4). No entanto, outras moléculas também são necessárias para que o LPS inicie a cascata de sinalização através do TLR4. Pesquisas mostram que o LPS se liga a uma proteína no sangue chamada LBP (Lipopolysaccharide Binding Protein), formando um complexo que se acopla aos receptores CD14. Esses receptores estão localizados na membrana das células do sistema imunológico e são fundamentais para o reconhecimento do LPS.^{20,21}

Vale destacar que o CD14 não possui um domínio intracelular e, portanto, não pode ativar a célula sozinho. Para isso, o TLR4 entra em ação. O TLR4, junto com a proteína MD-2 (Myeloid Differentiation Protein-2), amplifica a resposta celular ao LPS. Quando ativado, o TLR4 e o complexo MD-2 promovem a ativação de um fator de transcrição inflamatório chamado NF- κ B (Nuclear Factor κ B). O NF- κ B então regula a expressão de vários genes relacionados à inflamação e à resposta imune.^{22,23}

Entre os genes regulados pelo NF- κ B estão citocinas inflamatórias como IL-1 β , IL-17, IL-6, IL-12, IL-8 e TNF- α (Fator de Necrose Tumoral α). Esses genes codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória e na defesa contra patógenos. Além disso, o NF- κ B regula fatores de crescimento como TGF- β e VEGF, a enzima COX-2 (Ciclooxigenase-2), moléculas de adesão como ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina, e enzimas microbicidas como a iNOS (Óxido Nítrico Sintase Induzida).^{24,25}

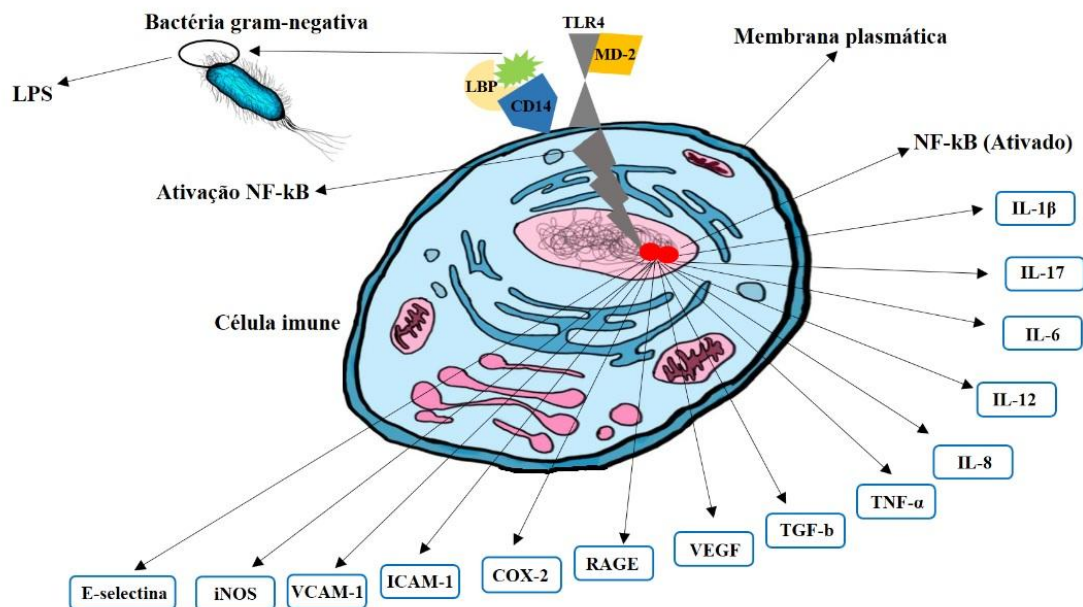


Figura 2. Resumo da cascata de ativação via TLR4; O LPS da parede da bactéria Gram-negativa se liga ao LBP e este se acopla aos receptores CD14, o TLR4 se liga a proteína MD-2 aumentando a responsividade ao LPS, iniciando a cascata de sinalização ativando o NF-kB.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Durante esse processo, ocorre também a ativação de neutrófilos e macrófagos, que liberam Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERONs) e enzimas proteolíticas, como elastase e mieloperoxidase (MPO). Embora essas substâncias sejam essenciais para eliminar microrganismos invasores, seu excesso pode causar dano tecidual e contribuir para a lesão pulmonar. Posteriormente, o sistema imunológico adaptativo é ativado, com a participação de linfócitos T e linfócitos B, que produzem citocinas regulatórias e anticorpos, participando tanto da amplificação quanto da resolução da resposta inflamatória. Assim, o LPS constitui um importante modelo para o estudo dos mecanismos inflamatórios pulmonares, permitindo compreender as interações entre células, mediadores e receptores envolvidos na resposta imune que leva à lesão alveolar e à inflamação local.^{12,24}

1.3 LPS E LESÃO PULMONAR AGUDA EXPERIMENTAL

Após a ativação dos receptores TLR e a produção de mediadores inflamatórios, ocorre um grande recrutamento de células inflamatórias para os pulmões, especialmente

de neutrófilos. A presença dessas células nos alvéolos pulmonares é característica da lesão pulmonar aguda e está relacionada à gravidade da hipoxemia e ao aumento da permeabilidade da barreira alvéolo-capilar.²⁶

A ativação e migração dos neutrófilos também indicam a progressão da inflamação pulmonar. O recrutamento excessivo dessas células pode ser causado por estímulos nocivos que levam ao aumento das traps extracelulares (NETs), envolvidas na lesão pulmonar.^{27,28}

Além disso, os neutrófilos contêm vesículas secretoras que liberam enzimas e substâncias inflamatórias, como elastase e ERONs. Essas substâncias são importantes para combater infecções, mas também podem causar danos ao tecido pulmonar.²⁹⁻³¹

Durante a fase proliferativa da inflamação, mecanismos de recuperação são ativados para tentar restaurar a função pulmonar. Porém, se o reparo for insuficiente, o tecido pulmonar se torna fibrótico, com consequente redução da elasticidade e das trocas gasosas.³²

Os mecanismos que causam a lesão pulmonar aguda podem ser estudados usando o LPS administrado diretamente nas vias aéreas. Quando administrado via orotraqueal, o LPS induz alterações locais na função das células pulmonares e provoca respostas inflamatórias que envolvem aumento da permeabilidade microvascular, acúmulo de exsudato e infiltração neutrofílica nos espaços alveolares.³³ A exposição ao LPS também leva à liberação de mediadores inflamatórios produzidos por monócitos, macrófagos e neutrófilos, resultando em inflamação e lesão tecidual.³⁴⁻³⁶

Nesse cenário, os macrófagos desempenham papel central na determinação da progressão ou resolução da lesão pulmonar. Essas células apresentam elevada plasticidade funcional e podem assumir perfis distintos, descritos na literatura como M1 (pró-inflamatórios) e M2 (anti-inflamatórios/reparadores), caracterizados por diferentes repertórios de citocinas e funções efetoras. Macrófagos M1 produzem mediadores como TNF- α , IL-1 β e IL-6, favorecendo a amplificação da resposta inflamatória, enquanto macrófagos M2 secretam IL-10, TGF- β e fatores de crescimento envolvidos nos processos de reparação tecidual.^{8,11,12}

Na lesão pulmonar aguda induzida por LPS, essa alternância funcional se reflete também na dinâmica temporal do infiltrado celular. Nas primeiras horas após o insulto,

predominam neutrófilos, cuja rápida mobilização caracteriza a fase inicial e mais agressiva da inflamação pulmonar. À medida que o processo evolui, especialmente entre 48 e 72 horas, observa-se uma transição gradual para um infiltrado predominantemente composto por macrófagos, que passam a exercer funções associadas à contenção do dano e ao início da resolução inflamatória.¹⁴⁻¹⁹ Essa evolução temporal característica está ilustrada na Figura 3, a qual sintetiza o padrão clássico descrito na literatura, destacando o pico neutrofílico precoce e o subsequente predomínio de macrófagos na fase tardia da LPA.

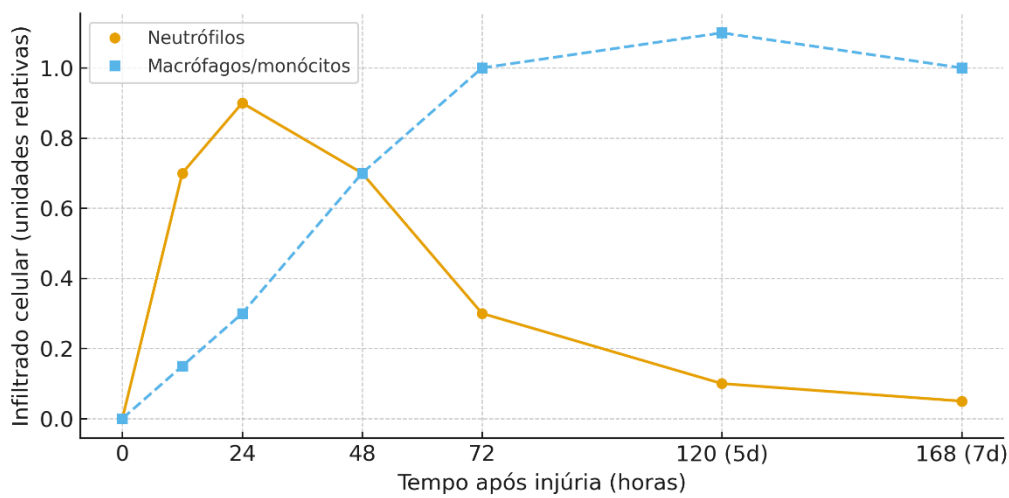


Figura 3. Evolução temporal do infiltrado celular na lesão pulmonar aguda induzida por LPS.

Representação esquemática do padrão clássico descrito na literatura, evidenciando o pico de neutrófilos entre 24 e 48 horas após o insulto e o subsequente predomínio de macrófagos/monócitos nas fases mais tardias (48–72 horas), período associado ao início dos mecanismos de resolução da inflamação. A curva ilustra valores relativos e não dados experimentais do presente estudo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Essa dinâmica é particularmente relevante para a interpretação dos resultados do presente estudo, uma vez que as análises foram conduzidas 72 horas após a administração de LPS, período em que se espera, de acordo com o modelo, maior participação de macrófagos no microambiente pulmonar. Nessa fase mais tardia, o padrão de citocinas produzido tanto no pulmão quanto na circulação desempenha papel decisivo na manutenção ou resolução do processo inflamatório. A IL-6, por exemplo, é uma citocina pleiotrópica central na fisiopatologia da LPA/SDRA e frequentemente utilizada como marcador de gravidade, estando associada a pior prognóstico e maior risco de mortalidade. Nas fases iniciais da inflamação, seus níveis podem aumentar de maneira acentuada, contribuindo para a ativação endotelial, indução de proteínas de fase aguda e amplificação da resposta inflamatória sistêmica.²⁴

A IL-17A, produzida principalmente por linfócitos T CD4⁺ Th17, mas também por outras populações, inclusive neutrófilos, estimula a liberação de IL-6 e IL-8 (CXCL8) por fibroblastos, células epiteliais e endoteliais, promovendo quimiotaxia intensa de neutrófilos para o tecido pulmonar. Além disso, aumenta a permeabilidade do epitélio alveolar, favorecendo o extravasamento de plasma e o desenvolvimento de edema alveolar, características típicas da LPA. Dessa forma, a IL-17A integra um eixo pró-inflamatório que sustenta a inflamação neutrofílica e a lesão pulmonar.²⁴⁻²⁶

Entre os mediadores iniciais, TNF- α e IL-1 β figuram como citocinas-chave após a exposição ao LPS, induzindo ativação endotelial, expressão de moléculas de adesão, produção de quimiocinas e desorganização da barreira alvéolo-capilar. A IL-8, por sua vez, é uma das principais quimiocinas neutrofilotrópicas, responsável por atrair e manter neutrófilos no espaço alveolar; em modelos murinos, quimiocinas como CXCL1/KC e CXCL2/MIP-2 exercem função análoga. Em conjunto, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-17A mantêm um ambiente pró-inflamatório que contribui para a injúria estrutural do pulmão.²⁹

Em contrapartida, a IL-10 atua como reguladora negativa dessa resposta. Produzida por macrófagos, células T regulatórias e neutrófilos com perfil mais resolutivo, reduz a síntese de citocinas pró-inflamatórias (como TNF- α , IL-1 β e IL-6), diminui a expressão de moléculas de adesão e limita a ativação de células efectoras. Na LPA, níveis adequados de IL-10 associam-se à atenuação da injúria pulmonar, à menor infiltração neutrofílica e à promoção da resolução. Dessa forma, o balanço entre citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A) e anti-inflamatórias (IL-10), aliado à plasticidade funcional dos neutrófilos entre perfis M1 e M2, é determinante para o curso da lesão pulmonar aguda induzida por LPS.³⁰⁻³³

1.4 LESÃO PULMONAR AGUDA: TRATAMENTO CONVENCIONAL

Apesar dos avanços na compreensão da LPA, as opções terapêuticas permanecem limitadas, sendo a ventilação mecânica o principal método utilizado. Embora tenha como objetivo reduzir a Lesão Pulmonar Induzida pelo Ventilador (VILI), a ventilação mecânica pode agravar a resposta inflamatória e contribuir para a falência múltipla de órgãos. Em casos graves, pode ser necessária a ECMO (Oxigenação por Membrana

Extracorpórea), que substitui temporariamente a função pulmonar, reduzindo os parâmetros ventilatórios e mitigando o risco de VILI. Outra estratégia é o posicionamento em prona, que melhora a ventilação-perfusão e a oxigenação arterial.^{37–44}

No entanto, o tratamento farmacológico é restrito e, até o momento, não existem medicamentos específicos que tratem ou previnam diretamente essa condição. As intervenções farmacológicas focam na atenuação da inflamação, redução do edema pulmonar e melhora dos mecanismos de reparo. O uso de corticosteroides é controverso: embora alguns estudos indiquem redução no tempo de ventilação mecânica, não há benefício consistente sobre a mortalidade. Dessa forma, terapias alternativas que reduzam a inflamação e melhorem a função pulmonar sem efeitos colaterais significativos tornam-se altamente relevantes.^{45–48}

1.5 NOVAS PERSPECTIVAS COM A TERAPIA COM FOTOBIMODULAÇÃO

Nesse contexto, a Terapia com Fotobiomodulação (TFBM) surge como uma estratégia coadjuvante segura, não invasiva e sem efeitos adversos conhecidos, apresentando resultados promissores em diferentes condições inflamatórias, incluindo doenças que acometem o sistema respiratório. A fotobiomodulação consiste na aplicação terapêutica de radiação eletromagnética não ionizante, geralmente nas faixas do visível e do infravermelho próximo (400–1100 nm), com o objetivo de modular processos biológicos celulares e teciduais de forma dose-dependente. Do ponto de vista físico, a luz é composta por fótons, cuja energia é inversamente proporcional ao comprimento de onda ($E = hc/\lambda$), de modo que diferentes comprimentos de onda transportam quantidades distintas de energia e, conseqüentemente, apresentam padrões específicos de interação com os tecidos biológicos.^{49,50}

No espectro visível, que se estende aproximadamente de 400 a 700 nm, comprimentos de onda menores (azul e violeta) possuem maior energia, porém sofrem maior absorção superficial por cromóforos como melanina e hemoglobina. Em contrapartida, comprimentos de onda maiores, situados nas regiões do vermelho e do infravermelho próximo, apresentam menor absorção e espalhamento relativo, favorecendo maior penetração tecidual e tornando-se mais adequados para aplicações terapêuticas em tecidos profundos. Quando a luz incide sobre um tecido biológico, ela

pode ser refletida, absorvida ou espalhada, sendo esses fenômenos governados pelas propriedades ópticas do meio, como índice de refração, coeficiente de absorção e coeficiente de espalhamento, além da arquitetura celular, da densidade vascular e do conteúdo de água e lipídios. Em tecidos biológicos altamente heterogêneos, a propagação da luz ocorre predominantemente por múltiplos eventos de espalhamento, caracterizando um regime de transporte difusivo de fótons, em oposição à propagação balística observada em meios homogêneos.⁴⁹⁻⁵¹

Como consequência desse comportamento óptico, a intensidade luminosa decai exponencialmente com a profundidade, conforme descrito pela Lei de Beer–Lambert modificada para meios turvos. Estima-se que a irradiância diminua aproximadamente uma ordem de grandeza a cada centímetro de tecido atravessado, o que impõe limitações físicas à profundidade de ação da TFBM e reforça a importância da escolha adequada dos parâmetros ópticos. Comprimentos de onda na faixa do vermelho, como 635 nm, apresentam profundidade de penetração física estimada em até 5–6 mm na pele. No entanto, a profundidade terapeuticamente efetiva definida como a região onde a densidade de fótons permanece suficiente para induzir respostas celulares fotoresponsivas situa-se tipicamente entre 1 e 3 mm. Nessa região, a energia luminosa absorvida é capaz de ativar cromóforos celulares específicos, sendo a citocromo c oxidase, localizada na cadeia respiratória mitocondrial, considerada o principal fotoreceptor envolvido nos efeitos da fotobiomodulação.⁵¹⁻⁵³

A absorção dos fótons por esse complexo enzimático promove alterações conformacionais que facilitam o transporte de elétrons, elevam o potencial de membrana mitocondrial e aumentam a eficiência da fosforilação oxidativa, culminando em maior produção de ATP. Paralelamente, observa-se a liberação transitória de óxido nítrico (NO) ligado à citocromo c oxidase, o que contribui para a melhora da respiração mitocondrial e da perfusão tecidual. Além disso, ocorre uma modulação controlada da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que, em níveis fisiológicos, atuam como segundos mensageiros em vias de sinalização intracelular. Esses sinais biofísicos e bioquímicos ativam cascatas de transdução que envolvem fatores de transcrição como NF- κ B, AP-1 e Nrf2, resultando na regulação da expressão gênica associada à inflamação, ao estresse oxidativo, à sobrevivência celular e ao reparo tecidual. De forma crítica, os efeitos da TFBM seguem uma resposta bifásica dependente da dose, descrita pela lei de Arndt–

Schulz, na qual doses baixas de energia promovem efeitos estimuladores, enquanto doses excessivas podem resultar em efeitos inibitórios ou ausência de resposta biológica.^{49–53}

