



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - BIOFOTÔNICA

PATRÍCIA DE VIVEIROS TAVARES ALVES

**EFEITO COMPARATIVO ENTRE A TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO LOCAL
E VASCULAR NO PROCESSO INFLAMATÓRIO E NO CONTROLE DA DOR, EM
MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE REUMATÓIDE INDUZIDA.**

São Paulo, SP

2025



PATRÍCIA DE VIVEIROS TAVARES ALVES

**EFEITO COMPARATIVO ENTRE A TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO LOCAL
E VASCULAR NA REDUÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E NO CONTROLE
DA DOR, EM MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE REUMATÓIDE INDUZIDA.**

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

**Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Labat
Marcos**

São Paulo, SP

2025

Alves, Patrícia de Viveiros Tavares.

Efeito comparativo entre a terapia de fotobiomodulação local e vascular no processo inflamatório e no controle da dor, em modelo experimental de artrite reumatóide induzida. / Patrícia de Viveiros Tavares Alves. 2025.

66 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2025.

Orientador (a): Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos.

1. Fotobiomodulação transcutânea. 2. Artrite reumatoide. 3. Cartilagem. 4. Alodinia mecânica. 5. Propriedades mecânicas.

I. Marcos, Rodrigo Labat.

II. Título.

CDU 615.831

São Paulo, 14 de novembro de 2025.

TERMO DE APROVAÇÃO

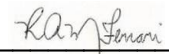
Aluno (a): Patrícia de Viveiros Tavares Alves

Título da Dissertação: “Efeito comparativo entre a terapia de fotobiomodulação local e vascular na redução do processo inflamatório e no controle da dor em modelo experimental de artrite reumatoide induzida”.

Presidente: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS



Membro: PROF^a. DR^a. RAQUEL AGNELLI MESQUITA FERRARI



Membro: PROF. DR. CLEBER FERRARESI



DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação ao meu querido marido, meu alicerce, aquele que incentiva meus sonhos, apoia minhas jornadas, ampara minhas frustrações e comemora as minhas conquistas!

Aos meus filhos amados, Nicolas e Sofia, minha torcida organizada, pela compreensão dos meus muitos finais de semana no computador, por nos verem como exemplo e estarem confiantes no próprio caminho!

Aos meus caros pais, Paulo e Cristina, infinita gratidão por minha educação e por possibilitarem a minha formação e trajetória, obrigada por tanto!

A minha eterna vó Solange (*in memoriam*), em pensar que tudo começou de um sonho...

AGRADECIMENTO

Agradeço ao Deus Pai, Filho e Espírito Santo pelo dom da vida e por ter consciência da sorte de sempre estar cercada de tanto amor e felicidade, obrigada!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos, com quem aprendi tanto, pois, além do vasto conhecimento científico, também possui o dom da generosidade, da palavra e da paciência.

Agradeço aos queridos colegas de pesquisa, que se tornaram amigos, Orlando Romano Neto e Dominique Cavalcanti Mélo, por horas de laboratório, parceria e amizade que construímos, tudo foi melhor com vocês!

Meus agradecimentos a veterinária Nurya Bustamante, responsável pelo Biotério da Uninove, pelo apoio técnico e colaboração ao longo das etapas experimentais, para o bom andamento deste projeto.

Agradeço, ainda, aos professores maravilhosos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Biofotônica da Uninove, que, com excelência e dedicação, contribuíram para minha formação acadêmica e científica.

FINANCIAMENTOS

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE) - PROGRAMA DE BOLSAS PARA A FORMAÇÃO DO PESQUISADOR.

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) – PROCESSO: 88887.841320/2023-00

EPÍGRAFE

“E aqueles que foram vistos dançando foram julgados insanos por aqueles que não podiam escutar a música.” – Friedrich Nietzsche

RESUMO

A Artrite Reumatóide (AR) é classificada como uma doença inflamatória crônica e autoimune com ação degenerativa nas articulações sinoviais, destruindo ossos e cartilagem de forma irreversível. A fotobiomodulação aplicada localmente (FBML) sobre a articulação têm demonstrado efeito positivo no controle do processo inflamatório, prevenindo sua degradação e promovendo o reparo tecidual. Contudo, são escassos os trabalhos que utilizam a fotobiomodulação vascular (FBMV) no tratamento de doenças articulares. O objetivo deste trabalho foi comparar os efeitos entre a terapia por FBML e FBMV no processo inflamatório, através da organização tecidual pela proporção total de colágeno e sua relação com a resistência mecânica no controle da dor por meio da alodinia, em modelo experimental de AR induzida.

Metodologia: 28 Ratos Wistar machos e idosos foram distribuídos em 4 grupos: Sem AR (CTL) ou com AR, sem tratamento (NT) ou tratados com FBM no joelho (FBML) ou em artéria caudal, para efeito sistêmico (FBMV). A AR foi induzida através de injeções de Colágeno Tipo II e adjuvante de Freud, em 3 tempos e locais diferentes (2 intradérmicas em base de cauda e dorso e 1 intra-articular em ambos os joelhos). Os animais foram tratados 2 vezes por semana durante 21 dias com FBM nos seguintes parâmetros (FBML: 808nm; 4 J/cm²; 100mW e FBMV: 808nm; 15 J/cm²; 100mW). A alodinia mecânica foi realizada 1 vez por semana. No final do tratamento, os animais foram eutanasiados e a cartilagem recuperada e armazenada para análises biomecânicas e histológicas. **Resultados:** Todos os grupos com AR reduziram a resistência e a capacidade de deformação ($p < 0,001$) comparada ao CTL. Ambos os grupos FBML e FBMV aumentaram capacidade de deformação comparada ao grupo NT e mantiveram proporção de colágeno total comparado ao grupo CTL ($p < 0,01$). O grupo FBMV foi o único a melhorar a alodinia mecânica em todos os tempos experimentais, enquanto a FBML obteve melhora apenas temporária comparado ao grupo NT ($p < 0,01$). **Conclusão:** A FBM irradiada de forma local ou vascular promove manutenção da proporção de colágeno com melhora da capacidade de deformação tecidual. A FBMV também promove melhora mais consistente da alodinia mecânica.

Palavras Chaves: Fotobiomodulação Transcutânea; Artrite Reumatoide, Cartilagem, Alodinia Mecânica; Propriedades Mecânicas.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is classified as a chronic, autoimmune inflammatory disease with degenerative action on synovial joints, irreversibly destroying bone and cartilage. Locally applied photobiomodulation (LPBM) on the joint has shown a positive effect in controlling the inflammatory process, preventing its degradation and promoting tissue repair. However, there is a scarcity of studies using vascular photobiomodulation (VPBM) in the treatment of joint diseases. The aim of this study was to compare the effects of LPBM and VPBM therapy on the inflammatory process, through tissue organization by the total proportion of collagen and its relationship with mechanical resistance in pain control through allodynia, in an experimental model of induced RA. Methodology: 28 male, aged Wistar rats were distributed into 4 groups: Without RA (CTL) or with RA, without treatment (NT) or treated with PBM in the knee (LPBM) or in the caudal artery, for systemic effect (VPBM). The RA was induced through injections of Type II Collagen and Freud's adjuvant, at 3 different times and locations (2 intradermal injections at the base of the tail and back, and 1 intra-articular injection in both knees). The animals were treated twice a week for 21 days with PBM at the following parameters, LPBM: 808nm; 4 J/cm²; 100mW and VPBM: 808nm; 15 J/cm²; 100mW). Mechanical allodynia was performed once a week. At the end of treatment, the animals were euthanized, and the cartilage was recovered and stored for biomechanical and histological analyses. Results: All RA groups showed reduced resistance and deformation capacity ($p < 0.001$) compared to the conventional collagen group (CTL). Both the LPBM and VPBM groups increased deformation capacity compared to the non-tissue (NT) group and maintained the proportion of total collagen compared to the CTL group ($p < 0.01$). The VPBM group was the only one to show improvement in mechanical allodynia at all experimental times, while the LPBM group showed only temporary improvement compared to the NT group ($p < 0.01$). Conclusion: Locally or vascularly irradiated PBM promotes maintenance of collagen ratio with improved tissue deformation capacity. VPBM also promotes a more consistent improvement in mechanical allodynia.