Diferentemente de terapias baseadas em aquecimento, os efeitos da TFBM ocorrem predominantemente por mecanismos fotoquímicos e fotobiológicos, com mínima contribuição térmica. Isso é garantido pelo uso de baixas densidades de potência (geralmente $< 500 \text{ mW/cm}^2$), evitando elevação significativa da temperatura tecidual e assegurando que os efeitos observados sejam atribuídos à interação direta da luz com estruturas celulares sensíveis. O desenvolvimento de fontes luminosas altamente controláveis, como LASERs (Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação) e LEDs (Diodos Emissores de Luz), permitiu a padronização de parâmetros como comprimento de onda, irradiância, fluência (J/cm^2), tempo de exposição e área irradiada, aumentando a reprodutibilidade e a eficácia terapêutica da TFBM.^{51–53}

Estudos demonstram que a TFBM em baixa intensidade exerce efeitos diretos sobre as células, modulando a permeabilidade de membranas, a função mitocondrial, a produção de ATP e a síntese de proteínas estruturais, como colágeno e elastina. Além disso, a terapia apresenta propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas, promovendo a redução da liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, o aumento de mediadores regulatórios, como a IL-10, e a restauração do equilíbrio redox celular. Esses efeitos culminam em melhorias significativas na função celular, na regeneração tecidual e na resolução da inflamação.⁵³

No contexto da inflamação pulmonar aguda, evidências recentes demonstram que a fotobiomodulação exerce efeitos não apenas locais, mas também sistêmicos, modulando a ativação, o recrutamento e o fenótipo funcional de células imunes provenientes de compartimentos como o sangue periférico e, principalmente, a medula óssea. Observou-se a regulação de citocinas centrais da resposta inflamatória, como IL-17A e IL-6, sugerindo que a TFBM pode interferir precocemente em eixos inflamatórios fundamentais, reprogramando funcionalmente as células antes de sua migração para o pulmão.⁵⁴

Em uma série de investigações conduzidas pelo nosso grupo, demonstramos de forma consistente que a terapia com fotobiomodulação exerce um efeito anti-inflamatório e imunomodulador robusto em diferentes contextos de doenças respiratórias. Em modelos experimentais de asma, observamos que a TFBM promoveu a redução do número total

de células inflamatórias no fluido do lavado broncoalveolar (LBA), com diminuição específica de eosinófilos, associada à queda das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 e ao aumento da IL-10, indicando uma mudança do perfil inflamatório para um padrão mais resolutivo. Esses efeitos refletiram-se estruturalmente na redução da produção de muco e da deposição de colágeno nas vias aéreas e, funcionalmente, na melhora da elastância pulmonar estática e dinâmica, reforçando a capacidade da TFBM de conter a inflamação e atenuar o remodelamento brônquico.^{56,57}

No contexto da Lesão Pulmonar Aguda (LPA) induzida por LPS, Oliveira Jr. et al. (2014) utilizaram camundongos BALB/c submetidos à administração de LPS por via orotraqueal ou intraperitoneal para induzir modelos de síndrome do desconforto respiratório agudo de origem pulmonar e extrapulmonar. Um protocolo de fotobiomodulação foi aplicado uma hora após o estímulo inflamatório, com aplicações sucessivas de laser em contato direto com a pele na região da traqueia e dos lobos pulmonares. Os resultados demonstraram redução significativa da inflamação pulmonar em ambos os modelos, evidenciada pela diminuição do número total de células e de neutrófilos no LBA e no parênquima pulmonar, bem como pela queda dos níveis de IL-1 β , IL-6, CXCL1/KC e TNF- α no LBA e no soro.⁵⁷

Além da aplicação local, a TFBM também pode ser direcionada a estruturas vasculares, possibilitando a entrega sistêmica de sinais fotobiológicos capazes de modular a resposta inflamatória e oxidativa em órgãos distantes do sítio de irradiação, ampliando seu potencial terapêutico em condições inflamatórias complexas e sistêmicas.

1.6 TERAPIA COM FOTOBIMODULAÇÃO SISTÊMICA: FUNDAMENTOS E ABORDAGEM TRANSCUTÂNEA

Nessa modalidade de TFBM, a luz é direcionada para regiões arteriais superficiais, permitindo a interação direta com células sanguíneas e com o endotélio vascular, o que desencadeia efeitos que se propagam para diferentes órgãos e tecidos. Diversos termos têm sido utilizados para descrever essa abordagem, como fotobiomodulação sistêmica, fotobiomodulação vascular, irradiação sanguínea por laser e ILIB (Intravascular Laser Irradiation of Blood), além de denominações relacionadas à fotobiomodulação sistêmica transcutânea. Essa estratégia tem sido investigada como

terapia adjuvante no manejo de condições crônicas de natureza inflamatória, cardiovascular, metabólica e respiratória, com potencial impacto sobre sintomas, biomarcadores inflamatórios/oxidativos e qualidade de vida.⁴⁹⁻⁵⁷

Historicamente, a ILIB foi desenvolvida no contexto de doenças cardiovasculares, em razão de efeitos descritos sobre a reologia sanguínea, a microcirculação e o tônus vascular. Na forma clássica, o procedimento era realizado por via intravenosa, com inserção de fibra óptica em veias periféricas, o que demandava maior complexidade técnica e ambiente controlado, além de limitar sua aplicabilidade em cenários de rotina clínica. Com o avanço tecnológico e a melhor compreensão dos mecanismos de interação luz/tecido, surgiram protocolos não invasivos de fotobiomodulação sistêmica, baseados na irradiação transcutânea de artérias superficiais, especialmente em regiões como artéria radial, carótida e outras áreas de fácil acesso, com relatos de efeitos biológicos comparáveis aos observados com a técnica intravascular, porém com maior segurança e facilidade de aplicação.⁴⁹⁻⁵⁷

Na abordagem transcutânea, aproveita-se a relativa permeabilidade da pele e dos tecidos subcutâneos à luz na faixa do vermelho (aproximadamente 630–670 nm), emitida por LASERs ou LEDs em modo contínuo. A ideia central é que, ao incidir sobre grandes vasos superficiais, a energia luminosa interaja com elementos celulares do sangue (hemácias, leucócitos e plaquetas) e com o endotélio vascular. Esse contato repetido e distribuído de células circulantes com o estímulo fotobiológico sustenta a hipótese de um efeito sistêmico progressivo, capaz de influenciar o estado redox, o metabolismo celular e a sinalização inflamatória em múltiplos tecidos.⁵⁰⁻⁵⁴

Do ponto de vista molecular, a literatura descreve que respostas fotobiológicas sistêmicas podem envolver aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico, modulação de vias associadas ao estresse oxidativo e ajustes em perfis de citocinas pró e anti-inflamatórias. Além disso, são frequentemente citados efeitos sobre perfusão tecidual, microcirculação e homeostase endotelial, elementos com papel transversal em diferentes doenças inflamatórias crônicas. Esse conjunto de mecanismos gerais ajuda a explicar por que a fotobiomodulação vascular tem sido explorada em cenários além do eixo cardiovascular, alcançando também áreas como distúrbios metabólicos e doenças respiratórias com componente inflamatório sistêmico.⁴⁹⁻⁵⁷

Em modelos experimentais, uma estratégia análoga é empregada por meio da irradiação transcutânea da cauda de roedores, região rica em vasos superficiais. Esse desenho é amplamente utilizado como equivalente conceitual à irradiação de artérias periféricas em humanos e permite investigar de forma controlada os efeitos da TFBM sistêmica sobre células circulantes, sinalização imune e comunicação entre compartimentos hematopoéticos e tecidos-alvo. Essa lógica experimental é especialmente relevante quando o objetivo é avaliar se a luz pode modular não apenas a inflamação do órgão diretamente acometido, mas também a dinâmica de mobilização celular e mediadores sistêmicos associados ao curso da doença.⁵⁵⁻⁵⁸

Estudos como o de Silva et al. (2019) utilizaram um modelo de LPA induzida por LPS em ratos e aplicaram TFBM sistêmica por irradiação transcutânea da cauda com luz vermelha (660 nm), mostrando redução de marcadores inflamatórios pulmonares, incluindo menor recrutamento de neutrófilos no LBA, redução de MPO e diminuição de citocinas pró-inflamatórias.⁵⁸

Na perspectiva translacional, o interesse por abordagens sistêmicas de TFBM também se relaciona ao potencial de aplicação em cenários clínicos que exigem intervenções de baixo custo, repetíveis e pouco invasivas, especialmente como adjuvantes a terapias convencionais. Mesmo reconhecendo que os protocolos e parâmetros variam amplamente entre estudos, a consistência conceitual da proposta agir sobre o sangue e o endotélio para gerar repercussões orgânicas amplas tem sustentado o crescimento dessa linha de pesquisa.⁴⁹⁻⁵⁷

Considerando o potencial da fotobiomodulação em modular a inflamação e o estresse oxidativo, tanto de forma local quanto sistêmica, torna-se relevante avaliar seus efeitos em modelos de injúria pulmonar que reproduzam de forma fidedigna os eventos observados na LPA humana. Nessa direção, investigar a TFBM sistêmica em paralelo à aplicação local permite ampliar a compreensão sobre o alcance biológico da terapia e sobre seus possíveis impactos na comunicação entre medula óssea, sangue e pulmão, especialmente em modelos experimentais que envolvem mobilização hematopoiética e recrutamento inflamatório intenso.⁴⁷⁻⁵⁸

1.6 JUSTIFICATIVA

A lesão pulmonar aguda representa uma condição complexa e multifatorial, na qual a resposta inflamatória intensa compromete a integridade da barreira alveolar, culminando em edema, alterações de troca gasosa e disfunção respiratória. Entre os modelos experimentais disponíveis, a indução por lipopolissacarídeo (LPS) administrado por via orotraqueal destaca-se por reproduzir, de maneira controlada e reprodutível, os principais eventos celulares e moleculares observados nas formas agudas de lesão pulmonar, permitindo a investigação detalhada das vias inflamatórias associadas à ativação de receptores de reconhecimento padrão, como o TLR4, e à subsequente liberação de mediadores pró-inflamatórios – eventos centrais no desenvolvimento da LPA e da SDRA.^{12–18} A terapia com fotobiomodulação (TFBM) tem se destacado como uma estratégia terapêutica promissora, com efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e moduladores da resposta imune já demonstrados em diferentes modelos de lesão pulmonar.^{54–57} No entanto, ainda há lacunas importantes quanto à comparação entre a aplicação local, direcionada diretamente ao parênquima pulmonar, e a aplicação sistêmica, capaz de promover efeitos imunomodulatórios à distância por meio da mobilização de células e mediadores circulantes.

No modelo de LPA induzida por LPS, o ponto de 72h corresponde a uma fase intermediária da resposta inflamatória, em que o pico inicial de influxo neutrofílico já ocorreu, mas ainda há intensa atividade de mediadores pró-inflamatórios e participação crescente de citocinas regulatórias. Avaliar os efeitos da TFBM nesse momento pode ajudar a esclarecer se a terapia é capaz não apenas de atenuar o pico agudo, mas também de modular a fase de transição entre inflamação persistente e início de resolução, especialmente no contexto do eixo medula–sangue–pulmão. Diante disso, este estudo propõe avaliar e comparar os efeitos da TFBM local e sistêmica sobre a inflamação pulmonar aguda induzida por LPS, com ênfase na modulação da resposta inflamatória, na mobilização de células inflamatórias entre compartimentos (pulmão, sangue e medula óssea) e em alterações bioquímicas associadas à dinâmica inflamatória. A compreensão desses efeitos poderá contribuir para o esclarecimento dos mecanismos de ação da TFBM na regulação da inflamação pulmonar e fundamentar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas não farmacológicas, seguras e de baixo custo, voltadas à atenuação da inflamação dessa condição tão importante.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da fotobiomodulação local e sistêmica sobre a modulação da resposta inflamatória e a mobilização celular em um modelo experimental de lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o total de células inflamatórias presentes no lavado broncoalveolar (LBA), medula óssea e sangue periférico.
- Realizar a contagem diferencial de células do LBA e no sangue periférico, identificando os tipos celulares predominantes (neutrófilos, macrófagos e linfócitos).
- Analisar o perfil de mediadores no sobrenadante do LBA e do lavado femoral, bem como no soro incluindo: TNF- α , IL-1 β , IL-6, CXCL1, IL-10 e IL-17.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 41 camundongos Black-C57 fêmeas adultas (~20g) provenientes do biotério de criação da Universidade Nove de Julho e foram mantidos no biotério de experimentação da mesma Universidade sob condições controladas de umidade (50%-60%), luminosidade (12h claro/12h escuro) e temperatura (22°C - 25°C). O cálculo amostral foi realizado com base em estudos anteriores.⁴⁹⁻⁵⁴⁻⁷⁷ Os experimentos foram aprovados pelo CEUA/UNINOVE através do parecer nº 4192080525 (ID 000491).

3.2 INDUÇÃO DA LESÃO PULMONAR AGUDA PELA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)

Camundongos Black-C57 fêmeas adultas (~20g) foram submetidas à administração orotraqueal de lipopolissacarídeo 10 µg/animal; (*Lipopolysaccharides from Escherichia coli* O26:B6). A dose escolhida foi baseada em trabalhos anteriores^{49,50,57,58}. Após 3 dias da administração de LPS as análises foram realizadas. Os animais foram eutanasiados com anestesia (quetamina + xilazina 100 e 10 mg/Kg; ip) seguida de exsanguinamento da aorta abdominal.

3.3 TRATAMENTO COM LASER

TABELA 2 – PARÂMETROS LASER LOCAL ^{57, 62–65}	
1 – Potência radiante média	30 mW
2 – Comprimento de onda	660 nm
3 – Tempo de exposição	60 segundos/ponto
4 – Pontos irradiados	3 Pontos locais (traqueia, lobo pulmonar E/D)
5 – Método de irradiação	Local
6 – Localização anatômica	Trato pulmonar
7 – Ritmo de irradiação	Pontual
8 – Número de tratamentos	1 Dia, três aplicações
9 – Propriedades ópticas do tecido	Tecido sadio – camundongo Black-C57
10 – Área do feixe no alvo	0,03 cm ²
11 – Irradiância no alvo	1000 mW cm ²
12 – Exposição radiante	60 J/cm ²
13 – Energia radiante	5,4 J

TABELA 3 – PARAMETROS LASER SISTÊMICO ^{57, 62–65}	
1 – Potência radiante média	30 mW
2 – Comprimento de onda	660 nm
3 – Tempo de exposição	60 segundos
4 – Pontos irradiados	1 Ponto sistêmico (artéria caudal)
5 – Método de irradiação	Sistêmico
6 – Localização anatômica	Artéria caudal
7 – Ritmo de irradiação	Pontual
8 – Número de tratamentos	1 Dia, três aplicações
9 – Propriedades ópticas do tecido	Tecido sadio – camundongo Black-C57
10 – Área do feixe no alvo	0,03 cm²
11 – Irradiância no alvo	1000 mW cm²
12 – Exposição radiante	60 J/cm²
13 – Energia radiante	1,8 J

Os camundongos foram irradiados com laser em três sessões consecutivas, iniciadas 1 hora após a administração orotraqueal do LPS (*Lipopolysaccharides from Escherichia coli* O26:B6). Cada sessão foi realizada com intervalos de 1 hora entre si, totalizando três aplicações.

O laser foi aplicado em contato direto com a pele, na região correspondente ao aparelho respiratório, abrangendo a traqueia e os lobos pulmonares direito e esquerdo, conforme descrito em estudos anteriores. ^{49,50,54,55,57}

Além disso, um segundo grupo experimental foi submetido à terapia de fotobiomodulação sistêmica, com irradiação vascular na região caudal (área da artéria da cauda) e um terceiro grupo com terapia combinada de TFBM local e sistêmica, durante 60 segundos, utilizando exatamente os mesmos parâmetros dos grupos tratados localmente.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Utilizou-se um total de 41 camundongos, divididos em cinco grupos experimentais, conforme descrito abaixo:

- Grupo Basal (N = 5): camundongos não manipulados.
- Grupo LPS (N = 6): camundongos submetidos à administração orotraqueal de LPS (*Lipopolysaccharides from Escherichia coli* O26:B6).
- Grupo LPS + Laser Local (Referido como LPS + Laser L) N = 10: camundongos submetidos à administração de LPS e tratados com fotobiomodulação local na região torácica.
- Grupo LPS + Laser Sistêmico (Referido como LPS + Laser S) N = 10: camundongos submetidos à administração de LPS e tratados com fotobiomodulação sistêmica na região caudal.
- Grupo LPS + Laser Local e Sistêmico (Referido como LPS + Laser C) N = 10: camundongos submetidos à administração de LPS e tratados com fotobiomodulação combinada (local e sistêmica).

Total: N = 41 animais.

3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Animais que morreram durante o período de desenvolvimento do protocolo foram excluídos.

3.6 RANDOMIZAÇÃO

Alocação aleatória de animais nos determinados grupos.

3.7 CEGAMENTO

Sem necessidade de cegamento devido a natureza das intervenções.

3.8 CONTAGEM E DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS PRESENTES NO LBA

Após anestesia os animais foram traqueostomizados e canulados e os pulmões lavados com 3 x 0,5 ml de tampão fosfato salino (PBS). O volume do lavado recuperado foi centrifugado a 1600 rpm a 4°C por 5 minutos. O sobrenadante foi armazenado a -70°C para análise das citocinas por meio de ELISA. O botão celular foi ressuspendido em 1 ml de tampão fosfato salino (PBS) e utilizado para a determinação do número de células totais no LBA realizado por meio de contagem na Câmara de Neubauer. O restante do material ressuspendido foi utilizado para preparação de lâminas de cytopspin. Foram utilizados 200µl de amostra de cada animal para contagem diferencial das células, centrifugadas por 10 minutos, 450 rpm no equipamento de modelo Cytospin-2, Shandon Instruments Sewickley, PA. As lâminas foram coradas através da técnica de coloração Instant Prov: 1) colocar as lâminas na cuba corante Instant Prov I, deixar por 10 segundos, retirar e deixar escorrer por 5 segundos. (2) Colocar as lâminas na cuba corante Instant Prov II, deixar por 10 segundos, retirar e deixar escorrer por 5 segundos. (3) Colocar as lâminas na cuba corante Instant Prov III, deixar por 20 segundos, retirar, deixar escorrer por 5 segundos e lavar as lâminas em água corrente. Após a coloração 300 células foram contadas para a determinação da contagem diferencial.

3.9 DETERMINAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DO NÚMERO DE LEUCÓCITOS

A quantificação e diferenciação das células do sangue foi feita através dos seguintes métodos:

- Contagem global de leucócitos em câmara de Neubauer (Solução de Turk):

Para a contagem global de leucócitos, foi coletado 20 µL de sangue total e diluído em 380 µL da solução de Turk, obtendo uma diluição final de 1:20 (1 parte de sangue para 19 partes de diluente).

Em seguida, uma lamínula foi fixada sobre a câmara de Neubauer, e a mistura diluída foi utilizada para preencher as câmaras laterais por capilaridade.

Após o repouso de 1 a 2 minutos, foi realizada a contagem total de leucócitos nos 4 quadrantes como observado na figura 3.

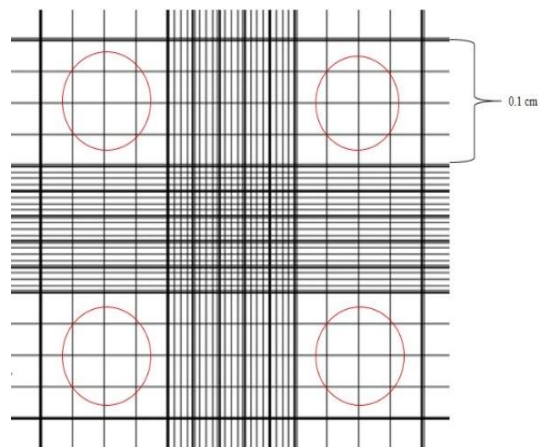


Figura 3. Câmara de Neubauer – Contagem Global de Leucócitos

O resultado final (número total de leucócitos por mm^3 de sangue) foi obtido pela seguinte relação:

$$\frac{\text{Leucócitos/mm}^3 = \text{Número de células contadas} \times \text{fator de diluição}}{\text{Volume da câmara contada (em mm}^3\text{)}}$$

Como cada quadrante grande possui $0,1 \text{ mm}^3$, e foram contados 4 quadrantes (totalizando $0,4 \text{ mm}^3$), o fator de correção aplicado é:

$$\frac{\text{Diluição} = (20)}{\text{Volume total contado (0,4)}} = 50$$

Assim, o número total de leucócitos é calculado multiplicando-se o total de células contadas por 20, correspondendo ao fator de correção da contagem, e não à diluição da amostra, que permanece sendo 1:20.

- Contagem diferencial de leucócitos:

Após a confecção do esfregaço sanguíneo o mesmo foi corado utilizando o Panótico Rápido, seguindo as instruções do fabricante.

3.10 CONTAGEM DE CÉLULAS PRESENTES NO LAVADO FEMORAL

As células da medula óssea foram obtidas a partir da lavagem da cavidade femoral. Decorridos 72h da administração do LPS os animais foram anestesiados e sacrificados por dessangramento (secção da aorta abdominal). O fêmur esquerdo foi retirado e com o auxílio de uma pinça foi mantido sobre um tubo de eppendorf. Em seguida o canal medular foi perfundido com PBS (1,5 ml) utilizando uma seringa plástica. A suspensão medular obtida foi homogeneizada com o auxílio de uma pipeta automática e centrifugada a 1.500 rpm por 10 min. O sobrenadante foi desprezado e as células ressuspensas em 1ml de PBS e contadas em câmara de Neubauer.

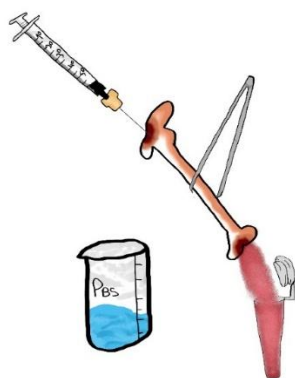


Figura 4. Procedimento Lavado Femoral; O fêmur esquerdo é retirado e depois perfundido com uma seringa contendo 1,5ml de PBS, após a coleta o mesmo é centrifugado a 1.500 rpm por 10min, para obtenção do sobrenadante.

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.11 QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS (LBA, LAVADO FEMORAL E SORO)

A quantificação dos mediadores inflamatórios foi realizada nas amostras de sobrenadantes do Lavado Broncoalveolar, do lavado femoral (medula óssea) e do soro do sangue periférico.

Foram avaliadas as seguintes citocinas e quimiocinas:

- TNF- α , IL-1 β , IL-6, CXCL1, IL-17 e IL-10.

As dosagens foram realizadas por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando kits comerciais específicos (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), de acordo com as instruções do fabricante. As leituras foram feitas em duplicata para cada

amostra, e os resultados expressos em picogramas por mililitro (pg/mL), a partir de curvas padrão obtidas com citocinas recombinantes.

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste Student Newman-Keuls para comparação de todos pares de colunas. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando GraphPad Software V.5.01. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (erro padrão da média). Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4 RESULTADOS

4.1 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO ATENUA A INFILTRAÇÃO CELULAR NO LBA EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

A Figura 5 mostra que o grupo LPS apresentou um aumento significativo no número total de células recuperadas no lavado broncoalveolar (LBA) em comparação ao grupo BASAL.

Em contrapartida, os grupos tratados com a terapia com fotobiomodulação local (LPS + LASER L), sistêmica (LPS + LASER S) e combinada (LPS + LASER C) apresentaram uma redução significativa na contagem celular total em relação ao grupo LPS.

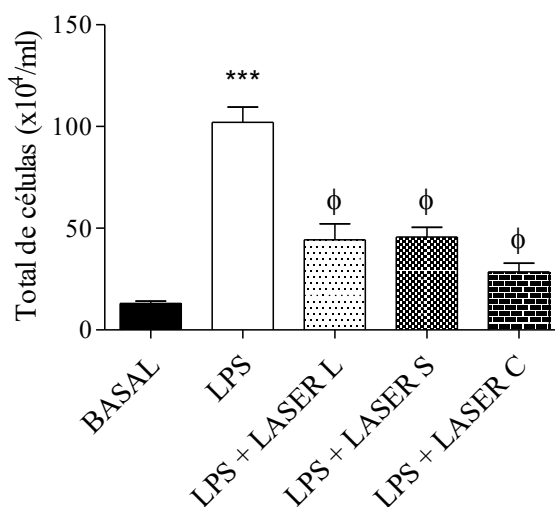


Figura 5. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre a infiltração celular no lavado broncoalveolar (LBA) em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo BASAL). A contagem total de células do lavado broncoalveolar (LBA) foi realizada 3 dias após a indução. Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. ***P < 0,001 em relação ao grupo Basal; ΦP < 0,001 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.2 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO REDUZ A PROPORÇÃO DE NEUTRÓFILOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

Na Figura 6 observa-se que o grupo LPS apresentou um aumento estatisticamente significativo nos três tipos celulares avaliados presentes no LBA, neutrófilos (painel A), linfócitos (painel B) e macrófagos (painel C) em relação ao grupo BASAL.

Em contraste, os grupos tratados com a TFBM local (LPS + LASER L), sistêmica (LPS + LASER S) e combinada (LPS + LASER C) apresentaram redução significativa na proporção de neutrófilos, linfócitos e macrófagos quando comparados ao grupo LPS.

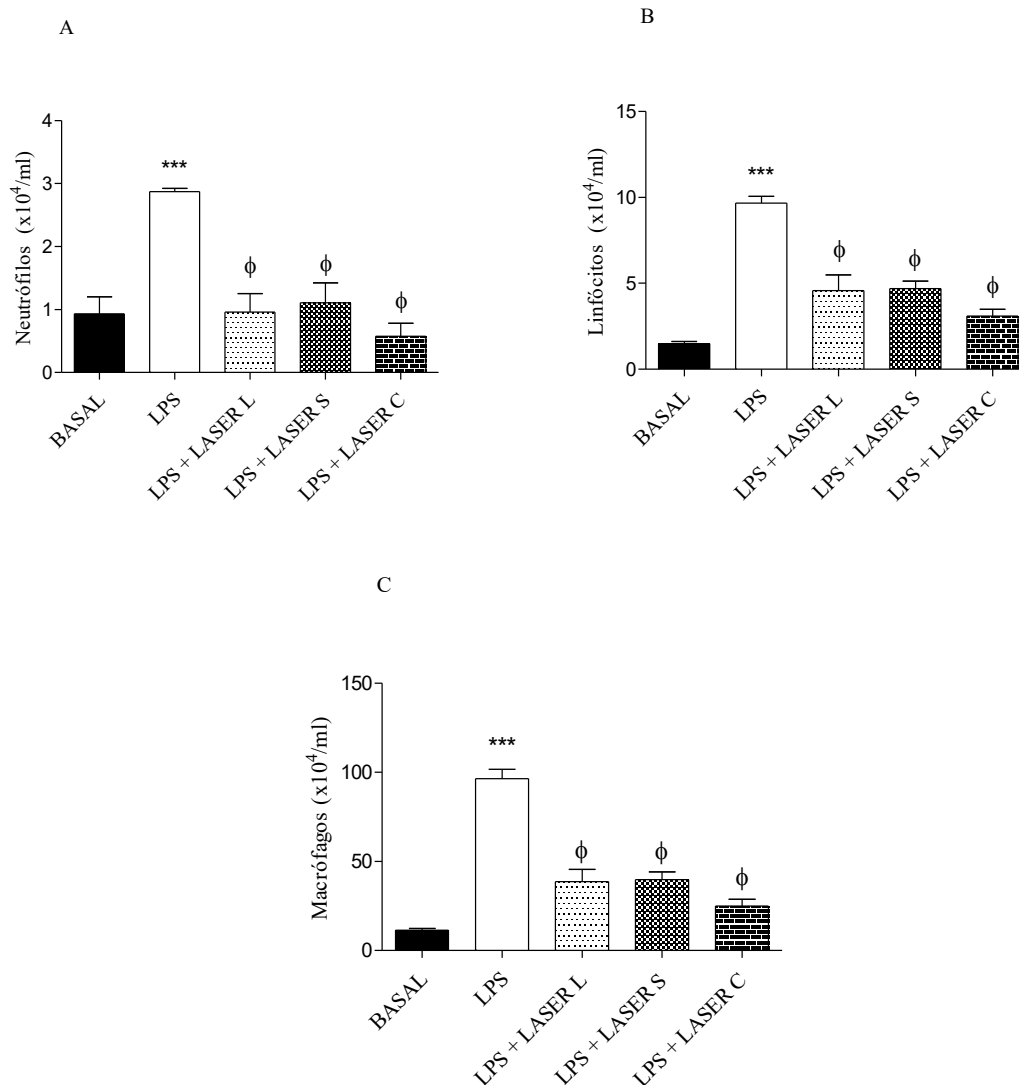


Figura 6. Efeito dos tratamentos com laser (local, sist3mico e combinado) sobre o diferencial de c3lulas no pulm3o, neutr3filos (painel A), linf3citos (painel B) e macr3fagos (painel C), em camundongos com inflama3o pulmonar induzida por LPS. Camundongos com inflama3o pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais n3o submetidos 3 indu3o inflamat3ria foram utilizados como controle (grupo Basal). A contagem diferencial de c3lulas no pulm3o foi realizada 3 dias ap3s a indu3o da inflama3o. Os dados representam a m3dia $\pm$ erro padr3o da m3dia (SEM) de 5 animais por grupo. *** $P < 0,001$ em rela3o ao grupo Basal; $\phi P < 0,001$ em rela3o ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.3 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO REDUZ O NÚMERO TOTAL DE LEUCÓCITOS CIRCULANTES EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

A Figura 7 mostra que o grupo LPS apresentou aumento significativo no número total de leucócitos circulantes em comparação ao grupo BASAL.

Por outro lado, os grupos tratados com TFBM local (LPS + LASER L), sistêmica (LPS + LASER S) e combinada (LPS + LASER C) apresentaram redução na contagem total de leucócitos em relação ao grupo LPS, atingindo valores próximos aos observados no grupo BASAL.

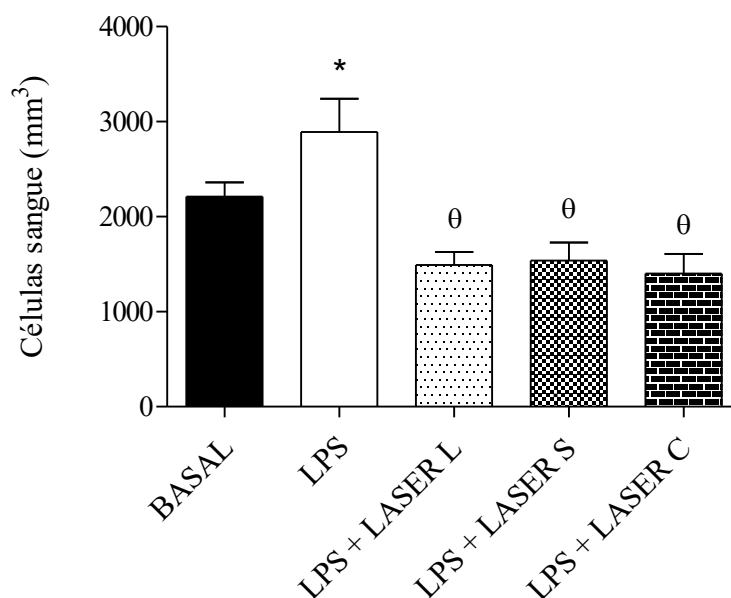


Figura 7. Efeito dos tratamentos com laser (local, sistêmico e combinado) sobre o total de células no sangue, em camundongos com inflamação pulmonar induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). A contagem total de células no sangue foi realizada 3 dias após a indução da inflamação. Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. *P < 0,05 em relação ao grupo Basal; θ P < 0,01 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.4 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA O PERFIL LEUCOCITÁRIO NO SANGUE PERIFÉRICO EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

A Figura 8 mostra que o grupo LPS exibiu aumento significativo na proporção de neutrófilos presentes no sangue periférico em comparação ao grupo BASAL.

Por outro lado, os grupos tratados com a terapia de fotobiomodulação local (LPS + LASER L), sistêmica (LPS + LASER S) e combinada (LPS + LASER C), apresentaram uma redução significativa de neutrófilos (painel A) em relação ao grupo LPS.

Já em relação aos linfócitos (painel B) e monócitos (painel C) não houveram diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados.

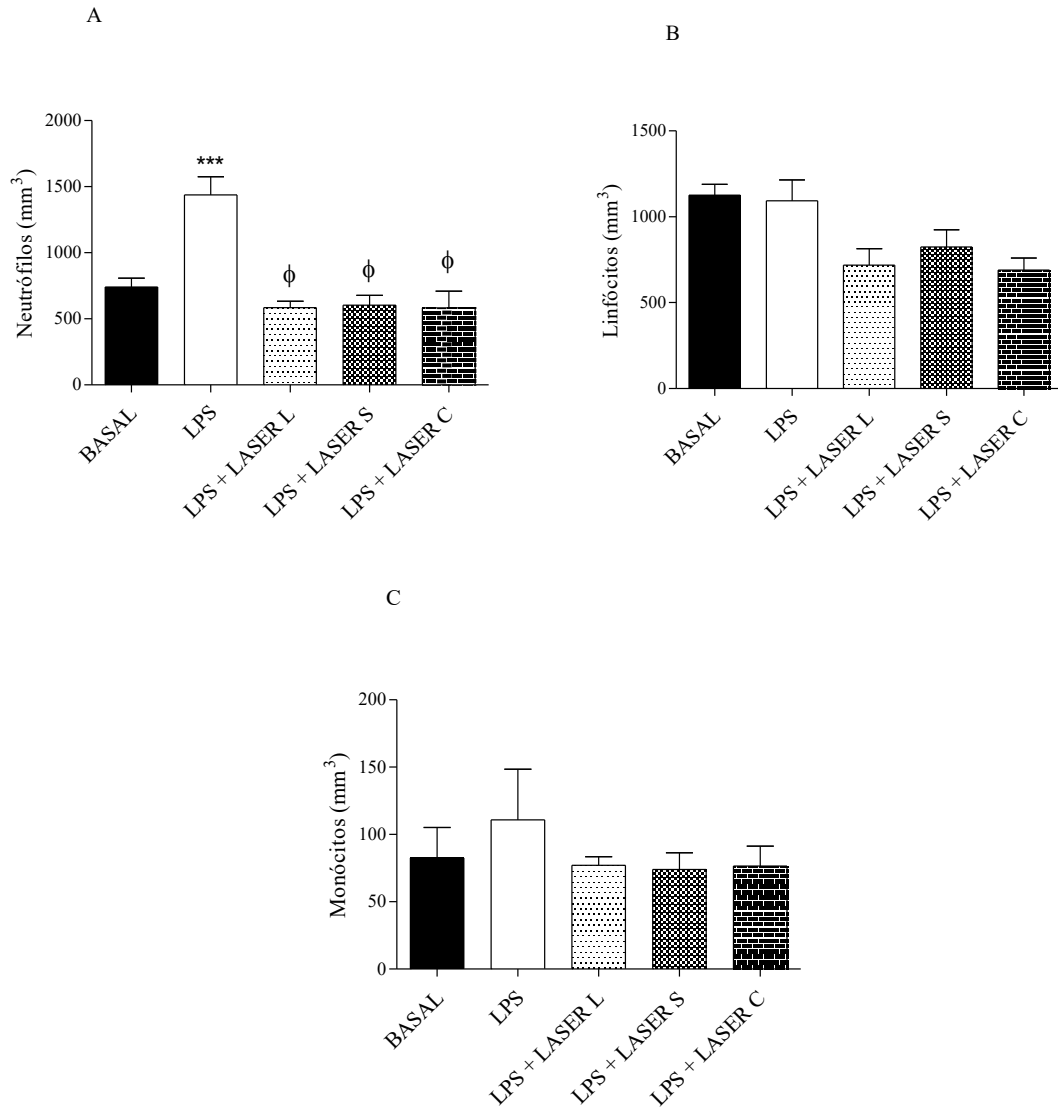


Figura 8. Efeito dos tratamentos com laser (local, sistêmico e combinado) sobre o diferencial de células no sangue periférico, neutrófilos (painel A), linfócitos (painel B) e macrófagos (painel C) em camundongos com inflamação pulmonar induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). A contagem de diferencial de células no sangue foi realizada 3 dias após a indução da inflamação. Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. ***P < 0,001 em relação ao grupo Basal, ***P < 0,01 em relação ao grupo Basal; ΦP < 0,01 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls)

4.5 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO RESTABELECE A CELULARIDADE MEDULAR EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

A Figura 9 mostra que o grupo LPS apresentou redução significativa no número total de células recuperadas no lavado femoral em comparação ao grupo BASAL, indicando diminuição da celularidade medular após a indução inflamatória pulmonar por LPS.