Keywords: Transcutaneous Photobiomodulation; Rheumatoid Arthritis; Cartilage; Mechanical Allodynia; Mechanical Properties.

DESTAQUES

- Protocolo do modelo experimental animal de artrite reumatóide induzida por colágeno Tipo II.
- Protocolo de tratamento por fotobiomodulação Local e Vascular para controle da dor e processo inflamatório em modelo experimental de artrite reumatóide.
- Avaliação e comparação da Fotobiomodulação Local e Vascular no controle da dor em modelo experimental de artrite reumatóide, através de alodinia mecânica.
- Avaliação e comparação da Fotobiomodulação Local e Vascular no processo inflamatório em modelo experimental de artrite reumatóide, através de análise mecânica de resistência e deformação da cartilagem.
- Avaliação e comparação da quantidade de colágeno do tratamento de artrite reumatóide induzida por Fotobiomodulação Local e Vascular.

HIGHLIGHTS

- Protocol for an experimental animal model of rheumatoid arthritis induced by Type II collagen.
- Treatment protocol using local and vascular photobiomodulation to control pain and inflammation in an experimental model of rheumatoid arthritis.
- Evaluation and comparison of local and vascular photobiomodulation in pain control in an experimental model of rheumatoid arthritis, using mechanical allodynia.
- Evaluation and comparison of local and vascular photobiomodulation in the inflammatory process in an experimental model of rheumatoid arthritis, using mechanical analysis of cartilage resistance and deformation.
- Evaluation and comparison of the amount of collagen in the treatment of rheumatoid arthritis induced by local and vascular photobiomodulation.

RESUMO PARA LEIGOS

A artrite reumatoide é uma doença crônica em que o sistema imunológico, que normalmente protege o corpo, passa a atacar as próprias articulações. Isso causa inflamação, dor, inchaço e dificuldade para se mover, podendo levar à destruição dos ossos e cartilagens. A doença afeta cerca de 2% da população mundial e ainda não tem causa totalmente conhecida, embora fatores genéticos e ambientais estejam envolvidos. O tratamento costuma incluir medicamentos que reduzem a inflamação e controlam o sistema imunológico, mas seu uso prolongado pode causar efeitos colaterais.

Uma alternativa complementar é a fotobiomodulação (ou laserterapia de baixa intensidade), que utiliza luz para diminuir a inflamação e estimular a recuperação dos tecidos. Essa técnica pode ser aplicada diretamente nas articulações ou em vasos sanguíneos. Nosso estudo apresenta resultados promissores do tratamento com laser na redução da dor e melhora da qualidade de vida, embora ainda sejam necessários mais estudos para comparar as diferentes formas de aplicação e confirmar sua eficácia no tratamento da artrite reumatoide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01.	Desenho do trabalho.....	33
Figura 02.	Esquema de Artrite Induzida por Colágeno - CIA.....	34
Figura 03.	Evolução da Artrite Reumatóide.....	35
Figura 04.	Fluxograma.....	36
Figura 05.	Laser Therapy EC - DMC.....	37
Figura 06.	Linha Temporal de Tratamento por FBM.....	37
Figura 07.	Aplicação de fotobiomodulação local.....	38
Figura 08.	Aplicação de fotobiomodulação vascular.....	39
Figura 09.	Teste de Alodinia Mecânica.....	40
Figura 10.	Teste de Compressão Universal.....	42
Figura 11.	Gráfico do resultado da Alodinia Mecânica.....	44
Figura 12.	Gráfico do resultado da Força Máxima (Fmax).....	45
Figura 13.	Gráfico do resultado da Deformação Máxima (Dmax).....	46
Figura 14.	Gráfico da relação entre Fmax e Dmax no momento da ruptura...	47
Figura 15.	Gráfico da Proporção de Colágeno Total.....	48
Figura 16.	Imagens representativas da cartilagem coradas com <i>Picrosirius</i> ..	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Escore Clínico de sinais artríticos.....	35
Tabela 2.	Distribuição dos grupos experimentais.....	36
Tabela 3.	Tabela de parâmetros dosimétricos da fotobiomodulação local.	38
Tabela 4.	Tabela de parâmetros dosimétricos da fotobiomodulação vascular.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACPA	Proteína Anticitrulinada
ACR	American College of Rheumatology
AINES	Anti-inflamatórios Não Esteroidais
AR	Artrite Reumatóide
AR+FBML	Artrite Reumatóide tratado com Fotobiomodulação Local
AR+FBMV	Artrite Reumatóide tratado com Fotobiomodulação Vascular
ATP	Adenosina Trifosfato
CA	Cartilagem Articular
CFA	Adjuvante Completo de Freund
CIA	Modelo de Artrite Induzida por Colágeno
CIC	Complexos Imunes Circulantes
COX	Ciclooxigenase
CTL	Controle
DAI	Doença Autoimune
DMARD	Drogas Modificadoras da Doença
Dmax	Deformação máxima
FBM	Fotobiomodulação
FBML	Fotobiomodulação Local
FBMV	Fotobiomodulação Vascular
FLS	Fibroblastos-Like-Synoviocytes
Fmax	Força máxima
FR	Fator Reumatóide
IASP	The International Association for the Study of Pain

ILIB	Intravenous Laser Irradiation of Blood
J	Joules
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MEC	Matrix Extracelular
MMP	Metaloproteinase de Matriz
MTX	Metotrexano
mW	Miliwatts
nm	Nanometros
NT	Não Tratado
OPG	Osteoprotegerina
PBM	Terapia de Laser de Baixa Potência
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand
SD	Desvio Padrão
SNC	Sistema Nervoso Central
TIMP	Inibidores Teciduais da Metaloproteinase
UNINOVE	Universidade Nove de Julho

SUMÁRIO

1.	CONTEXTUALIZAÇÃO.....	21
1.1.	Artrite Reumatóide (AR).....	21
1.2.	Cartilagem Articular.....	22
1.2.1.	Processo de Degradação da Cartilagem.....	22
1.3.	Sinais e Sintomas da Artrite Reumatoide.....	23
1.4.	Processo doloroso na Artrite Reumatoide.....	24
1.4.1.	Mecanismos Periféricos da Dor.....	24
1.4.2.	Mecanismos Centrais da Dor.....	24
1.4.3.	Dor na AR.....	24
1.5.	Tratamentos na AR.....	25
1.5.1.	Terapia por Fotobiomodulação no Tratamento da Artrite Reumatoide.....	26
1.5.2.	Terapia por Fotobiomodulação Local no Tratamento da Artrite Reumatoide.....	26
1.5.3.	Terapia por Fotobiomodulação Vascular no Tratamento da AR.....	28
2.	JUSTIFICATIVA.....	30
3.	HIPÓTESE DO TRABALHO.....	31
4.	OBJETIVOS.....	32
4.1.	Objetivo Geral.....	32
4.2.	Objetivos Específicos.....	32
5.	METODOLOGIA	33