Em contrapartida, os grupos tratados com TFBM local (LPS + LASER L), sistêmica (LPS + LASER S) e combinada (LPS + LASER C) apresentaram aumento significativo na contagem total de células no lavado femoral em relação ao grupo LPS.

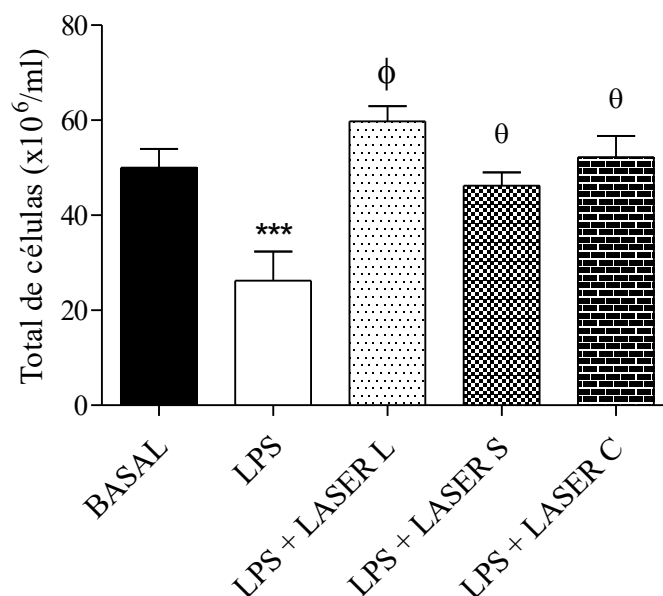


Figura 9. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre a celularidade medular em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). A contagem total de células do lavado femoral foi realizada 3 dias após a indução da inflamação. Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. *** $P < 0,001$ em relação ao grupo Basal; $\Phi P < 0,001$ em relação ao grupo LPS; $\theta P < 0,01$ em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.6 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA O PERFIL DE MEDIADORES NO LAVADO BRONCOALVEOLAR EM MODELO DE LPA INDUZIDA POR LPS

Na figura 10, painel A, em relação as citocinas avaliadas no LBA, o grupo LPS apresentou aumento significativo de IL-1 β em relação ao BASAL.

No painel B, o LPS também elevou expressivamente os níveis de IL-17A em comparação ao BASAL. Apenas os grupos Laser Sistêmico (LPS + LASER S) e Laser Combinado (LPS + LASER C) apresentaram redução significativa dessa citocina.

No painel C, o LPS induziu aumento pronunciado de IL-6, e, diferentemente dos resultados anteriores, todos os grupos tratados com a TFBM, LPS + LASER L, LPS + LASER S E LPS + LASER C reduziram significativamente essa citocina em relação ao grupo LPS.

Na figura 11 painel A, o LPS aumentou significativamente TNF- α , e novamente todos os grupos tratados com a terapia com fotobimodulação apresentaram redução desse mediador pró-inflamatório.

No painel B, em relação a CXCL1, o grupo LPS apresentou um aumento importante dessa quimiocina em relação ao grupo BASAL, por outro lado, os grupos que receberam a TFBM, tanto local, sistêmico e combinado apresentaram uma redução significativa em relação ao grupo LPS.

No painel C, IL-10 aumentou no grupo LPS, entretanto, apenas os grupos sistêmicos (LPS + LASER S) e combinado (LPS + LASER C) apresentaram elevação adicional dessa citocina regulatória.

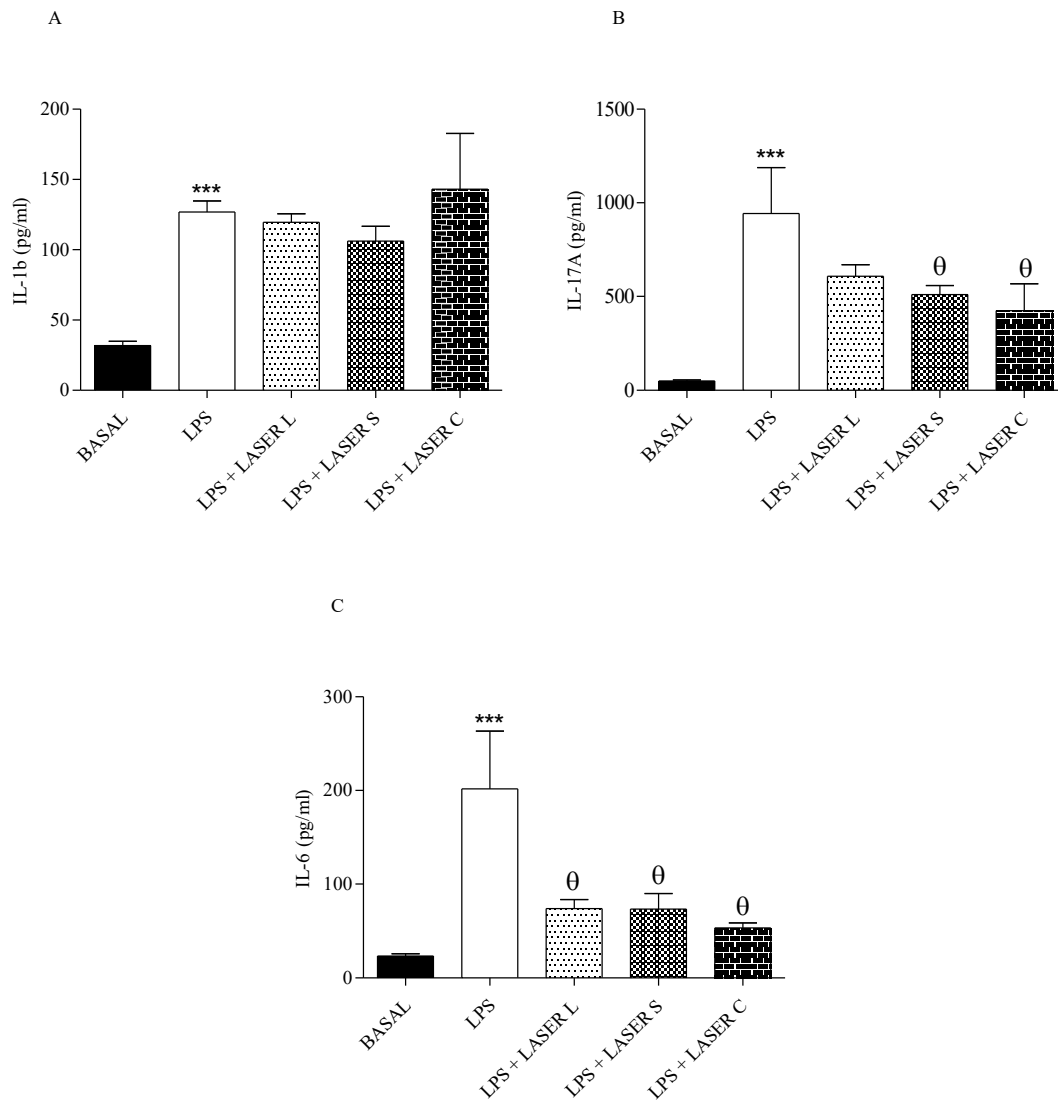


Figura 10. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios, IL-1b (painel A), IL-17A (painel B) e IL-6 (painel C), presentes no fluido do lavado bronco alveolar em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. **P < 0,01 em relação ao grupo BASAL; ***P < 0,001 em relação ao grupo BASAL; Δ P < 0,05 em relação ao grupo LPS θ P < 0,01 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

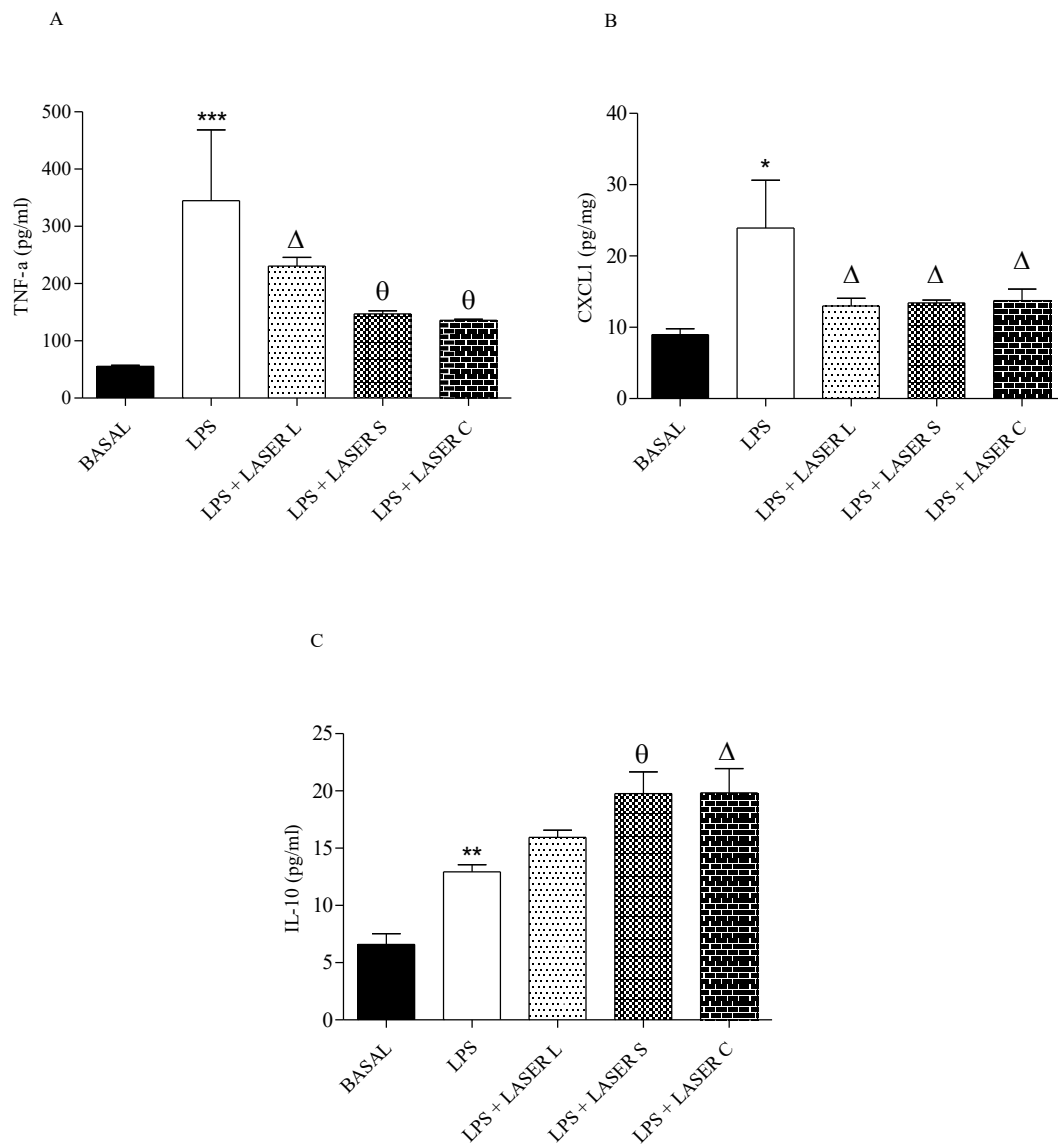


Figura 11. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórias, TNF-α (painel A), CXCL1 (painel B) e IL-10 (painel C), presentes no fluido do lavado bronco alveolar em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média ± erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. **P < 0,01 em relação ao grupo BASAL; ***P < 0,001 em relação ao grupo BASAL; ΔP < 0,05 em relação ao grupo LPS θP < 0,01 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.7 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES ESPECÍFICAS NO PERFIL DE MEDIADORES NA CIRCULAÇÃO PERIFÉRICA EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LPS

Na figura 12, painel A, em relação as citocinas avaliadas no soro, não foram observadas diferenças significativas de IL-1 β entre os grupos.

No painel B, referente à IL-17A, igualmente não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

No painel C, observou-se que o grupo LPS apresentou um aumento expressivo de IL-6 em relação ao grupo BASAL. Entre os grupos tratados, apenas o protocolo combinado (LPS + LASER C) promoveu redução significativa de IL-6 em comparação ao grupo LPS, enquanto os tratamentos local e sistêmico não apresentaram diferenças em relação ao grupo inflamado.

Na figura 13 painel A, o grupo LPS apresentou aumento significativo de TNF- α em relação ao BASAL. Entretanto, nenhum dos tratamentos com fotobiomodulação reduziu essa citocina de forma estatisticamente significativa no soro.

Por fim, tanto CXCL1 (painel B) quanto IL-10 (painel C) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

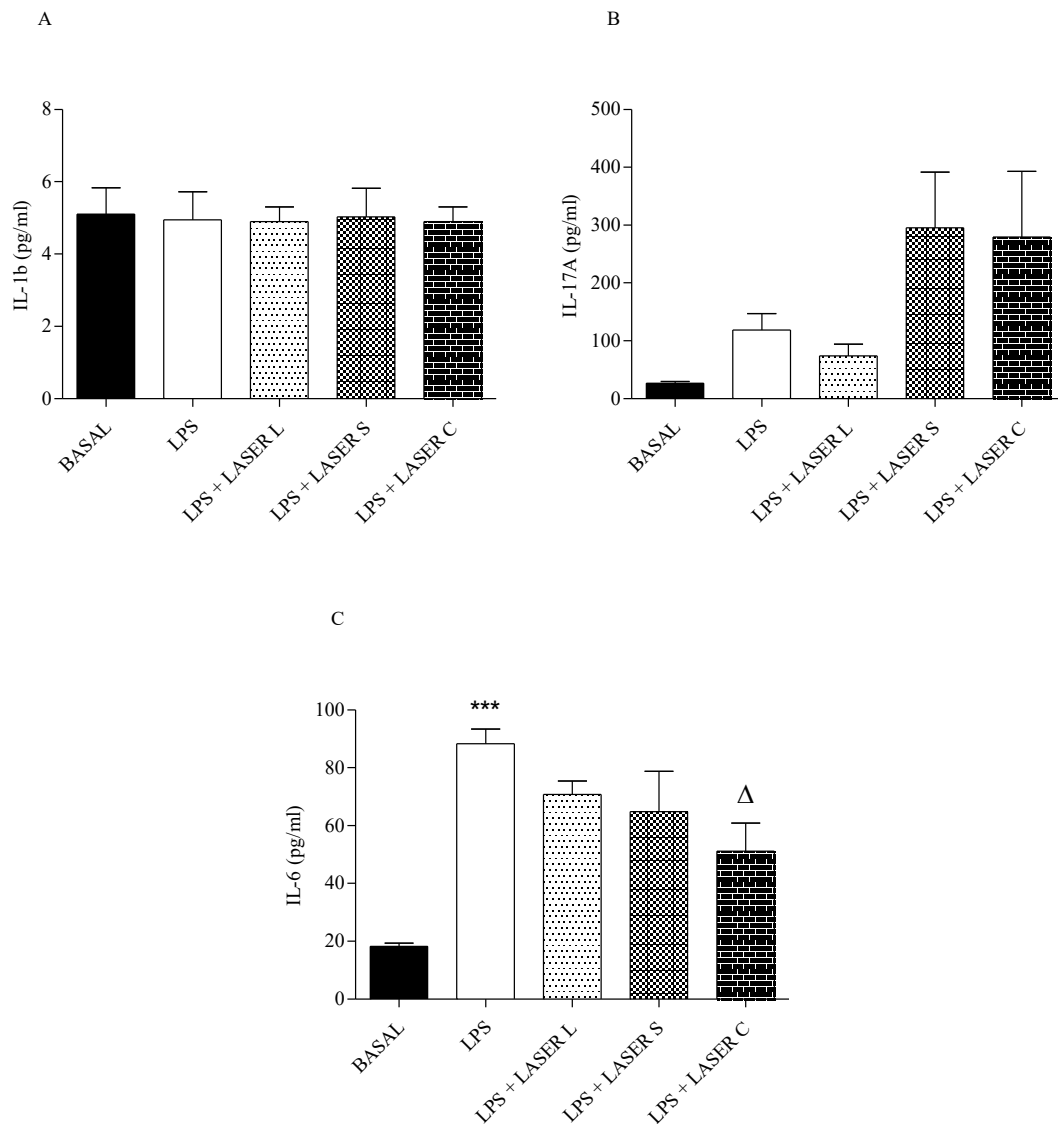


Figura 12. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios, IL-1b (painel A), IL-17A (painel B) e IL-6 (painel C), presentes na circulação periférica em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. ***P < 0,001 em relação ao grupo BASAL; Δ P < 0,05 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

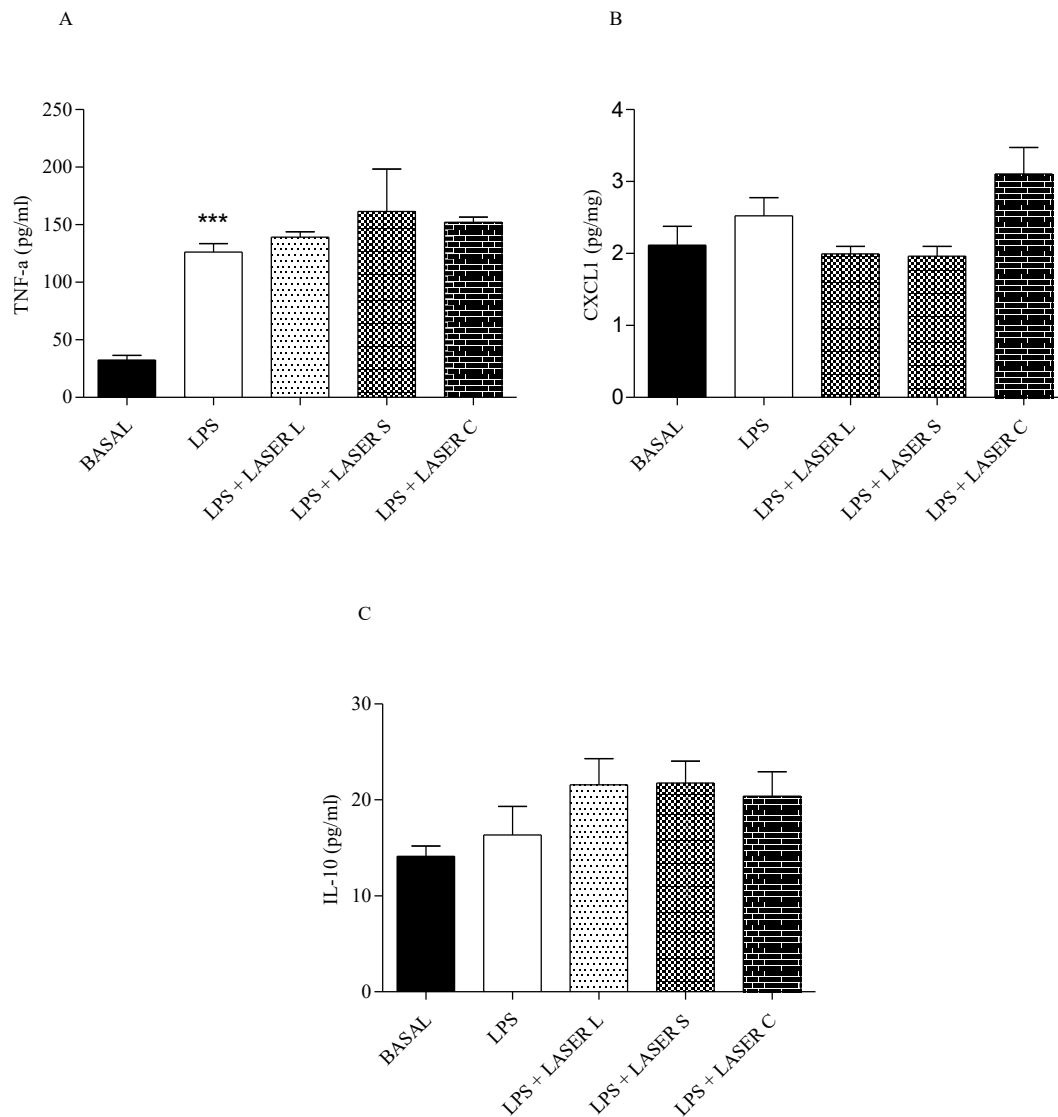


Figura 13. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios, e anti-inflamatórias, TNF-α (painel A), CXCL1 (painel B) e IL-10 (painel C), presentes na circulação periférica em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média ± erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. ***P < 0,001 em relação ao grupo BASAL. (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

4.8 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO MODULA EXPRESSIVAMENTE O PERFIL DE MEDIADORES NO LAVADO FEMORAL EM MODELO DE LPA INDUZIDA POR LPS

Na figura 14, painel A, em relação as citocinas avaliadas no lavado femoral, foi observado um aumento significativo de IL-1 β no grupo LPS em relação ao BASAL. Entre os grupos tratados, apenas o protocolo combinado (LPS + LASER C) foi capaz de reduzir significativamente a IL-1 β .

No painel B (IL-6), o grupo LPS apresentou um aumento acentuado dessa citocina enquanto todos os tratamentos locais (LPS + LASER L), sistêmico (LPS + LASER S) e combinado (LPS + LASER C) promoveram redução significativa em comparação ao grupo LPS.

O painel C (IL-17A) mostrou aumento significativo da citocina no grupo LPS em comparação ao grupo BASAL. Entre os grupos tratados, os protocolos sistêmicos sistêmico (LPS + LASER S) e combinados (LPS + LASER C) reduziram IL-17A de forma importante.

Já na figura 15 painel A (TNF- α), constatou-se aumento expressivo no grupo LPS em relação ao BASAL. Contudo, nenhum dos grupos tratados apresentou redução significativa.

No painel B (CXCL1), não houveram diferenças significativas entre os grupos.

Por fim no painel C (IL-10), observou-se aumento significativo nos três grupos que receberam a TFBM, tanto local (LPS + LASER L), quanto sistêmico (LPS + LASER S) e combinado (LPS + LASER C).

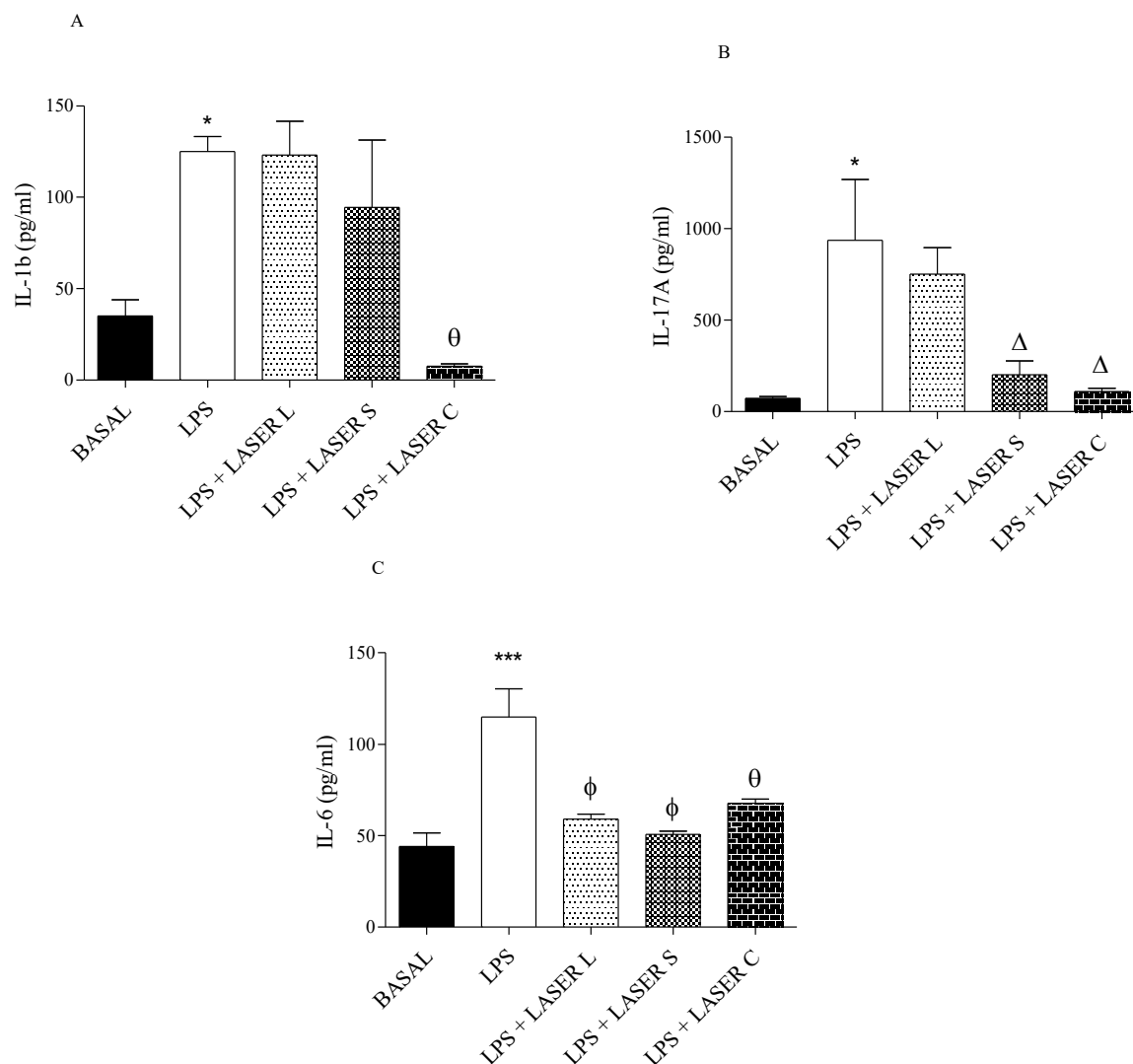


Figura 14. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios, IL-1b (painel A), IL-17A (painel B) e IL-6 (painel C), presentes na medula óssea em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. * $P < 0,05$ em relação ao grupo BASAL; *** $P < 0,001$ em relação ao grupo BASAL; $\theta P < 0,01$ em relação ao grupo $\Delta P < 0,05$ em relação ao grupo LPS; $\phi P < 0,001$ em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

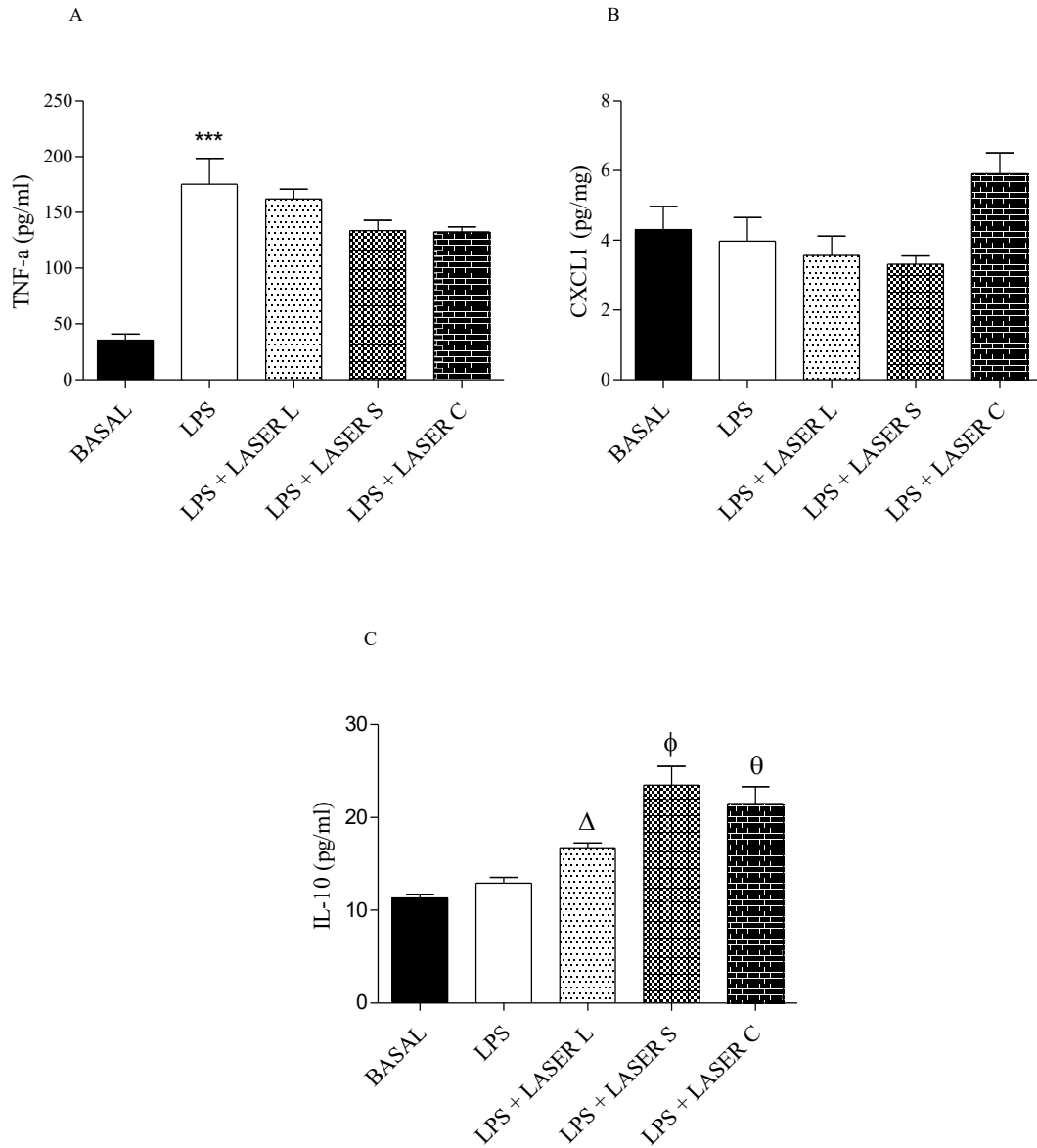


Figura 15. Efeito do tratamento com fotobiomodulação local, sistêmica e combinada sobre liberação de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórias, TNF-a (painel A), CXCL1 (painel B) e IL-10 (painel C), presentes na medula óssea em camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. Camundongos com inflamação pulmonar aguda induzida por LPS foram tratados com laser aplicado localmente, sistemicamente ou de forma combinada. Animais não submetidos à indução inflamatória foram utilizados como controle (grupo Basal). Os dados representam a média $\pm$ erro padrão da média (SEM) de 5 animais por grupo. ***P < 0,001 em relação ao grupo BASAL; θ P < 0,01 em relação ao grupo Δ P < 0,05 em relação ao grupo LPS; ϕ P < 0,001 em relação ao grupo LPS (ANOVA/Student–Newman–Keuls).

5 DISCUSSÃO

A lesão pulmonar aguda induzida por LPS constitui um dos modelos experimentais mais relevantes para compreender a fisiopatologia da inflamação pulmonar, caracterizada por uma resposta imune exacerbada e pela desregulação dos mecanismos de defesa, levando a um dano tecidual difuso. A instilação orotraqueal de lipopolissacarídeo é amplamente consolidada por mimetizar, de forma controlada, a fase pulmonar da sepse, frequentemente associada ao desenvolvimento de lesão pulmonar aguda em humanos, que pode evoluir, nos casos mais graves, para a síndrome do desconforto respiratório agudo. Contudo, é importante destacar que nem toda SDRA é causada por sepse, e nem toda sepse evolui para SDRA, embora a sepse represente a principal causa da síndrome.^{16,17,21-28}

O delineamento experimental adotado teve como objetivo não apenas validar o modelo de LPA, mas investigar se a aplicação da fotobiomodulação durante a instalação da resposta inflamatória poderia modular a fase aguda e favorecer precocemente a transição para um perfil resolutivo, avaliado no ponto temporal de 72 horas pós-indução. Embora esse estudo utilize como referência conceitual e metodológica o trabalho clássico de Oliveira Jr. et al. (2014), importantes diferenças experimentais distinguem de forma clara ambas as investigações e reforçam o caráter original da abordagem que aqui apresentamos.⁵⁷

Enquanto o trabalho de referência avaliou dois modelos distintos de LPA um pulmonar e outro extrapulmonar, nosso estudo concentrou-se exclusivamente na indução pulmonar direta por via orotraqueal, aprofundando a análise de marcadores celulares e moleculares não explorados anteriormente.⁵⁷

Outra diferença importante está no protocolo da terapia com fotobiomodulação. Oliveira Jr. et al. aplicaram laser infravermelho próximo (830 nm), mantendo três aplicações locais em três pontos ao longo de uma janela de uma hora após a indução, com intervalos de uma hora entre os tratamentos, totalizando três irradiações, e análises realizadas 24 horas após o LPS/tratamentos.⁵⁷

Aqui avaliamos três esquemas distintos de aplicação laser local, sistêmico e combinado utilizando 660 nm, com parâmetros dosimétricos otimizados especificamente

para este modelo. Além disso, a linha temporal é completamente diferente, com análises realizadas 72 horas após o LPS. Essa variação temporal altera profundamente a fase inflamatória analisada, pois o estudo de 2014 captura um momento ainda dominado por neutrófilos, enquanto o presente estudo avalia uma fase mais tardia, caracterizada pela predominância de macrófagos e início da transição resolutive.^{54,57}

Essa diferença é essencial para interpretar os achados a seguir, uma vez que as alterações celulares observadas refletem exatamente essa fase intermediária, na qual parte da resposta aguda já foi desencadeada, mas a resolução ainda não está plenamente estabelecida.

No grupo LPS, observou-se aumento maciço da celularidade total no LBA, o que é compatível com intenso recrutamento leucocitário para o espaço alveolar. Paralelamente, houve queda acentuada da celularidade medular femoral e leucocitose periférica, refletindo uma inflamação ainda ativa em 72h, corroborando com a ativação sistêmica, em que a medula óssea é estimulada temporariamente para sustentar o influxo maciço de leucócitos ao foco da inflamação. Esse padrão também foi observado em modelos sépticos com LPS intraperitoneal, como no estudo de da-Palma-Cruz et al. (2018), no qual o LPS reduziu a celularidade medular em 3 e 7 dias, acompanhado pelo aumento de células no BAL.⁵⁴ Também se alinha a modelos de LPA, em que moduladores farmacológicos da via NF- κ B evidenciados por Shi et al. (2021), foram capazes de reduzir o infiltrado inflamatório pulmonar e edema justamente ao interferir em eixos centrais da ativação imune sistêmica.⁶⁰

Contudo, a TFBM, independentemente da via de aplicação, modulou de forma coordenada os três setores biológicos avaliados. No pulmão, todos os protocolos de TFBM reduziram significativamente o número total de células recuperadas no LBA, sugerindo diminuição do influxo leucocitário para o espaço alveolar. Vale destacar que essa redução esteve associada a um perfil celular mais próximo do grupo basal, com menor participação de neutrófilos, linfócitos e macrófagos nos grupos que receberam a TFBM, o que pode indicar uma atenuação no estado inflamatório no pulmão.

No sangue periférico, o grupo LPS exibiu uma leucocitose associada a uma neutrofilia compatível com inflamação sistêmica ainda ativa em 72 h.