5.1.	Animais e Fatores Éticos.....	33
5.2.	Desenho do Trabalho.....	33
5.3.	Modelo de Artrite Reumatóide Induzida por Colágeno (CIA).....	34
5.4.	Evolução da Artrite Reumatóide CIA.....	35
5.5.	Grupos Experimentais.....	36
5.6.	Fluxograma.....	36
5.7.	Tratamento por Fotobiomodulação.....	37
5.7.1.	Tratamento por Fotobiomodulação Local.....	38
5.7.2.	Tratamento por Fotobiomodulação Vascular.....	39
5.8.	Eutanásia e Procedimento de Coleta.....	40
5.9.	Análises.....	40
5.9.1.	Avaliação da Alodinia Mecânica.....	40
5.9.2.	Avaliação das Propriedades Biomecânicas da Cartilagem.....	41
5.9.3.	Avaliação Histológica de Colágeno por Microscopia Óptica.....	42
5.9.4.	Análise Estatística.....	42
6.	RESULTADOS.....	43
6.1.	Teste funcional – Alodinia Mecânica.....	43
6.2.	Teste funcional – Propriedades Mecânicas da Cartilagem.....	45
6.3.	Quantificação de Colágeno em Lâminas Coradas por <i>Picrosirius</i> ...	48
6.4.	Imagens Representativas da Cartilagem Coradas com <i>Picrosirius</i> .	49
7.	DISCUSSÃO.....	50

8.	CONCLUSÃO.....	54
9.	REFERÊNCIAS.....	55
10.	ANEXOS.....	64

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1. Artrite reumatoide

A artrite reumatóide (AR) é uma forma preeminente da artrite (inflamação articular), que se apresenta de forma crônica, pela presença de hiperplasia sinovial anormal e a presença ativa de neutrófilos, células T e B, essa sinovite inflamatória indiferenciada prolifera, devido a presença de autoanticorpos, causando um mau comportamento do sistema imunológico. A autoimunidade e a carga inflamatória sistêmica estimulam o avanço destrutivo da doença, que acomete ossos e cartilagens de forma irreversível, inicia-se com uma articulação, podendo acometer até quase todas as articulações do corpo, causando dor, degeneração das articulações sinoviais, incapacidade e mortalidade prévia.^{1 - 3}

Em 1987 o “American College of Rheumatology” (ACR) definiu os critérios da AR e em 2010 foi publicado um estudo mundial da doença no “Global Burden of Disease”, onde sua prevalência continua abrangendo cerca de 1 a 2% da população na faixa de 30 a 50 anos de idade e duas vezes mais em mulheres. A hereditariedade na AR aumenta seu risco em três a cinco vezes e sua soropositividade é estimada em torno de 40 a 65% dos casos. Inicialmente seus sintomas podem se apresentar como calor nos dedos, subluxação, inchaço e perda de mobilidade nas articulações; mas, em alguns casos, podem ser assintomáticas. Por essas características a AR é associada ao decréscimo da qualidade e até mesmo da expectativa de vida.^{3 - 5}

Ainda não se compreende a fisiologia exata da AR por apresentar características patológicas heterogêneas, mas sabe-se que existe uma fase que antecede a doença (pré-articular), onde autoanticorpos, tais como Fator Reumatoide (FR) e proteína anticitrulinada (ACPAs), testado como antipeptídeo citrulinado cíclico, são gerados na corrente sanguínea atuando contra os próprios tecidos. Na sua fase de transição ocorre a entrada do autoantígeno e anticorpo IgG, que se liga ao receptor FC gama (FcRg) nas células sentinelas e ativa a resposta autoimune. Sabe-se que essa hiperplasia celular (sinovite, macrófagos e células autoimunes), causa o aumento da massa celular denominada Pannus, que é projetada, invadindo e destruindo a CA (Cartilagem Articular).^{5 - 7}

A AR é uma DAI (doença autoimune) sistêmica comum acomete 1% da população mundial, é acentuada por fatores imunológicos, hormonais e ambientais que se somam a predisposição genética, acentuando em 60% o desenvolvimento da AR. São vários os fatores de risco, mas esses podem ser divididos em dois grupos, os não modificáveis (histórico familiar, herdabilidade, genótipos de histocompatibilidade) e os modificáveis (tabagismo, sobrepeso, consumo de álcool e dieta baixa em nutrientes).^{6, 8, 9}

1.2. Cartilagem articular (CA)

A CA é um tecido aneural e avascular, extremamente organizado e de superfície lisa, que favorece a mobilidade e a propagação de carga. É formada por condrócitos e cercada de uma densa matriz extracelular, constituída de água, agreganos e colágeno Tipo II. A CA é formada por três camadas não mineralizadas (superficial, de transição e profunda), já a sua quarta camada (zona calcificada), possui mineralização, mas apenas na matriz dos condrócitos. Devido a essa constituição sua reparação e reconstituição são difíceis, pois as lesões condrais não cicatrizam voluntariamente, degeneram e acabam por ser substituídas por uma fibrocartilagem inferior (Tipo I).^{10, 11}

1.2.1 Processo de degradação da cartilagem

A remodelação óssea é um dinamismo natural, enquanto os osteoclastos ajustam a homeostase mineral, através de reabsorção óssea, liberando na corrente sanguínea o cálcio e outros minerais dos ossos cortical e trabecular, os osteoblastos, através de aposição, recuperam a perda óssea. O equilíbrio do conteúdo mineral é controlada pela osteoprotegerina (OPG) que inibe a osteoclastogênese complementar ao ligante RANKL e bloqueia a via dos osteoclastos, inativando o RANKL. Na AR a OPG diminui, enquanto o RANKL ativa a diferenciação contínua dos osteoclastos, que se ligam à matriz, secretam ácido clorídrico e uma enzima proteolítica catepsina k que degrada a osteonectina e agregano, resultando na destruição crônica das articulações.^{5, 12}

A CA é composta basicamente de matriz extracelular (MEC), formada principalmente de colágeno tipo II, e dos colágenos tipo I e III nos tecidos moles periarticulares, proteoglicanos e agreganos, na AR os macrófagos apresentam antígenos produzidos pelas células T auxiliares CD4, que são

ativados pelas citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1, e IL-6), exacerbam na síntese de osteoclastogênese e estimulam as células fibroblásticas sinoviais a produzirem enzimas metaloproteinases de matriz (MMPs) ou matricinas. As MMPs são endopeptidases dependentes de cálcio e zinco e 24 tipos já foram identificados como biomarcadores específicos de degradação de cartilagem na AR. A homeostase de MMPs da CA é regulada negativamente e inibida pelos inibidores teciduais da Metaloproteinase (TIMPs).^{5, 10, 12, 13}

1.3. Sintomas da artrite reumatóide

A AR pode ter início em qualquer idade, com prevalência da 4ª a 5ª década de vida e por uma DAI sinovial inflamatória, crônica e progressiva que pode se apresentar de forma branda ou agressiva no avanço da deformação das articulações, por erosão de ossos e cartilagens, podendo lesionar irreversivelmente tendões e ligamentos. Acomete grandes e pequenas articulações, iniciando geralmente pelas sinoviais periféricas, como punho, metacarpo, falange, tornozelo; grandes articulações como ombro, cotovelo, quadris e joelho e demais articulações sinoviais como a temporomandibular.^{8, 14}