Diferentemente do que observamos no grupo LPS os grupos que receberam a TFBM, apresentaram uma redução dessa neutrofilia bem como a inversão da leucocitose para valores aproximados do grupo basal, indicando uma tendência de reequilíbrio hematológico. Esse padrão indica que a TFBM não apenas atenua o recrutamento exacerbado de leucócitos no foco inflamatório, mas também pode modular a liberação medular e o tráfego de células circulantes. Além disso, para que ocorra a resolução efetiva nos tecidos, a cessação do recrutamento de neutrófilos deve ocorrer em conjunto com o recrutamento e a diferenciação de macrófagos com perfil resolutivo, capazes de promover eferocitose de neutrófilos apoptóticos, remover detritos teciduais e secretar mediadores regulatórios, contribuindo para a restauração da homeostase.^{61,62}

E na medula óssea, o LPS promoveu queda acentuada da celularidade femoral, compatível com esgotamento transitório das reservas hematopoiéticas em função da mobilização intensa de leucócitos para o sangue e o pulmão. Entretanto, todos os protocolos de TFBM, tanto no protocolo local quanto nos protocolos sistêmico e combinado reverteram esse quadro, promovendo recuperação significativa da celularidade medular, o que pode sugerir a preservação do microambiente hematopoiético e redução da pressão inflamatória sistêmica.

Todos esses achados observados também estão em paralelo com outros modelos de inflamação pulmonar aguda induzida por LPS em que a TFBM exerceu importantes efeitos anti-inflamatórios, reforçando a nossa hipótese em que a TFBM atua não apenas sobre o foco inflamatório pulmonar, mas também sobre o eixo medula→sangue→pulmão como um todo, característica central do presente estudo.^{54,57,58,63–65}

Em modelos clássicos de inflamação pulmonar induzida por LPS, diversos estudos já demonstraram que a terapia com fotobiomodulação é capaz de atenuar marcadores centrais de injúria aguda, incluindo a redução da celularidade total no lavado broncoalveolar, da infiltração neutrofilica, além de diminuir o extravasamento microvascular e promover melhora morfofuncional das vias aéreas.^{57,67,68}

No compartimento pulmonar por exemplo, Aimbire et al. (2008) demonstraram que a irradiação torácica com laser vermelho (660 nm) atenuou a inflamação induzida por LPS em ratos, reduzindo de forma significativa a atividade de MPO e a permeabilidade microvascular avaliada por extravasamento de Evans blue, além de diminuir a celularidade no lavado broncoalveolar nos diferentes tempos analisados.^{69–71} De forma

complementar, em um modelo de inflamação pulmonar por aerossol de LPS, Mafrá de Lima et al. (2010) observaram que a TFBM também diminuiu edema e permeabilidade microvascular, reduziu o influxo e a ativação de neutrófilos no LBA (incluindo MPO) e atenuou mediadores como TNF- α e IL-1 β , além de modular de ICAM-1 no pulmão, reforçando o impacto da TFBM sobre eventos-chave da fase aguda da LPA.⁷²⁻⁷⁴

Além da abordagem local descrita, Silva et al. (2019) demonstraram, em um modelo de LPA induzida por LPS em ratos, que a TFBM sistêmica aplicada na cauda foi capaz de reduzir o recrutamento neutrofílico no LBA, a infiltração celular no pulmão e a leucocitose periférica.⁵⁸

Um ponto adicional de comparação é o estudo de Oliveira Jr. et al. (2014) que avaliou camundongos BALB/c submetidos a modelos pulmonar (oro-traqueal) e extrapulmonar (intraperitoneal) de LPS. Os autores observaram redução de neutrófilos no LBA e no parênquima pulmonar, além de menor expressão de IL-1 β , IL-6, CXCL1/KC e TNF- α tanto no LBA quanto no soro, sugerindo um efeito anti-inflamatório da TFBM independente da origem do estímulo endotoxêmico.

Reconhecendo que, em 72h, a manutenção ou o declínio do recrutamento celular depende do balanço entre mediadores pró-inflamatórios, quimiotáticos e regulatórios, investigamos a liberação de IL-1 β , IL-6, IL-17A, TNF- α , CXCL1 e IL-10 no fluido do LBA, no soro e na medula óssea. Esse painel de citocinas foi definido com base em estudos anteriores, por refletir eixos críticos da LPA induzida por LPS e por permitir avaliar se a TFBM, nessa fase intermediária, favorece a contenção de sinais associados ao recrutamento neutrofílico e a emergência de mediadores relacionados ao início da transição resolutive. Vale destacar que a inclusão do soro e da medula óssea amplia essa interpretação, permitindo avaliar, respectivamente, a persistência de mediadores circulantes e a possibilidade de modulação do microambiente hematopoiético e da mobilização celular pela TFBM.^{49,57,58,69-74}

A IL-1 β exibiu um padrão fortemente dependente do setor biológico avaliado. No LBA por exemplo, a administração de LPS promoveu um aumento importante dessa citocina, e sua manutenção se manteve nos grupos tratados, sugerindo uma possível menor responsividade terapêutica nesse ponto temporal (72h), especialmente quando comparada a janelas precoces em que a TFBM reduz IL-1 β no lavado e marcadores associados ao influxo neutrofílico. No soro, por outro lado, não foram observadas

diferenças significativas de IL-1 β entre os grupos, achado esse que é compatível com o caráter transitório da resposta sistêmica ao LPS e com a menor sensibilidade desse setor para captar modulação tardia desse mediador. Já na medula, embora a IL-1 β também tenha aumentado com LPS, apenas o protocolo combinado reduziu significativamente esse mediador, sugerindo que a reversão da ativação inflamatória medular em fase intermediária possa exigir a soma de efeitos locais e sistêmicos.

Esse comportamento, dependente do tempo e do setor, é corroborado por estudos em janelas mais precoces. Como visto por Aimbire et al. (2008), a irradiação em modelo de inflamação pulmonar por LPS reduziu IL-1 β no BAL e parâmetros associados à permeabilidade e à atividade de MPO na fase aguda do processo. De modo semelhante, Oliveira Jr. et al. (2014) demonstraram redução de IL-1 β no BAL e também no soro em modelos pulmonares e extrapulmonares avaliados em uma janela mais precoce do que a nossa (24h). Assim, a diferença temporal pode contribuir para explicar por que a IL-1 β pulmonar não foi revertida no nosso desenho de 72h, enquanto a modulação na medula permaneceu mais restrita ao tratamento combinado.^{57,70,75}

Por outro lado, IL-17A apresentou o padrão mais coerente, com uma modulação dependente de estímulo sistêmico. No LBA o grupo LPS apresentou um aumento importante dessa citocina, refletindo o papel do recrutamento excessivo de leucócitos para o pulmão, já nos grupos tratados com a TFBM apenas os protocolos sistêmico e combinado reduziram IL-17A. No lavado femoral, esse mesmo padrão foi reproduzido, enquanto no soro não foram observadas diferenças entre os grupos. Esses resultados sugerem que, em 72h, a IL-17A dependa mais de circuitos sistêmicos e medulares. A redução apenas com os protocolos sistêmico e combinado no LBA e na medula sugerem que a TFBM precisa atuar sobre fontes extrapulmonares para enfraquecer os sinais que mantêm o recrutamento neutrofílico nessa fase. Essa interpretação é compatível com o conceito de TFBM sistêmica modulando células circulantes antes da chegada ao órgão-alvo, como visto por Alonso et al. (2021) Do mesmo modo, em ALI por LPS com irradiação sistêmica pela cauda, da Silva et al. (2019) observaram redução de IL-1 β , IL-6 e IL-17 no pulmão, reforçando a ideia de que a TFBM sistêmica pode atenuar eixos inflamatórios ligados à manutenção do recrutamento neutrofílico.⁵⁸⁻⁷⁶

Em relação à IL-6 e ao TNF- α , ambas mostraram alta sensibilidade no pulmão, porém com algumas limitações de detecção sistêmica tardia. A IL-6 aumentou no grupo

LPS nos três setores e, interessante, foi reduzida por todos os protocolos com TFBM local, sistêmica e combinada no pulmão e na medula, e essa modulação de IL-6 acompanhou a queda da celularidade inflamatória nos grupos tratados, especialmente no LBA e no lavado femoral, entretanto, no soro apenas a TFBM combinada gerou redução significativa.

Tal achado pode sugerir que, em 72h, a IL-6 sérica seja menos sensível à modulação do que a IL-6 no LBA e na medula, podendo exigir uma intervenção mais ampla para que se observe uma redução detectável nas análises. Isso fica mais claro quando comparamos com estudos em janelas agudas, nos quais a TFBM foi capaz de modular de forma mais extensa o eixo inflamatório. Cury et al. (2015) por exemplo, observaram redução de mediadores inflamatórios pulmonares após LPS com TFBM aplicada em fase precoce, sem prejuízo funcional, enquanto Mafrá de Lima et al. (2009) descreveram queda de citocinas pró-inflamatórias, como TNF e IL-1 β , em modelos de inflamação aguda por LPS. Já Oliveira Jr. et al. (2014) relataram redução de IL-6 tanto no LBA quanto no soro em 24 h, reforçando nossa hipótese de que o tempo de análise interfere diretamente na detecção de efeitos sistêmicos.^{57,64,73} Esses dados podem sugerir que, em janelas intermediárias como a nossa, a queda de IL-6 no soro tende a depender de um grau de modulação mais robusto e integrado, como o observado no protocolo combinado, ao passo que LBA e medula permanecem mais responsivos mesmo a estímulos isolados.

O TNF- α seguiu uma lógica semelhante. Houve aumento importante no grupo LPS no pulmão, no sangue e na medula, condizente com uma inflamação ainda ativa, entretanto, apenas no pulmão observamos redução consistente com a TFBM em todos os protocolos, sem quaisquer alterações significativas no soro e na medula em 72h. Essa diferença entre os setores é coerente com o fato de o TNF- α ser produzido por múltiplos tecidos em contextos de inflamação sistêmica induzida por LPS, o que torna mais difícil a detecção de um efeito sistêmico tardio. Em modelos agudos, por exemplo, Aimbire et al. (2006) demonstraram redução dose-dependente da TFBM em TNF durante a inflamação pulmonar, enquanto Mafrá de Lima et al. (2011) mostraram que a TFBM pode modular o TNF por mecanismos associados a cAMP em macrófagos alveolares em janelas mais precoces. Em conjunto, tais achados reforçam a ideia de uma alta responsividade local do TNF- α no pulmão à TFBM, em contraste com a maior dificuldade

de modulação dos níveis sistêmicos em fases intermediárias como a avaliada neste estudo.
69,74

No caso da CXCL1, o padrão observado foi bem alinhado com o foco da inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. No LBA, o grupo LPS apresentou um aumento importante dessa quimiocina, enquanto todos os protocolos com TFBM (local, sistêmico e combinado) reduziram significativamente seus níveis. Vale frisar que esse comportamento acompanha o aumento de IL-6, IL-17A e da celularidade inflamatória no LBA, reforçando o papel da CXCL1 como parte do eixo que sustenta o recrutamento neutrofílico no sítio-alvo da injúria. Esse padrão dialoga com estudos anteriores em modelos de injúria pulmonar por LPS tratados com TFBM, que descrevem redução de quimiocinas e do influxo celular no BAL, embora nem todos relatem modulação uniforme de todas as quimiocinas, sugerindo que o impacto sobre a via quimiotática pode depender do modelo experimental, dos parâmetros de irradiação e da janela temporal analisada. No nosso contexto de 72h, a ausência de diferenças significativas de CXCL1 no soro e na medula reforça a interpretação de que o efeito da TFBM sobre essa via é mais evidente no pulmão do que em níveis sistêmicos, contribuindo principalmente para conter o influxo celular local.^{57,73,74}

Por fim, a IL-10 reforçou de forma clara o papel do componente sistêmico. No LBA, embora o LPS tenha elevado essa citocina, apenas os grupos sistêmico e combinado exibiram aumento adicional; na medula, o mesmo padrão se repetiu, enquanto no soro não houve diferenças entre os grupos. Esse comportamento é coerente com estudos em modelos de lesão pulmonar aguda, nos quais a fotobiomodulação se associa ao aumento de IL-10, à redução de mediadores pró-inflamatórios e à perda de efeito protetor na ausência desse mediador, além de modular ao longo do tempo a mobilização celular e o perfil de interleucinas.^{54,57,77}

Considerando que a instilação de LPS pode gerar alterações funcionais e estruturais duradouras, como mostrado por Tsikis et al. (2022) em avaliações de dias a semanas, nossos dados reforçam a relevância de expandir análises futuras para janelas tardias, investigando se a modulação integrada precoce do eixo medula→sangue→pulmão pela TFBM impacta não apenas citocinas e celularidade, mas também desfechos de remodelamento e recuperação do parênquima.⁷⁸

Do ponto de vista translacional, é importante enfatizar que pacientes com LPA frequentemente apresentam comorbidades, uso concomitante de múltiplas drogas e condições hemodinâmicas e infecciosas complexas que não são completamente reproduzidas em modelos experimentais baseados apenas em LPS. Assim, embora esse modelo seja altamente informativo para compreender e modular eixos inflamatórios específicos, a extrapolação para cenários clínicos deve considerar a heterogeneidade de curso, etiologia e gravidade observada na prática.

Vale destacar que algumas limitações devem ser reconhecidas neste estudo. Em primeiro lugar, a análise foi realizada em um único tempo experimental, o que impede conclusões sobre fases muito precoces, como analisadas por Oliveira Jr. et al (2014) ou muito tardias da inflamação e da resolução, como as investigadas por Cury et al. (2015) da-Palma-Cruz et al. (2018) e Tsikis et al. (2022) Também não avaliamos marcadores fenotípicos de macrófagos (M1/M2), histologia pulmonar, angiogênese nem parâmetros funcionais respiratórios, que poderiam confirmar diretamente a transição para um perfil mais resolutivo e a preservação estrutural do parênquima pulmonar. Além disso, embora tenhamos evidenciado modulação relevante de citocinas e do componente medular, não exploramos em detalhe vias intracelulares como NF- κ B e STATs, que poderiam aprofundar o conhecimento entre a sinalização sistêmica, a reorganização do ambiente hematopoiético e a modulação do microambiente pulmonar. ^{54,57,64,78}

Em termos funcionais, nossos achados em 72h indicam que a TFBM, especialmente nas modalidades sistêmica e combinada, atua menos como um bloqueio do início da resposta aguda e mais como um “freio” da inflamação persistente, ao reduzir o recrutamento de células inflamatórias para o pulmão, atenuar a ativação medular e favorecer um eixo mais regulatório mediado por IL-10, ao mesmo tempo em que modula simultaneamente mediadores no pulmão e na medula óssea. Esse padrão sugere interferência direta no eixo medula–sangue–pulmão que sustenta a continuidade do recrutamento leucocitário, apontando para um mecanismo integrado de modulação inflamatória em fase intermediária da LPA.

Adicionalmente, quando comparamos o desempenho entre as estratégias terapêuticas utilizadas em nosso estudo, observamos um perfil consistente: a TFBM sistêmica mostrou efeitos globalmente superiores à aplicação local isolada, enquanto o protocolo combinado apresentou desempenho ligeiramente superior ao sistêmico e

claramente melhor do que o local. Esse padrão é observado na modulação de eixos inflamatórios em múltiplos compartimentos. Em particular, a IL-17A citocina associada à sustentação de circuitos pró-recrutamento e amplificação inflamatória foi reduzida apenas pelos protocolos sistêmico e combinado, tanto no LBA quanto no lavado femoral. Vale destacar que apenas esses dois protocolos elevaram IL-10 no LBA, indicando um deslocamento do microambiente pulmonar para um perfil mais regulatório no próprio órgão-alvo da injúria.

Por fim, a vantagem do tratamento combinado torna-se mais evidente pela sua capacidade de atingir marcadores que não foram modulados nas demais abordagens, sendo o único protocolo capaz de reduzir a IL-1 β no lavado femoral e de modular a IL-6 no soro um achado particularmente relevante, já que, nesse setor, somente a intervenção combinada demonstrou efeito detectável. Em conjunto, esses resultados reforçam que a integração entre a modulação local do microambiente pulmonar e a intervenção sistêmica sobre compartimentos hematopoiéticos/circulantes amplia o alcance biológico da TFBM e pode representar a forma mais eficiente de interferir na dinâmica inflamatória que ainda se sustenta em 72h.

Mesmo que exista uma literatura abundante sobre a fisiopatologia e o tratamento da LPA, as implicações na prática clínica ainda são limitadas. Assim, as direções futuras da pesquisa devem se concentrar em propor novas terapias direcionadas para essa condição tão devastadora, uma vez que as intervenções farmacológicas atuais se concentram principalmente na atenuação da resposta inflamatória nas fases iniciais, na redução do edema ou no suporte aos mecanismos de reparo, sem oferecer uma solução efetiva e integrada para a complexa dinâmica intercompartimental que sustenta a progressão da injúria.

6 CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que a TFBM foi capaz de atenuar a inflamação pulmonar aguda induzida por LPS em 72h, modulando de forma coordenada o eixo medula–sangue–pulmão. Observamos redução do infiltrado inflamatório e de mediadores como IL-6, TNF- α e CXCL1 no LBA, além de efeitos seletivos sobre IL-1 β , IL-17A e IL-10 na medula óssea, especialmente nos protocolos sistêmico e combinado, sugerindo interferência na mobilização e na reprogramação de células provenientes de compartimentos de reserva. Assim, a fotobiomodulação vem mostrando resultados consistentes como estratégia adjuvante na LPA, com potencial para integrar o controle local da inflamação pulmonar à modulação sistêmica da resposta imune. Ainda assim, permanece a necessidade de explorar diferentes janelas temporais, parâmetros de irradiação e desfechos estruturais e funcionais para que, no futuro, esse tratamento possa ser consolidado e transposto com segurança para o cenário clínico.