Para fins de diagnóstico a ACR estabeleceu 7 critérios de diretrizes para AR e dentre esses, 4 devem existir a pelo menos 6 semanas: A rigidez articular matinal por mais de 60 minutos, artrite de pelo menos três articulações, com derrame ou edema em tecido mole, artrites sinoviais periféricas, artrite simétrica e os outros 3, nódulos reumatóides, FR sérico e alterações degenerativas ósseas em radiografias. A ACR acordando com a classificação do The American Rheumatism Association de 1987, é necessário 4 dos 7 critérios para o diagnóstico da doença, porém apresentando 2 ou 3 desses critérios a possibilidade de desenvolvimento da doença não é excluída.^{3, 4, 15 - 17}

As articulações afetadas pela AR geralmente caracterizam-se como edemaciadas e dolorosas, podendo apresentar calor, rubor, mobilidade reduzida ou disfuncional. A inflamação crônica pode causar deformações articulares típicas, tais como o “dedo em botoeira”, também conhecido como “pescoço de cisne”. Manifestações clínicas extra-articulares acometem 50% dos doentes, sendo a síndrome de Sjögren a mais comum, seguida de nódulos e vasculite. Possuem maior risco de infecções, osteoporose, câncer, doenças cardíacas e respiratórias, além da fadiga e da perda de peso, que impacta a

vida diária, social e profissional, levando 80% dos pacientes a incapacidade em 20 anos e mortalidade maior que a população em geral.^{8, 14, 18}

1.4. Processo doloroso na artrite reumatóide

A dor é uma experiência pessoal, complexa e multifatorial que possui faceta sensorial e emocional que podem influenciar na sua percepção. O SNC usa a nocicepção para reconhecer e codificação qualquer estímulo tecidual nocivo e reagir em forma de dor, mas a sensação dolorosa é algo individual, afetada por associações de vivências passadas, condições psicossociais em geral e o sono. Existem 3 tipos de dor, a nociceptiva (dano ou ameaça de dano não neural), a dor neuropática (lesões ou doenças que afetam o sistema nervoso somatossensorial) e a dor nociplástica ou mista que surge da alteração da percepção da dor nociceptiva e neuropática, essa é sentida, mesmo sem dano eminente do tecido, ou do sistema somatossensorial.¹⁹

1.4.1. Mecanismos periféricos da dor.

Percepções de lesões nocivas são percebidas e conduzidas através do nervo periférico até a medula espinhal, podem ser através das fibras A δ que transmitem a 1ª, ou dor rápida ou através das fibras C que transmitem a 2ª ou dor lenta que geralmente são dores mais profundas, predominantes da medula espinhal.²⁰

1.4.2. Mecanismos centrais da dor

É no corno dorsal da medula espinhal que a percepção da dor é modulada e os sinais nociceptivos são emitidos por via ascendente da dor até o tronco cerebral, hipotálamo, tálamo e córtex cerebral. O córtex somatossensorial fornece informações como intensidade e localização do estímulo nocivo. Neurônios de projeção (ex: amígdala) experienciam a dor e vias descendentes inibitórias são ativadas para modulação da dor.²⁰

1.4.3. Dor na artrite reumatóide

Os avanços inflamatórios nocivos da AR sensibilizam os nociceptores na sinóvia, cápsula articular, ligamentos, osso subcondral, bainhas, tendões e músculos. Esse aumento de estímulo promove a proliferação de nervos

terminais, logo os neuroreceptores liberam mais neuropeptídeos moduladores de dor, esse ciclo se repetindo de forma crônica têm seu potencial de ação diminuído levando ao aumento de sensibilidade e hiperalgesia. O SNC tem um papel importante na modulação da dor e é provável que ele tenha um papel no desenvolvimento e na manutenção da dor. Na AR essas vias podem estar prejudicadas, contribuindo para a dor crônica.²⁰

1.5. Tratamentos na artrite reumatóide

Antigamente não se pensava que a AR tivesse um mal prognóstico, seus sintomas eram controlados, com a esperança da regressão ou estabilidade da doença. Atualmente, em todo o mundo, os custos relacionados a AR são muito elevados para os países e se contabilizarmos o impacto socioeconômico da limitação da capacidade funcional e laboral dos indivíduos, essa conta fica ainda maior. O diagnóstico precoce na fase de AR inicial (primeiros 12 meses) é conhecido como “janela de oportunidade terapêutica” e início imediato do tratamento são fundamentais para o controle do avanço da doença, mas apesar dos avanços (clínico, laboratorial e imagem), esses ainda têm um valor restrito no diagnóstico e prognóstico.^{8,15, 18}

O tratamento vai variar proporcionalmente de acordo com o estágio, gravidade e atividade da doença. A estratégia de tratamento, segundo a Diretrizes de Tratamento Farmacológico da Artrite Reumatoide do ACR de 2021 é “tratar para atingir o alvo”, ou seja, controlar a inflamação, evitar o avanço da doença, prevenir sequelas estruturais, atenuar a dor e as comorbidades. A remissão da doença, apesar de almeja, raramente é alcançada. Diversos tipos de terapias são considerados, inclusive a FBM e várias terapias medicamentosas são utilizadas de forma isolada ou associada.^{9, 14, 15, 21}

Drogas Modificadoras Da Doença (DMARD) são drogas antirreumáticas de moléculas pequenas que visam a remissão da doença ou diminuir sua atividade, deve ser usado durante a janela de oportunidade, para melhor chance de resposta ao tratamento. O preferido inicialmente é o Metotrexato (MTX), mas existe outras alternativas (hidroxicloroquina, ciclosporina etc.), que também podem ser usados isolados ou associados ao MTX.^{5, 9, 18, 20}

DMARD biológicas são antirreumáticos de moléculas grandes e bloqueadoras de TNF, temos como exemplo (Golimumbe, infliximabe etc.) que também podem ser usadas em associação ao MTX.^{5, 9, 18, 21}

Glicocorticoides são comumente prescritos, sua ação imunossupressora e anti-inflamatória, alivia a dor a curto prazo e atividade da AR. É recomendado dosagens mais baixas devido a evidências dos seus efeitos adversos. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e paracetamol, inibidores seletivos da COX I e COX II, são amplamente utilizados na dor e rigidez matinal.^{5, 9, 18, 21}

Existem trabalhos com o uso de antidepressivos nos quais não houve evidências; Neuro moduladores (canabidiol, capsaicina, Nefropam), contudo, se concluiu que poderiam ser considerados como tratamento adicional; relaxantes musculares foram associados a sonolência; Tratamentos cirúrgicos foram considerados, mas podem reativar a doença e risco de infecções; FBM foi considerada como “outras terapias com baixo grau de recomendação”.^{9, 21}

1.5.1. Terapia por fotobiomodulação

Laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) é a amplificação da luz por emissão estimulada de radiação que advém da “Teoria da Emissão Estimulada” de Einstein em 1917, precursora dos estudos das ações terapêuticas do laser. O laser é uma luz e a luz é uma onda eletromagnética gerada por uma emissão de átomos excitados por um pulso elétrico, que através de reflexão provoca a emissão de fótons similares, com mesmo comprimento de onda, direção e energia. Pode-se obter a geração de luz laser por meios ativos sólido, líquido ou gasoso, diferentes parâmetros e penetração.^{22, 23}