7 REFERÊNCIAS:

1. Barreto MFC, Gomes Dellaroza MS, Kerbaux G, Grion CMC. Sepsis in a university hospital: a prospective study for the cost analysis of patient's hospitalization. *Rev Esc Enferm USP* 2016; 50: 299-305.
2. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (Fiocruz). Sepsis: maior causa de morte nas UTIs. Portal Fiocruz. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/sepsis-maior-causa-de-morte-nas-utis>. Acesso em: 10 ago. 2024.
3. Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA, Vincent JL, Cohen J, Opal SM. et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Critical Care Medicine* 2000; 28: 232-35.
4. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Sepsis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/sepsis/index.html>. Acesso em: 10 ago. 2024.
5. INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE SEPSE (ILAS). Relatórios anuais e estudos. Disponível em: <https://www.ilas.org.br/relatorios>. Acesso em: 10 ago. 2024.
6. SILVA, J. A.; SOUZA, M. R. Epidemiologia da sepsis no Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 123-135, abr./jun. 2024. Disponível em: <https://www.revistabrasileiraepidemiologia.com.br/sepsis-brasil>. Acesso em: 10 ago. 2024.
7. Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, Maunder RJ. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1995; 151: 293-301.
8. Nuala J. Meyer, et al. Myeloperoxidase-derived 2-chlorofatty acids contribute to human sepsis mortality via acute respiratory distress syndrome. *JCI Insight* 2017; 2: 23.
9. Machado FR, Assunção MS, Cavalcanti AB, Japiassú AM, Azevedo LC, Oliveira MC. Chegando a um consenso: vantagens e desvantagens do Sepsis 3 considerando países de recursos limitados. *Rev Bras Ter Intensiva* 2016; 28: 361-365.
10. Kim WY and Hong SH. Sepsis and acute respiratory distress syndrome: recente update. *Tuberc Respir Dis* 2016; 79: 53-57.
11. Reilly JP, Anderson BJ, Hudock KM, Dunn TG, Kazi A, Tommasini A. et al. Neutropenic sepsis is associated with distinct clinical and biological characteristics: a cohort study of severe sepsis. *Critical Care* 2016; 20: 222-31.
12. Beutler B and Rietschel et al. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nature Reviews Immunology* 2003; 3: 169-76.
13. Caroff, M. and Karibian, D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydrate Research* 2003; 338: 2431-4.

14. Dong Et al. Cortisol modulates inflammatory responses in LPS-stimulated RAW264.7 cells via the NF- κ B and MAPK pathways. *BMC Veterinary Research* 2018; 14: 30.
15. Zamyatina, A. Aminosugar-based immunomodulator lipid A: synthetic approaches. *Beilstein J Org Chem* 2018; 14: 25–53.
16. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology* 2003; 21: 335-76.
17. Vaez H. Et al. Metformin Alleviates Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury through Suppressing Toll-like Receptor 4 Signaling. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2016; 15: 498-507.
18. Janeway CA and Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 2002; 20: 197-216.
19. Nagala M, McKenzie E, Richards H, Sharma R, Thomson S, Mastroeni P and Crocker PR. Expression of Siglec-E Alters the Proteome of Lipopolysaccharide (LPS)-Activated Macrophages but Does Not Affect LPS-Driven Cytokine Production or Toll-Like Receptor 4 Endocytosis. *Front Immunol* 2018; 8: 1926.
20. Poltorak A, Smirnova I, He X, Liu MY, Van Huffel C, McNally O. Et al. Genetic and physical mapping of the LPS locus: identification of the Toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region. *Blood Cells, Molecules & Diseases* 1998; 24: 340-55.
21. Levan TD, Bloom JW, Bailey TJ, Karp CL, Halonen M, Martinez FD. et al. A common single nucleotide polymorphism in the CD14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *Journal of Immunology* 2001; 167: 5838-44.
22. Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *The Journal of Experimental Medicine* 1999; 189: 1777-82.
23. Deng L, Wang C, Spencer E, Yang L, Braun A, You J. et al. Activation of the IkappaB kinase complex by TRAF6 requires a dimeric ubiquitin-conjugating enzyme complex and a unique polyubiquitin chain. *Cell* 2000; 103: 351-61.
24. Olsen N, Spurlock C, Aune T. Methotrexate induces production of IL-1 and IL-6 in the monocytic cell line U937. *Arthritis Research & Therapy* 2014; 16:17.
25. Kawai T, Adachi O, Ogawa T, Takeda K, Akira S. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity* 1999; 11: 115-229.
26. Miller E, Cohen A, Nagao S, Griffith D, Maunder R, Martin T, Weiner-Kronish J, Sticherling M, Christophers E, Matthay M. Elevated Levels of NAP-1/Interleukin-8 Are Present in the Airspaces of Patients with the Adult Respiratory Distress Syndrome and Are Associated with Increased Mortality. *All AJRCCM Issues* 1992; 146:2.

27. Pedrazza L, Lunardelli A, Luft C, Cruz CU, de Mesquita FC, Bitencourt S, Nunes FB, de Oliveira JR. Mesenchymal stem cells decrease splenocytes apoptosis in a sepsis experimental model. *Inflamm Res* 2014; 63: 719-28.
28. Brinkmann V, Cyster J, Hla T, FTY720: Sphingosine 1- Phosphate Receptor-1 in the Control of Lymphocyte Egress and Endothelial Barrier Function. *American Journal of Transplantation* 2004; 4: 1019-2.
29. Fujii M, Miyagi Y, Bessho R, Nitta T, Ochi M, Shimizu K. Effect of a neutrophil elastase inhibitor on acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2010; 6: 859-862.
30. Wyche K, Wang S, Griendling K, Dikalov S, Austin H, Rao S, Fink B, Harrison D, Zafari A. C242T CYBA Polymorphism of the NADPH Oxidase Is Associated with Reduced Respiratory Burst in Human Neutrophils. *Hypertension* 2004; 43: 1246-1251.
31. Carnesecchi S, Dunand-Sauthier I, Zanetti F, Singovski G, Deffert C, Donati Y, Cagarelli T, Pache J-C, Krause K-H, Reith W, Barazzzone-Argiroffo C. NOX1 is responsible for cell death through STAT3 activation in hyperoxia and is associated with the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 537-551.
32. Bos LD, Martin-Loeches I, Schultz MJ. ARDS: challenges in patient care and frontiers in research. *Eur Respir Rev* 2018; 27: 170107.
33. Brigham KL and Meyrick B. Endotoxin and lung injury. *The American Review of Respiratory Disease* 1986; 133: 913-27.
34. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 2008; 295: 379-99.
35. Shue-Fen L. Et al. Lipopolysaccharide enhances bradykinin-induced signal transduction via activation of Ras/Raf/MEK/MAPK in canine tracheal smooth muscle cells. *British Journal of Pharmacology* 2000; 130: 1799-1808.
36. Eutamene H. Et al. LPS-induced lung inflammation is linked to increased epithelial permeability: role of MLCK. *Eur Respir J* 2005; 25: 789-795.
37. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967; 7511: 319-23.
38. MOKRA Daniela. Acute Lung Injury – From Pathophysiology to Treatment. *Physiol. Res.* 2020; 3: S353-S366.
39. Fan Eddy, Brodie Daniel, Slutsky Arthur S. Acute Respiratory Distress Syndrome Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA*. 2018; 319: 7.
40. Rao MH, Muralidhar A, Reddy AKS. Acute respiratory distress syndrome. *J Clin Sci Res* 2014; 3:114-34.
41. Bos Lieuwe, Ignacio Martin-Loeches, Marcus Schultz. ARDS: challenges in patient care and frontiers in research. *Eur Respir Rev* 2018; 27: 170107.

42. Banavasi Harsha. et al. Management of ARDS – Whats Works and What Does Not. Am J Med Sci 2021; 362: 13-23.
43. Villar Jesús. et al. Redefining ARDS: a paradigma shift. Critical Care 2023; 27: 416.
44. Confalonieri Marco, Salton Francesco, Fabiano Francesco. Acute respiratory distress syndrome. Eur Respir J 2017; 26: 160116.
45. Standiford T.J. & Ward P.A. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. Translational Research 2015; 1-9.
46. Petroni R.C. et al. Hypertonic saline (NaCl 7.5%) reduces LPS- induced acute lung injury in rats. Inflammation 2015; 38: 2026-35.
47. Ruthman C.A. & Festic E. Emerging therapies for the prevention of acute respiratory distress syndrome. TherAdvRespir Dis 2015; 9: 173-87.
48. Sharp C. Et al. Advances in understanding of the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. Respiration 2015; 89: 420-34.
49. Goes Costa, S. Barioni, E. Ignácio, A. Albuquerque, J. Saraiva, O. Niels, Pavani, C. Vitoretti, L. Damazo, S. Farsky, S. Lino-dos-Santos-Franco, Adriana. Beneficial effects of Red Light-Emitting Diode treatment in experimental model of acute lung injury induced by sepsis. Scientific Reports 2017; 7: 12670.
50. Miranda da Silva C, Peres Leal M, Brochetti RA, Braga T, Vitoretti LB, Saraiva Câmara NO, et al. Low Level Laser Therapy Reduces the Development of Lung Inflammation Induced by Formaldehyde Exposure. PLoS ONE 2015; 10: 11.
51. Andreu, Nuria; Zelmer, Andrea; Willes, Siouxsie. Noninvasive Biophotonic Imaging for Studies of Infectious Disease. FEMS Microbiology Reviews 2011; 35:360-394.
52. Issa, Maria Cláudia Almeida; Azulay, Mônica Manela. Terapia Fotodinâmica: Revisão da Literatura e Documentação Iconográfica. An Bras Dermatol 2010; 85: 501-11.
53. Oliveira, K.T. et al. Conceitos Fundamentais e Aplicações de Fotossensibilizadores do Tipo Porfirinas, Clorinas e Ftalocianinas em Terapias Fotônicas. Revista Virtual de Química 2014; 7: 310-335.
54. da-Palma-Cruz Marlon. et al. Photobiomodulation modulates the resolution of inflammation during acute lung injury induced by sépsis. Lasers in Medical Science 2018; 34: 191-199.
55. de Brito. et al. Photobiomodulation Therapy Restores IL-10 Secretion in a Murine Model of Chronic Asthma: Relevance to the Population of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Cells in Lung. Frontiers in Immunology 2022; 12.
56. Rigonato-Oliveira. et a. Effect of Low-Level Laser Therapy (LLLT) in Pulmonary Inflammation in Asthma Induced by House Dust Mite (HDM): Dosimetry Study. International Journal of Inflammation 2019; 12.

57. Oliveira, M. Low level laser therapy reduces acute lung inflammation in a model of pulmonary and extrapulmonary LPS-induced ARDS. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2014; 134: 57-63.
58. Silva, JGF. et al. Effect of systemic photobiomodulation in the course of acute lung injury in rats. *Lasers Med Sci* 2020; 1.
59. Mikhaylov, V. Development and clinical applications of intravenous laser blood irradiation (ILBI). *Laser Ther* 2009; 18: 69-83.
60. Shi, Zu-Na. et al. The effect of FTY720 at different doses and time-points on LPS-induced acute lung injury in rats. *International Immunopharmacology* 2021; 99.
61. Silva Ortiz, R. et al. Systemic Effects of Vascular Photobiomodulation on Early Macrophage Recruitment During Skeletal Muscle Repair. *Journal of Biophotonics* 2025. 1-9.
62. Kaur M. et al. Macrophage adaptation in airway inflammatory resolution. *Eur Respir J* 2015. 24.
63. Aimbire, F. et al. Effect of LLLT Ga–Al–As (685 nm) on LPS-induced inflammation of the airway and lung in the rat. *Lasers in Medical Science* 2005; 20: 11-20.
64. Cury, V. et al. Low level laser therapy reduces acute lung inflammation without impairing lung function. *Journal of Biophotonics* 2015. 1-9.
65. Carvalho J. et al. Beneficial effect of low-level laser therapy in acute lung injury after i-I/R is dependent on the secretion of IL-10 and independent of the TLR/MyD88 signaling. *Lasers in Medical Science* 2016.
66. Schroder K. et al. Interferon-gamma: an overview of signals mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004; 75: 163-89.
67. Marcondes, Silva. et al. Low-level laser therapy inhibits bronchoconstriction, Th2 inflammation and airway remodeling in allergic asthma. *Respir Physiol Neurobiol* 2014; 194: 37-48.
68. Cronshaw M, Parker S, Arany P. Feeling the Heat: Evolutionary and Microbial Basis for the Analgesic Mechanisms of Photobiomodulation Therapy. *Photobiomodul Photomed Laser Surg* 2019; 37: 517-526.
69. Aimbire, F. et al. Low-Level Laser Therapy Induces Dose-Dependent Reduction of TNF Levels in Acute Inflammation. *Photomedicine and Laser Surgery* 2006; 33-37.
70. Aimbire, F. et al. Low Level Laser Therapy (LLLT) Decreases Pulmonary Microvascular Leakage, Neutrophil Influx and IL-1 β Levels in Airway and Lung from Rat Subjected to LPS-Induced Inflammation. *Inflammation* 2008; 31.
71. Aimbire, F. et al. Effect of Low-Level Laser Therapy on Hemorrhagic Lesions Induced by Immune Complex in Rat Lungs. *Photomedicine and Laser Surgery* 2007; 25.
72. de Lima. et al. Low intensity laser therapy (LILT) in vivo acts on the neutrophils recruitment and chemokines/cytokines levels in a model of acute pulmonary

- inflammation induced by aerosol of lipopolysaccharide from *Escherichia coli* in rat. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2010; 271-278.
73. de Lima. et al. Low Level Laser Therapy (LLLT): Attenuation of Cholinergic Hyperreactivity, β_2 -Adrenergic Hyporesponsiveness and TNF- α mRNA Expression in Rat Bronchi Segments in *E. coli* Lipopolysaccharide-Induced Airway Inflammation by a NF- κ B Dependent Mechanism. *Lasers in Surgery and medicine* 2009; 41: 68-74.
 74. Lima, F.M et al. Low level laser therapy (LLLT) acts as camp-elevating agent in acute respiratory distress syndrome. *Lasers Med Sci* 2011; 26: 389-400.
 75. Aimbire F. et al. Low Level Laser Therapy (LLLT) Decreases Pulmonary Microvascular Leakage, Neutrophil Influx and IL-1 β Levels in Airway and Lung from Rat Subjected to LPS-Induced Inflammation. *Inflammation* 2008. 31-3.
 76. Alonso P. 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* 2021. 1.
 77. Fazza T. Effect of low-level laser therapy on the inflammatory response in an experimental model of ventilator-induced lung injury. *Photochemical and Photobiological Sciences* 2020. 19.
 78. Tsikis S. Lipopolysaccharide-induced murine lung injury results in long-term pulmonary changes and downregulation of angiogenic pathways. *Scientific Reports* 2022. 12.

8 ANEXOS



Universidade Nove de Julho

*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "SEPSE E RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM ROEDORES FÊMEAS: EFEITOS DO TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO LOCAL E SISTÊMICA NAS COMPLICAÇÕES PULMONARES", protocolada sob o CEUA nº 4192080525 (ID 000491), sob a responsabilidade de **Marlon da Palma Cruz** - 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 27/08/2025.

We certify that the proposal "SEPSIS AND INFLAMMATORY RESPONSE IN FEMALE RODENTS: EFFECTS OF TREATMENT WITH LOCAL AND SYSTEMIC PHOTOBIMODULATION ON PULMONARY COMPLICATIONS", utilizing 41 Isogenics mice (41 females), protocol number CEUA 4192080525 (ID 000491), under the responsibility of **Marlon da Palma Cruz** - 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 08/27/2025.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 05/2025 a 12/2025 Área: **Biofotônica Aplicada Às Ciências da Saúde**

Origem: **Biotério - Unidade Vergueiro**

Espécie: **Camundongos isogênicos**

Linhagem: **C57Bl/6**

sexo: **Fêmeas**

idade: **1 a 2 meses**

Peso: **15 a 20 g**

Quantidade: **41**

São Paulo, 27 de agosto de 2025

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





Effects of photobiomodulation in asthma: an integrative and critical review of preclinical and clinical evidence

Marlon da Palma Cruz¹ · Vanessa de Souza¹ · Isadora Mechenas¹ · José Antonio Silva Júnior^{1,2} · Stella Regina Zamuner^{1,2} · Rodrigo Labat Marcos¹ · Maria Cristina Chavantes³ · Renata Kelly da Palma^{4,5} · Flavio Aimbire⁶ · Ana Paula Ligeiro de Oliveira¹

Received: 26 June 2025 / Accepted: 8 September 2025

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2025

Abstract

Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways, affecting approximately 300 million people worldwide and generating a high socioeconomic burden. Despite advances in pharmacological therapies, therapeutic gaps remain, especially in corticosteroid-refractory phenotypes. Photobiomodulation (PBM) has emerged as a potential adjuvant due to its anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects. This integrative review critically analyzed experimental, clinical, and in vitro studies published between 2017 and 2025. Nine studies met the inclusion criteria: seven in animals, one clinical trial, and one in vitro. In animal models, PBM consistently reduced pulmonary inflammation, airway remodeling, and Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-13), while increasing IL-10. The in vitro study confirmed these effects and demonstrated superiority over dexamethasone in corticosteroid-resistant markers such as IL-21 and IL-23. However, the only randomized trial in humans, limited by a small sample size and single-session design, found no significant improvements in muscle function or systemic inflammation. Taken together, the evidence supports the biological plausibility of PBM but highlights the gap between experimental results and clinical application. Future trials should adopt standardized dosimetric parameters, longer interventions, and clinically relevant outcomes, including lung function, exacerbation frequency, and corticosteroid dependence, to clarify the therapeutic role of PBM in asthma.

Keywords Photobiomodulation · Asthma · LED · Laser · Pulmonary inflammation · Cytokines

✉ Marlon da Palma Cruz
marlonpc1302@gmail.com

Vanessa de Souza
vanessacuidador@gmail.com

Isadora Mechenas
isadoramechenas@gmail.com

José Antonio Silva Júnior
josejr@uni9.pro.br

Stella Regina Zamuner
stella.rz@uni9.pro.br

Rodrigo Labat Marcos
labat@uni9.pro.br

Maria Cristina Chavantes
mcchavantes@uni9.pro.br

Renata Kelly da Palma
rekellyp@hotmail.com

Flavio Aimbire
flavio.aimbire@unifesp.br

Ana Paula Ligeiro de Oliveira
apligeiro@gmail.com

¹ Biophotonics-Medicine Postgraduate Program, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil

² Postgraduate Program in Medicine, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil

³ Postgraduate Program in Medicine, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil

⁴ Facultad de Ciencias de la Salud de Manresa, Universitat de Vic-Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), Manresa, Spain

⁵ Human Movement and Rehabilitation, Post-Graduate Program, Evangelic University of Goiás, UniEVANGELICA, Anápolis, Brazil

⁶ Translational Medicine, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Published online: 29 September 2025

Springer

Content courtesy of Springer Nature, terms of use apply. Rights reserved.