Na FBM é a aplicação da luz em diversos tratamentos, possui o mecanismo de ação a nível celular, a célula absorve os fótons pelo citocromo C oxidase presente na membrana interna da mitocôndria e, e, através de reações enzimáticas liberam serotonina, histamina e bradicinina, regula o potencial elétrico intracelular, diminui o stress oxidativo e aumenta a síntese de adenosina trifosfato (ATP). É essa biomodulação que promove cicatrização, regeneração de tecidos, estímulo da síntese de colágeno, equilíbrio das citocinas inflamatórias, MMP e promove neoformação circulatória. A terapia por

irradiação com laser de baixa potência (FBM) é considerada segura no tratamento de diversas lesões e doenças.^{24 – 27}

1.5.2. Terapia por fotobiomodulação local (FBML) no tratamento da artrite reumatóide

A terapia de FBM para tratamento de AR iniciou com o trabalho de Alves, um estudo não invasivo em camundongos, de AR induzida por colágeno, sendo concluído que a FBML, com comprimento de onda 780nm foi capaz de biomodular os efeitos anti-inflamatórios e da área de reabsorção em qualquer fase do tratamento.²⁶

Trabalhos sobre lesões musculares, tendinopatias, artrites etc., vêm demonstrando efeitos positivos na modulação inflamatória de modelos de animais de AR induzidos, com parâmetros que mostram redução da dor e melhora da mobilidade articular acometida.^{25 - 31}

Vários estudos veem sendo realizados com o modelo de AR induzido por adjuvante completo de Freund (CFA), como esse de Alves et al, que avaliou aspectos histológicos do efeito da aplicação do PBM de 780 nm, 7.7 J/cm² (22 mW), nos joelhos de ratos Wistar e observou o efeito da terapia em diferentes estágios, tanto iniciais, quanto tardios da progressão da doença, concluindo que houve melhora da condição do infiltrado inflamatório e na distribuição das células de remodelação óssea.²⁶

Já no trabalho de Hsieh et al, foi obtido o resultando com laser GaAIs de 780 nm a 4,5 J/cm² (30 mW) e 72 J/cm² (80 mW) diariamente por 10 dias, mostrando que reduziu significativamente a infiltração de células inflamatórias e expressões de imunorreatividades, além de resultar em mais células apoptóticas positivas na membrana sinovial. Nenhuma alteração significativa foi observada bioquimicamente e inflamação em animais artríticos tratados com 72 J/cm², concluindo que PBM com baixa fluência é altamente eficaz na redução da inflamação em locais de lesão, diminuindo o número de sinoviócitos, células inflamatórias e mediadores no modelo artrítico induzido (CFA).²⁷

Dos Santos et al analisou que os efeitos da PBM (808nm; 2 J/cm²; 50mW), na organização celular e das propriedades mecânicas da cartilagem de joelho em um modelo animal experimental AR CFA e concluído que a FBM promoveu melhora nas características morfológicas e funcionais, reduzindo o

impacto na resistência da cartilagem e na organização tecidual. com ausência de efeitos colaterais conhecidos.²⁸

Ao verificar nesse outro estudo os efeitos da PBM (808nm; 2 J/cm² e 4 J/cm²; 50mW) associada ao exercício físico sobre o estresse oxidativo em um modelo animal experimental AR CFA na expressão de proteínas, Dos Santos et al concluíram que o exercício físico associado a FBML diminui a peroxidação lipídica e aumenta a atividade antioxidante.²⁹

Fernandes et al avaliação dos efeitos da terapia de FBM (808nm; 2 J/cm²; 100mW), sobre a atividade dos condrócitos e cartilagem articular em modelo experimental de AR induzido “in vivo” e “in vitro”. A FBM promoveu melhora nas características funcionais e bioquímicas, reduzindo o impacto na resistência da cartilagem e diminuindo a expressão de MMPs.³⁰

Retamieiro et al analisou os efeitos sistêmicos da terapia de FBM (660nm, 5 J/cm² e 30 mW), na articulação do tornozelo durante o exercício de subir escadas, em ratos Wistar submetidos ao protocolo experimental de AR CFA e foi concluído que o grupo terapia associada ao PBM restauraram a funcionalidade.³¹

1.5.3. Terapia por fotobiomodulação vascular no tratamento da artrite reumatóide

A Fotobiomodulação intravascular, muito conhecida como ILIB “Intravenous Laser Irradiation of Blood”, consiste na irradiação intravascular do sangue com PBM, foi estudada inicialmente na Rússia (1970) com laser de He-Ne, esse método era invasivo, por meio de fibra ótica inserida em veia do antebraço que irradiava o sangue da artéria radial de forma direta e ininterrupta, com a intenção de se obter um sangue mais rico em oxigênio e células regenerativas.³²

Seus achados verificaram que o a aplicação do ILIB exercia um efeito fisiológico benéfico associado aos componentes do sangue, como lipídios, plaquetas e hemácias, o mecanismo de ação do ILIB é estimular a produção de enzima superóxido dismutase, que é o elemento fundamental do sistema antioxidante endógeno, ou seja, a irradiação vascular proporcionava homeostase ao sistema, quebrando o mecanismo de formação dos radicais livres que circulavam no sangue. ^{32 - 33}

Em 1985, Tupikin conduziu estudos utilizando ILIB usando laser de hélio-neônio em 10 pacientes com artrite reumatóide, combinando o tratamento com irradiação externa das articulações inflamadas. Todos os pacientes apresentaram efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores significativos, sem ocorrência de efeitos adversos. Além disso, em 80% dos casos, os níveis de FR no sangue reduziram para 1:20.³⁴

Em 1994, Zvereva, que já atuava em pesquisas sobre artrite reumatóide, conduziu um estudo randomizado, controlado por placebo, utilizando ILIB de hélio-neônio em 150 pacientes. Foi concluído que a irradiação diária é mais benéfica, especialmente para mulheres em estágio inicial da doença, com FR e atividade inflamatória baixa. No entanto, o tratamento pode provocar efeitos adversos dependentes da dose, podendo agravar a AR.³⁵

Em 2001, Timofeyev conduziu um estudo com 75 pacientes com AR, dividido em três grupos conforme os diferentes níveis de complexos imunes circulantes (CIC), células T e B. O objetivo foi investigar o efeito imuno corretivo do tratamento com ILIB hélio-neônio, observaram que os resultados foram mais favoráveis nos pacientes que apresentavam baixos níveis de CIC e de células T e B, concluindo que o ILIB pode ter bons resultados a curto prazo.³⁶

A administração da VPMB já é realizada de maneira não invasiva, seja por via intranasal, ou, como neste estudo, por via transcutânea em regiões de grandes artérias ou vasos. De acordo com Meneguzzo, o tempo de aplicação em humanos é de aproximadamente 30 minutos, uma a duas vezes por semana, durante um período de até 10 semanas, dependendo da enfermidade e relata desconhecer efeitos colaterais do ILIB, mas recomenda que o método seja evitado em pós-operatório, gestantes, tumores e situações desconhecidas.³⁷

Os efeitos da FBMV atuam modulando citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6, ao mesmo tempo em que eleva os níveis de mediadores anti-inflamatórios, como a IL-10, e aperfeiçoa a função mitocondrial. Esses efeitos promovem uma melhora sistêmica, resultando em redução da dor e aumento da qualidade de vida em pacientes crônicos. Diversos estudos já demonstraram os benefícios anti-inflamatórios, antioxidantes, analgésicos, além da prevenção e tratamento de várias doenças crônicas e autoimunes, como hipertensão, diabetes, doenças respiratórias e cardiovasculares. No

entanto, ainda não há consenso na literatura quanto aos protocolos ideais de aplicação, incluindo parâmetros como comprimento de onda e frequência.^{38 - 39}

2. JUSTIFICATIVA

No panorama atual da AR, onde o tratamento conservador (medicamentoso), não atua na remissão clínica da doença, não apresenta resultados totalmente satisfatórios e ainda produz efeitos adversos indesejáveis, a terapia por fotobiomodulação seria um tratamento não-invasivo e sem efeitos colaterais quando utilizados nos parâmetros indicados, com resultados positivos relatados pela literatura, no controle de citocinas inflamatórias, em diversos tipos de tecido e modelos experimentais, obtidos por meio do laser de baixa intensidade.

Apesar da terapia por fotobiomodulação local apresentar efeitos positivos no tratamento de doenças articulares, os mecanismos relacionados às alterações biomecânicas são pouco conhecidos. Até o momento, não foram publicados trabalhos que avalie os efeitos da terapia por fotobiomodulação vascular, sua ação sistêmica, ou sua comparação com a aplicação local, no processo de reparo articular, avaliando aspectos histológicos e biomecânicos da cartilagem afetada, em modelo experimental de AR.

3. HIPÓTESE DO TRABALHO

H0 - Não existe diferença entre a terapia de fotobiomodulação local e vascular na redução do processo inflamatório e no controle da dor no modelo de artrite reumatóide induzida.

H1 - Existe diferença entre a terapia de fotobiomodulação local e vascular na redução do processo inflamatório e no controle da dor no modelo de artrite reumatóide induzida.

4.OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da terapia por fotobiomodulação aplicada no joelho (FBML) ou sobre a artéria caudal (FBMV) de ratos com artrite reumatóide induzida, seus efeitos sobre a dor e propriedades mecânicas da cartilagem incluindo a quantidade e distribuição de colágeno.

4.2. Objetivos Específicos

Avaliar as alterações funcionais no modelo de artrite reumatóide induzida por colágeno tipo II e Adjuvante de Freund, comparando o tratamento com fotobiomodulação local (FBML) e vascular (FBMV):

- Avaliar a sensibilidade a dor na pata de ratos com AR induzida, a partir do teste de alodinia mecânica;
- Avaliar a resistência da cartilagem quanto a força máxima (Fmax) e a deformação máxima (Dmax) no momento da ruptura da cartilagem, a partir de ensaio mecânico de compressão da cartilagem,
- Avaliar a área de colágeno total na cartilagem, a partir de lâminas coradas com *Picrosirius*.

5. METODOLOGIA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa Animal (NA 1021240821) da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e os procedimentos foram realizados conforme as diretrizes do Conselho Nacional para o Controle Experimentação Animal (CONCEA) e Check-list experimentação animal - Arrive

5.1. Animais e fatores éticos

Foram utilizados 28 ratos Wistar “Rattus Norvegicus Albinus”, machos com idade aproximada de 16 meses, peso médio de 530 gramas, provenientes do Biotério da Universidade Nove de Julho (UNINOVE), mantidos em condições controladas de temperatura e luminosidade e com ração e água em “ad libitum”.

5.2. Desenho do trabalho

Foi realizada a indução de doença artrite reumatóide em três tempos distintos. Foram realizados 2 tipos de tratamentos por fotobiomodulação (FBML e FBMV) pelo mesmo tempo, após período de tratamento ocorreu a eutanásia e coleta de material para análise mecânica, funcional, morfológica, receptores relacionados ao processo doloroso, além de marcadores inflamatórios e de degradação da cartilagem. As etapas foram descritas detalhadamente ao longo do trabalho e na Figura 1.

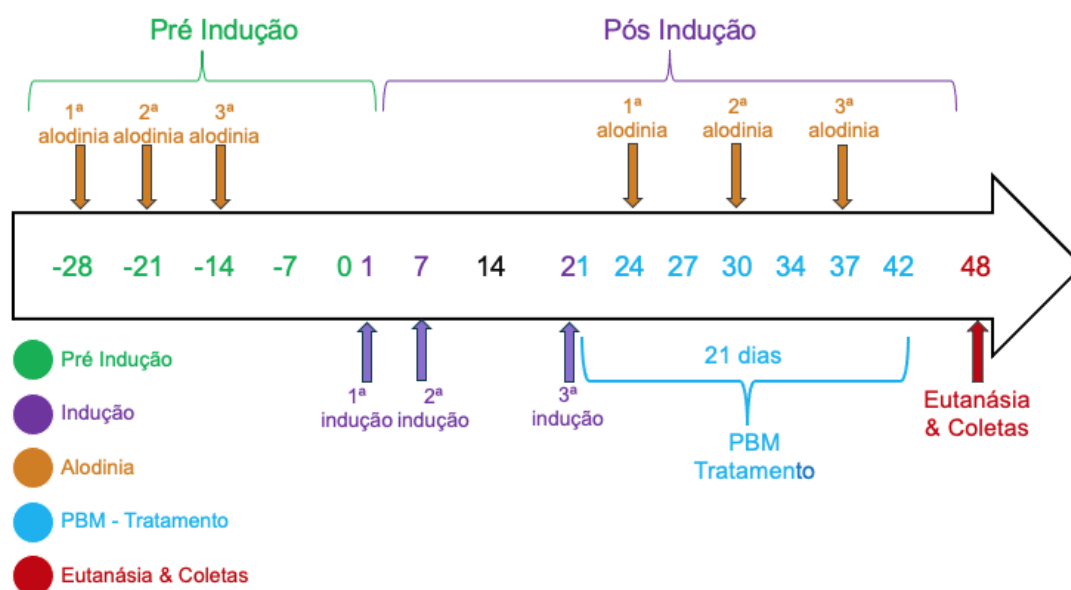


Figura 01: Desenho do trabalho.

5.3. Modelo de artrite induzida por colágeno (CIA)

O modelo CIA já foi utilizado em estudos anteriores e se assemelha em muitos aspectos a AR, desenvolvendo uma poliartrite crônica e destrutiva.^{27, 28, 30, 31, 41, 42, 43} Feito com um Colágeno Tipo II de frango a 4 mg/mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) que ao ser dissolvido em ácido acético a 0,05M, permanece em 4°C “overnight” em âmbito estéril e no dia seguinte, é emulsionado com adjuvante completo de Freund (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

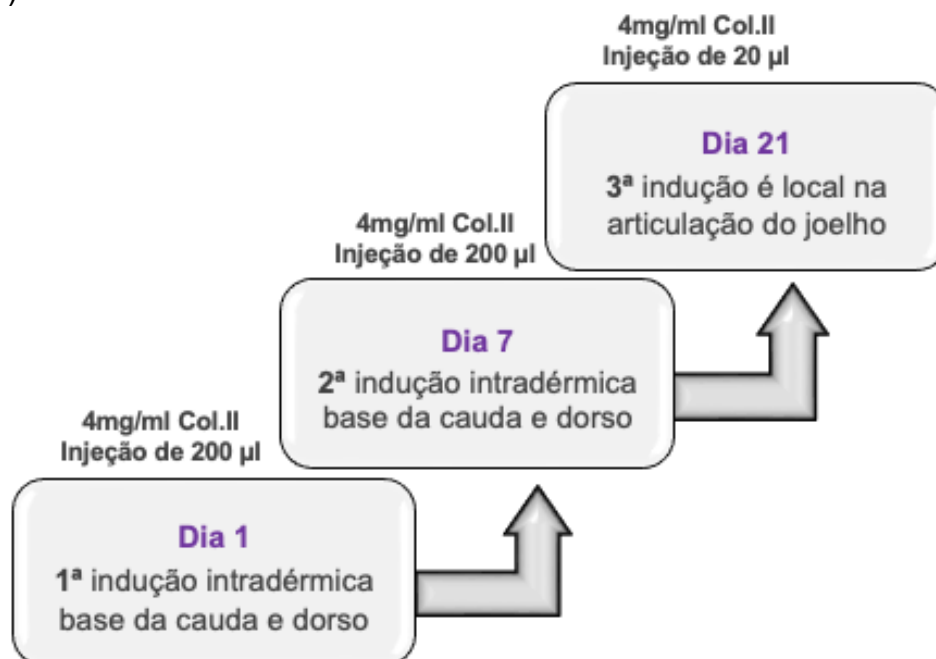


Figura 02: Esquema de Artrite Induzida por Colágeno – CIA.