DOI: [10.1007/s10103-025-04645-y](https://doi.org/10.1007/s10103-025-04645-y)



Dosimetric parameters and clinical outcomes of photobiomodulation in diabetic neuropathy: a concise review

Vanessa de Souza¹ · Marlon da Palma Cruz¹ · Caroline Chaves Bittencourt¹ · Ana Paula Ligeiro de Oliveira¹ · José Antônio Silva Júnior¹ · Stella Regina Zamuner¹ · Nivaldo Antonio Parizotto² · Richard Eloi Liebano³ · Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins⁴ · Rodrigo Labat Marcos¹

Received: 10 July 2025 / Accepted: 6 October 2025
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2025

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a multifactorial metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia, insulin resistance, and systemic inflammation. Diabetic neuropathy (DN) is a prevalent and debilitating complication of type 2 diabetes mellitus (T2D), associated with sensory impairment, persistent pain, and increased risk of lower limb amputations. Photobiomodulation (PBM) has been investigated as an adjunctive treatment due to its effects on cellular repair mechanisms, pain modulation, and wound healing. This review aims to synthesize evidence from clinical and preclinical studies published between 2015 and 2025, focusing on dosimetric parameters used in PBM for DN and their association with clinical outcomes. The search was conducted in the LILACS, SciELO, EMBASE, MEDLINE, PubMed e Cochrane Library, covering publications from 2015 to 2025. A total of 23 studies met the inclusion criteria. This review provides comprehensive evidence supporting PBM as a promising, safe and effective adjunctive therapy for diabetic neuropathy. The most consistent therapeutic effects were observed with wavelengths ((630–670 nm/808–904 nm), fluences of 3–10 J/cm², output power between 45 and 100 mW, and treatment protocols comprising at least 12 sessions. Despite the favorable therapeutic outcomes, the absence of standardized dosimetry among the studies remains a major challenge. Therefore, further research is needed to define optimized and reproducible therapeutic protocols.

✉ Vanessa de Souza
vanessacuidador@gmail.com
Marlon da Palma Cruz
marlonpc1302@gmail.com
Caroline Chaves Bittencourt
dracarolbittencourt@gmail.com
Ana Paula Ligeiro de Oliveira
apligeiro@gmail.com
José Antônio Silva Júnior
josejr@uni9.pro.br
Stella Regina Zamuner
stella.rz@uni9.pro.br
Nivaldo Antonio Parizotto
nivaldoaparizotto@hotmail.com

Richard Eloi Liebano
liebano@gmail.com
Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins
ralopes@gmail.com
Rodrigo Labat Marcos
labatrm@gmail.com

- ¹ Program in Medicine – Biophotonics, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil
- ² 2-Programa de Engenharia Biomédica, Universidade Brasil, São Paulo, Brazil
- ³ Department of Rehabilitation Sciences, University of Hartford, West Hartford, CT, USA
- ⁴ Hospital do Câncer de Muriaé, Fundação Cristiano Varella, Minas Gerais, Brazil

Published online: 15 October 2025



Content courtesy of Springer Nature, terms of use apply. Rights reserved.

DOI: [10.1007/s10103-025-04701-7](https://doi.org/10.1007/s10103-025-04701-7)



Exploring photobiomodulation in the management of bowel diseases: a concise critical review

Vanessa De Souza¹ · Marlon da Palma Cruz¹ · Dominique Cavalcanti Mello¹ · Ana Paula Ligeiro de Oliveira¹ · Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins² · Leonardo Longo³ · Nivaldo Antonio Parizotto⁴ · Rodrigo Labat Marcos¹

Received: 26 June 2024 / Accepted: 17 October 2024 / Published online: 27 October 2024
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2024

Abstract

The complexity of the gastrointestinal system plays a crucial role in coordinating essential processes such as digestion, nutrient absorption, and waste elimination. inflammatory bowel diseases (IBD) pose significant treatment challenges due to their complex aetiology and varied symptoms. Conventional therapeutic approaches often involve pharmacological interventions, which may have side effects and limited efficacy. Photobiomodulation (PBM), also known as low-level light therapy, has emerged as a promising therapeutic or adjunctive alternative in the treatment of intestinal diseases. The search was conducted in the MEDLINE database via PubMed, SCOPUS, covering the period from 1990 to 2024. A total of 72 studies were selected, of which 9 focused on inflammatory bowel diseases IBD, including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). Among these studies, 1 was clinical protocol while eight experimental. The results showed that PBM has a significant positive effect in IBD studies in rats, with reduction of intestinal inflammation, improvement of mucosal integrity, and modulation of the immune response. However, no clinical studies were found necessary to obtain results and establish effective and safe treatment protocols. Nevertheless, PBM holds potential as a non-invasive and complementary therapeutic approach for managing IBD, offering new perspectives for the treatment of chronic intestinal diseases. Therefore, this brief review emphasizes the need to transition from preclinical research to clinical research on this topic and highlights the scarcity of clinical studies.

✉ Vanessa De Souza
vanessacuidador@gmail.com

¹ Program in Medicine – Biophotonics, University Nove de Julho (UNINOVE), Rua Vergueiro, 239/245, São Paulo, SP 01504-000, Brazil

² Laboratory of Biophotonics and Experimental Therapeutics – LABITEX, Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica, Av. Universitária S/N, Anápolis, GO, Brazil

³ University of Florence, Florence, Italy

⁴ Biomedical Engineering, University Brasil, Rua Carolina Fonseca, 584 – Itaquera, São Paulo, SP 08230-030, Brazil



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

Vanessa de Souza¹ · Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt¹ · Virginia Mendes Matias Rodrigues¹ · Adriana Schapochnik¹ · Marlon da Palma Cruz¹ · Amílcar Sabino Damazo² · Caroline Marcantonio Ferreira³ · Rebeca Boltes Cecatto¹ · Maria Fernanda Setubal Destro¹ · Adriana Lino-dos-Santos-Franco¹

Received: 11 May 2023 / Accepted: 13 February 2024 / Published online: 20 February 2024
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2024

Abstract

Inflammatory bowel diseases (IBD) are chronic and multifactorial diseases characterized by dysfunction of the intestinal mucosa and impaired immune response. Data show an important relationship between intestine and respiratory tract. The treatments of IBD are limited. Photobiomodulation (PBM) is an effective anti-inflammatory therapy. Our objective was to evaluate the repercussion of IBD as well as its treatment with PBM on pulmonary homeostasis. Male Wistar rats were submitted to IBD induction by acetic acid and treated or not with PBM. Rats were irradiated with red LED on both right and left sides of the ventral surface and beside the external anal region during 3 consecutive days (wavelength 660 nm, power 100 mw, total energy 15 J and time of irradiation 150 s per point). Our results showed that IBD altered pulmonary homeostasis, since we observed an increase in the histopathological score, in myeloperoxidase activity (MPO), in mast cell degranulation, and in the release and gene expression of cytokines. We also showed that PBM treatment reduced biomarkers of IBD and reverted all augmented parameters in the lung, restoring its homeostasis. Thus, we confirm experimentally the important gut-lung axis and the role of PBM as a promising therapy.

Keywords Inflammatory bowel diseases · Photobiomodulation · Gut-lung axis · Mast cell · Cytokines · Light-emitting diode

Introduction

Inflammatory bowel diseases (IBD) are chronic and multifactorial diseases characterized by dysfunction of the intestinal mucosa and impaired immune response. Among the main symptoms are sensory, motility and secretory changes, resulting in abdominal pain, diarrhea, gastrointestinal bleeding and malnutrition [1]. Inflammatory Bowel Diseases (IBD) are characterized as conditions significantly affecting public health, as they diminish the quality of life. Given

their incurable nature as well as the necessity for prolonged treatment, they incur expenses and increase susceptibility to complications [2, 3]. Considerable progress has been made in the treatment of IBD, but the drugs are limited acting only on the remission of the active disease or preventing relapses. Thus, new therapies are needed.

Epidemiological data show that there is an important relationship between intestinal diseases and respiratory tract, since the inflammatory and immunological components of the mucosa are similar in the lung and intestine. The deleterious consequences of events that damage the intestinal mucosa, deregulating the intestinal microbiota, are not restricted to the affected organ. The communication system of the immune pathways promotes systemic repercussions, notably in adjacent organs, such as the lung parenchyma, which can lead to acute pathologies, due to lung inflammation [4–6].

The therapeutic advantages of PBM to treat inflammatory diseases have been shown, including for IBD [7]. Recently, our group showed that PBM treatment promoted structural

✉ Adriana Lino-dos-Santos-Franco
alsantosfranco@gmail.com

¹ Post Graduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, University Nove de Julho (UNINOVE), Rua Vergueiro, 239/245, São Paulo, SP CEP 01504-000, Brazil

² Faculty of Medicine of the University of Brasília, Brasília, Brazil

³ Department of Biological Sciences, University Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, Brazil



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

Adriana Schapochnik¹ · Paula Tatiane Alonso¹ · Vanessa de Souza¹ · Virginia Rodrigues¹ · Kelly Quintela¹ · Marlon da Palma Cruz¹ · Caroline Marcantonio Ferreira² · Rebeca Boltes Cecatto¹ · Maria Fernanda Setubal Destro Rodrigues¹ · Michael R. Hamblin³ · Adriana Lino-dos-Santos-Franco¹

Received: 29 November 2022 / Accepted: 10 March 2023 / Published online: 25 March 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2023

Abstract

Intravascular laser irradiation of blood (ILIB) was developed to treat cardiovascular diseases due to its rheological effects. In its original form, ILIB was applied by an intravenous optical fiber, restricting its application. However, this technique was modified to non-invasive irradiation through the radial artery, now called vascular photobiomodulation (VPBM). Many studies have used both, ILIB and VPBM, to treat lung diseases. It is well established that lung diseases affect more than 300 million people worldwide with high morbidity and mortality rates. In this short critical review, we discuss the potential benefits of photobiomodulation to treat lung diseases using these two approaches. The search was performed in the electronic database of MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) via PubMed. The data search was carried out from 1991 to 2017. We selected a total of 10 clinical studies using either ILIB or VPBM, in addition to 2 experimental studies in animals. The respiratory diseases treated in these studies included bronchitis, asthma, pneumonia, and tuberculosis. The results showed overall beneficial effects on lung diseases, characterized by a reduction in the inflammatory cascade and antioxidant effects, improvement of hemodynamic parameters, the efficiency of gas exchange, and reduction of hospitalization periods. In conclusion, all studies showed promising effects of ILIB in both animal and human studies. The studies did not discuss any disadvantages or contraindications. However, further studies are needed in order to understand the dosimetry, and the literature is lacking in randomized, controlled clinical trials. Thus, this review highlights the need for additional studies using this approach.

Keywords ILIB therapy · Photobiomodulation · Lung diseases · Blood · Humans · Animals

Introduction

Photobiomodulation (PBM) has been used in experimental and clinical studies as a therapy to promote healing and to reduce or prevent damage for over 40 years [1, 2]. This therapy can normalize biological functions either by stimulation of desirable processes or inhibition of damaging processes [3]. PBM

can be applied by directly irradiating the target organ, as well as irradiating the vascular system, either transdermally or intravascularly [4]. Thus, it has become clear that PBM, depending on its application, can induce both local and systemic effects.

In its original form, when PBM was applied inside the blood vessels, it was called ILIB, an acronym for intravascular laser irradiation of the blood. This therapy was developed by Russian scientists in the 1970s to treat cardiovascular diseases due to the rheological effects of laser irradiation [5].

This technique was performed by introducing an intravenous catheter, usually in the radial artery, coupled to an optical fiber that irradiated the blood with a He–Ne laser, at a wavelength of 632 nm (red) [6]. However, the ILIB method was limited because it is an invasive therapy thus restricting its widespread application. Afterwards, ILIB was modified to become a non-invasive and relatively simple method involving transcutaneous irradiation of the radial

✉ Adriana Lino-dos-Santos-Franco
alsantosfranco@gmail.com

¹ Post Graduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, University Nove de Julho (UNINOVE), Rua Vergueiro, 239/245, São Paulo, SP 01504-000, Brazil

² Department of Biological Sciences, University Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, Brazil

³ Laser Research Centre, Faculty of Health Science, University of Johannesburg, Doornfontein 2028, South Africa



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

Virginia Mendes Matias Rodrigues¹ · Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt¹ · Adriana Schapochnik¹ · Vanessa de Souza¹ · Marlon da Palma Cruz¹ · Amílcar Sabino Damazo² · Caroline Marcantonio Ferreira³ · Rebeca Boltes Cecatto¹ · Michael R. Hamblin⁴ · Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues¹ · Adriana Lino-dos-Santos-Franco¹

Received: 31 August 2023 / Accepted: 14 October 2023 / Published online: 28 October 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2023

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic autoimmune disease that impacts the quality of life, but current pharmacological treatments are limited. Photobiomodulation (PBM) is a light-based treatment that can be applied either locally or systemically. Here, we compare the effects of local and vascular PBM (VPBM) in an experimental rat model of UC. Male Wistar rats were induced with UC by rectal instillation of acetic acid and treated with either local abdominal PBM or VPBM to the tail vein using a 660-nm LED. The findings indicated that local PBM but not VPBM reduced intestinal histological scores. Both local and VPBM increased mucus production, decreased mast cell degranulation, and modulated TNF- α and IL-1 β levels in the intestines. Local PBM also affected the expression of the mRNAs for IL-6, TNF- α , and IFN- γ . In conclusion, we suggest that local PBM appears to be more promising than VPBM for treating UC. However, further research is needed to fully understand the mechanisms and to optimize the parameters of PBM for UC treatment.

Keywords Ulcerative colitis · Rat model · Transcutaneous vascular photobiomodulation · Local abdominal photobiomodulation · Cytokines

Introduction

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disorder thought to be autoimmune in nature, characterized by severe gastrointestinal inflammation leading to debilitating symptoms, including abdominal pain, bloody diarrhea, and pronounced loss of body weight [1, 2]. UC often has a significant impact on the quality of life in patients [3].

Dysfunction of the epithelial barrier results in increased intestinal permeability and the recruitment of macrophages, neutrophils, and lymphocytes [4]. These inflammatory cells release various cytokines, including IL-6, IL-1 β , IFN- γ , and TNF- α , which further promote immune cell recruitment and amplify the inflammatory response [5]. While regulatory mechanisms involving endogenous pro-resolution mediators are known to exist, the anti-inflammatory response is insufficient, leading to chronic tissue damage [6].

The treatment goal for UC is to induce remission of active disease and prevent relapse. Common treatment strategies include aminosalicylates, corticosteroids, immunosuppressants, and treatment with biologics. However, these treatments often result in failure [7, 8]. Therefore, there is a need to discover novel therapeutic strategies that can achieve faster remission with reduced costs.

Recently, our research group conducted a groundbreaking study demonstrating the beneficial effects of photobiomodulation (PBM) treatment to the abdomen in an experimental mouse model of colitis induced by dextran sodium sulfate [9]. Building upon our previous findings, we

✉ Adriana Lino-dos-Santos-Franco
alsantosfranco@gmail.com

¹ Post Graduate Program in Biophotonics Medicine, University Nove de Julho (UNINOVE), Rua Vergueiro, 239/245, São Paulo, SP 01504-000, Brazil

² Department of Basic Science in Health, Faculty of Medical Sciences, Federal University of Cuiabá, Cuiabá, Brazil

³ Department of Biological Sciences, University Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, Brazil

⁴ Laser Research Centre, Faculty of Health Science, University of Johannesburg, Doornfontein 2028, South Africa



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

Kelly Cristina Quintela Martins Bitencourt¹ · Adriana Schapochnik¹ · Vanessa de Souza¹ ·
Virgínia Mendes Matias Rodrigues¹ · Marlon Palma da Cruz¹ · Amílcar Sabino Damazo² ·
Caroline Marcantonio Ferreira³ · Rebeca Boltes Cecatto¹ · Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues¹ ·
Adriana Lino-dos-Santos-Franco¹

Received: 19 April 2023 / Accepted: 7 November 2023 / Published online: 22 November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2023

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is an important chronic and multifactorial disease, which alters the colon mucosal with a significant impact on life quality affecting both men and women. The difference between genders causes changes in the inflammatory processes, modulating the development of several diseases. The available drugs to treat UC exhibit limited outcomes and side effects; thus, new therapies are needed. Photobiomodulation (PBM) emerges as potential treatment by modulating the inflammatory process without side effects and low costs. The aim of this study was to evaluate the effects of PBM in acetic acid-induced UC comparing the responses between male and females. For this purpose, male and female Wistar rats (36) were submitted to induction of UC by rectal administration of 10% acetic acid (colitis group) and treated or not with PBM (colitis-PBM group) (LED, 660 nm, 100 mW, 150 s) in three points: right side and left of the ventral surface and in the external anal region. Non-manipulated rats were used as control (basal group). We investigated the disease activity index (DAI score), myeloperoxidase enzyme activity (MPO) and release of cytokines in the intestine homogenates, and histological analysis. PBM reduces DAI score, MPO activity, and mast cell degranulation while increased mucous production in both females and males. Moreover, PBM reduced histopathological score as well as the levels of IL-6 and IL-4 in the bowel only in males. We also showed reduced levels of IL-1beta and TNF-alpha after PBM in both males and females, while the levels of IL-10 and IFN-gamma were increased. In conclusion, despite our study has shown some differences between males and females, PBM attenuated the biomarkers of UC in both genders constituting a potential combined treatment that is non-invasive and low cost.

Keywords Colitis · Photobiomodulation · Sexual dimorphism · Cytokines · Mucous production · Mast cells

Introduction

Ulcerative colitis (UC) is a persistent inflammatory condition marked by severe gastrointestinal inflammation, resulting in distressing symptoms such as abdominal pain, bloody diarrhea, and significant weight loss. [1, 2]. No sex predominance exists in UC [3], and it has a major impact on the individual's quality of life [4]. Epithelial barrier dysfunction results in heightened intestinal permeability and the attraction of macrophages, neutrophils, and lymphocytes [5]. These inflammatory cells release several cytokines including IL-6, IL-1beta,

✉ Adriana Lino-dos-Santos-Franco
alsantosfranco@gmail.com

¹ Post Graduate Program in Biophotonic Medicine, University Nove de Julho (UNINOVE), Rua Vergueiro, 239/245, São Paulo, SP CEP 01504-000, Brazil

² Department of Basic Science in Health, Faculty of Medical Sciences, Federal University of Cuiabá, Cuiabá, Brazil

³ Department of Biological Sciences, University Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, Brazil