Conforme o esquema de indução da CIA (Figura 02) a 1ª e 2ª induções foram iguais, cada animal recebeu 2 injeções intradérmica de 100 µg por via subcutânea, nas regiões de base de cauda e dorso, nos dias 1 (D1) e no dia 7 (D7). No dia 21 (D21), 21 dias após 1ª indução, foi realizada a 3ª infiltração e para essa os ratos foram previamente anestesiados com uma mistura de Quetamina (7%) e Xilazina (0,3%) em uma proporção de 2:1, administrada por via intraperitoneal em 0,1ml por 100 gramas. A 3ª infiltração foi então realizada, local e intra-articular, em ambos os joelhos.

Para analgesia foi utilizado Dipirona Sódica (25mg/Kg), foi diluída 6 gotas em 750 ml de água filtrada e oferecido livremente em mamadeira para todos os animais que começaram a apresentar características do desenvolvimento da doença, foram observados sinais (edema, eritema) e sintomas (apatia, perda de peso, alteração de pelagem).

5.4. Evolução da Artrite Reumatóide CIA

Após a CIA os ratos desenvolveram uma poliartrite erosiva mediada por uma resposta autoimune, a importância deste modelo é que o Colágeno Tipo II é a principal proteína constituinte da CA, local predominante de inflamação na AR. Os sinais da doença foram caracterizados numa escala 0 a 4 por pata, um score clínico ≥ 2 é considerado positivo para AR.

0 = Sem evidência de edema.
1 = Eritema e edema leve em meio de pata ou articulação do tornozelo.
3 = Eritema e edema moderado que se estende do tornozelo a articulação metatársica.
4 = Eritema e edema severo envolvendo tornozelo, patas e dedos.

Tabela 01: Score Clínico de sinais artríticos.

ANTES



DEPOIS



Figura 03: Evolução da Artrite Reumatóide. Eritema e edema envolvendo tornozelo, pata e dedos em ratos idosos. (arquivo pessoal). Também se observa alteração em pelagem.

5.5. Grupos experimentais

Foram utilizados 28 ratos Wistar machos, distribuídos aleatoriamente e igualmente em 4 grupos (N=7).

Grupo Controle

- Não receberam indução.
- Permaneceram saudáveis.

Grupo AR Não Tratado

- Receberam indução.
- Não receberam tratamento.

Grupo AR tratado com LPBM

- Receberam indução.
- Receberam tratamento imediatamente após 3ª indução.
- Receberam irradiação a cada três dias aproximadamente.

Grupo AR tratado com VPBM

- Receberam indução.
- Receberam tratamento imediatamente após 3ª indução.
- Receberam irradiação a cada três dias aproximadamente.

Tabela 02: Distribuição dos grupos.

5.6. Fluxograma

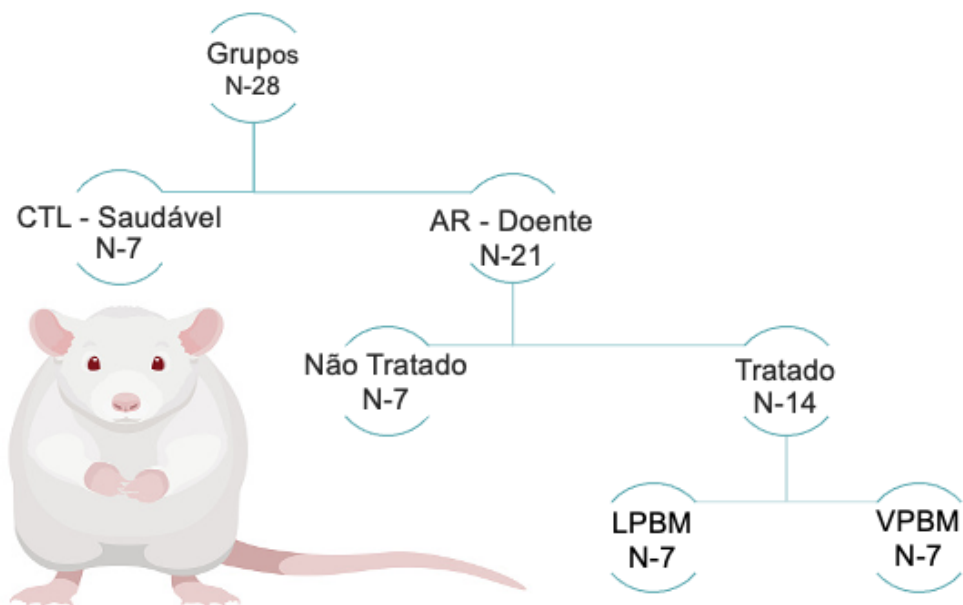


Figura 04: Fluxograma dos grupos experimentais (N=7).

5.7. Tratamento por fotobiomodulação

Foram utilizados 2 tipos de terapia por FBM (FBML e FBMV), ambas com o mesmo aparelho de laser de baixa intensidade da marca DMC®, modelo Therapy EC®, por meio ativo de AsGaAl.



Figura 05: Laser Marca DMC®, modelo Therapy EC®. (arquivo pessoal).

As aplicações iniciaram imediatamente após última indução 21º dia (D21) e se repetiram a cada 3 dias D21, D24, D27, D30, D34, D37, D42, totalizando 7 aplicações. Os animais foram imobilizados e a aplicação realizada num ângulo de 90º em relação a pele por via transcutânea.

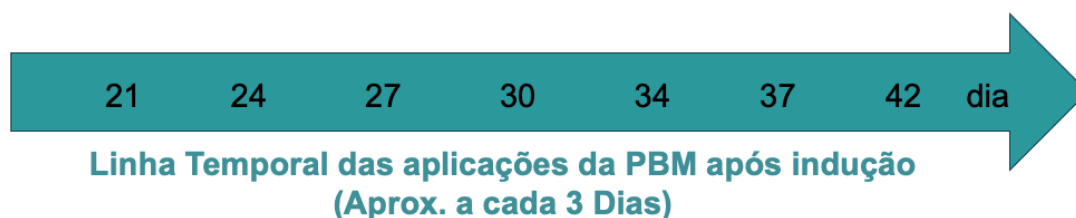


Figura 06: Linha Temporal de tratamento por FBM: D21, D24, D27, D30, D34, D37, D42 respectivamente.

5.7.1. Tratamento por fotobiomodulação local

Parâmetros Dosimétricos - Equipamento DMC Therapy EC	
Emissor de Luz Laser - Diodo	AsGaAl
Comprimento de Onda	808 nm
Área de Saída do Feixe	0,028 cm ²
Potência	100 mW
Modo de Emissão	Contínua
Energia Radiante por Ponto	2 J
Exposição Radiante	71,42 J/cm ²
2 Pontos de Aplicação	Contato, 1 ponto por Joelho
Tempo Total de Radiação	40 s
N° Total de Aplicações	7

Tabela 03: Tabela de parâmetro dosimétrico FBML, meio ativo de AsGaAl, comprimento de onda de 808 nm $\pm$ 10 nm, potência de 100 mW $\pm$ 20%, emissão contínua, 2 J/cm² por ponto, 2 pontos de aplicação em contato (ambos joelhos), tempo de exposição 20 segundos por ponto totalizando 4 J/cm² e 40 segundos.



Figura 07: Aplicação FBML em 1 dos joelhos de rato Wistar 2 J/cm² por ponto em contato, tempo de exposição 20 segundos. (arquivo pessoal)

5.7.2. Tratamento por fotobiomodulação vascular

Parâmetros Dosimétricos - Equipamento DMC Therapy EC	
Emissor de Luz Laser - Diodo	AsGaAl
Comprimento de Onda	808 nm
Área de Saída do Feixe	0,028cm ²
Potência	100 mW
Modo de Emissão	Contínua
Energia Radiante por Ponto	15 J
Exposição Radiante	535,71 J/cm ²
Ponto Único de Aplicação	Contato, 1 ponto cauda
Tempo Total de Radiação	150 s
N° Total de Aplicações	7

Tabela 4: parâmetro dosimétrico FBMV, meio ativo de AsGaAl, comprimento de onda de 808 nm $\pm$ 10 nm, potência de 100 mW $\pm$ 20%, emissão contínua, 15 J/cm² por ponto, 1 ponto vascular em contato, tempo de exposição 150 segundos.



Figura 08: Aplicação de FBMV em artéria caudal de rato Wistar, 15 J/cm², 1 ponto vascular em contato, tempo de exposição 150 segundos. (arquivo pessoal)

5.8. Eutanásia e procedimento de coleta

Os animais foram eutanasiados 25 dias após 3ª indução, por hiper dose da associação de anestésicos Cloridrato de Cetamina (270mg/kg) e Xilasina (30mg/kg). Foram coletadas ambas as articulações dos joelhos (direita e esquerda), colocados em tubos tipo Eppendorf e Falcon, imediatamente armazenadas em freezer a - 80° C, depois utilizadas para análises histológicas e testes funcionais.

5.9. Análises

5.9.1. Análise da alodinia mecânica

Foi utilizado o Algômetro da marca Insight, modelo Randall Selito, fornecido pela Universidade Nove de Julho (UNINOVE), é um dispositivo de pressão, que registra em gramas. Antes do experimento os animais foram adaptados ao equipamento 1 vez por semana por 3 semanas consecutivas.

Para realização do teste, a articulação de ambos os joelhos foram posicionadas sobre o sensor do aparelho Randal Sellito e acionado, pressionando a articulação, O teste finaliza quando o animal retira a pata de forma espontânea, sendo esse seu limiar de dor. O teste foi repetido 3 vezes por tornozelo em ambas as patas, por 3 semanas consecutivas antes e após indução. Este teste foi realizado em todos os 28 animais (N=7 por grupo) antes e depois da indução da AR.



Figura 09: Teste de Alodinia Mecânica: Articulação do tornozelo traseiro posicionada no Algômetro. (arquivo pessoal).

5.9.2. Análise das propriedades biomecânicas da cartilagem

Para dissecação dos joelhos, foi retirado do freezer um por vez, previamente lavado com NaCl 0,9% (marca LBS) para remoção de sangue residual e hidratação, colocado em placa de Petri, foi utilizado pinça Kelly, pinça “dente de rato”, cabo de bisturi, lâmina 10 de bisturi e meniscótomo. O fragmento da cartilagem do joelho (N=5) foi colocado em Eppendorf, ambos pesados em balança, o Eppendorf fixado com peso de 1.014g, a cartilagem foi posicionada entre pastilhas e submetida ao teste em máquina de ensaio mecânico de compressão universal, propriedade do laboratório da Universidade Nove de Julho (UNINOVE).

O deslocamento foi controlado após os ciclos de carga e descarga a uma velocidade constante de 1mm / min. Em cada ciclo, o deslocamento máximo aplicado a cartilagem foi aumentado de 10% de L0 e a força de tração F foi liberada até 0,1 N. A sequência foi repetida até a ruptura. O pré condicionamento mecânico foi realizado durante os primeiros ciclos do ensaio. A partir do ensaio foi avaliada a Força Máxima (Fmax) e a Deformação Máxima (Dmax) para a ruptura do tecido, e, na relação entre (Fmax) e (Dmax) foi calculada a resistência do tecido cartilaginoso.

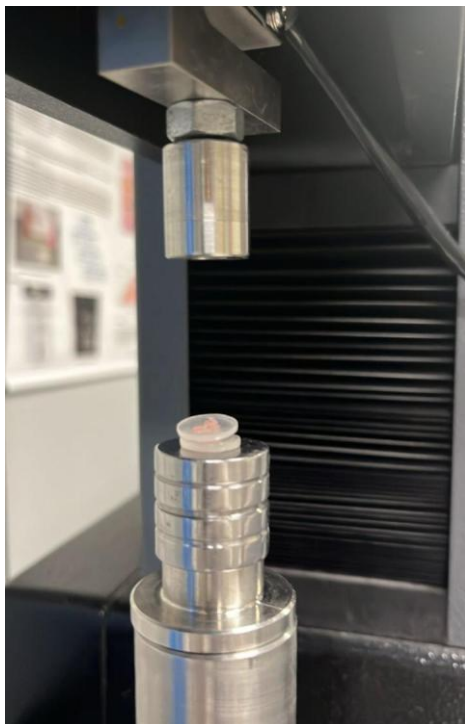


Figura 10: Cartilagem posicionada entre pastilhas sendo submetida ao teste de compressão universal. (arquivo pessoal).

5.9.3. Análise histológica de colágeno por microscopia óptica

As amostras do tecido cartilaginoso (N=5) foram fixadas em formol a 10% por um período de 72 horas. Posteriormente as amostras foram desidratadas e submetidas a uma série gradativa de banhos de álcool, começando com 50% e progredindo até o álcool absoluto 100% (SYNTH). Em seguida o tecido foi diafanizado com Xilol por 4 horas (SYNTH) para impregnação (embebição) e inclusão em Paraplast® das amostras. Em seguida, foram colocadas em recipientes de alumínio adequados, com Paraplast® fundido por 4 horas.

Após a impregnação, as amostras foram colocadas em um pequeno recipiente coberto com parafina e deixadas para solidificar, formando um bloco contendo o tecido. Para a microtomia foram realizados cortes com 5 µm de espessura em micrótomo LEICA RM 2125 RT. Uma vez precedido o preparo das amostras os cortes foram colocados em lâminas para serem corados, com *Picrosirius*. Após a coloração os cortes foram montados em lâminas permanentes para posteriores análises em microscópio óptico e fotografados através de sistema de microfotografia (Olympus System Microscope Model CX 41 – Olympus PM10SP Automatic Photomicrographic System).

Para a coloração com *Picrosirius*, foi estimada a área de colágeno da cartilagem nos diferentes grupos experimentais.

5.9.4. Análise estatística

Os dados encontrados foram distribuídos normalmente (teste de Shapiro-Wilk), e para comparar cada grupo o teste ANOVA de uma via, seguido de pos teste Tukey foram utilizados. Cada dado foi representado como a média $\pm$ desvio padrão (SD). O programa de software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA) foi usado, e valores significativos para $P < 0,05$ foram considerados.

6. RESULTADOS

Nesta etapa, serão apresentados os resultados referentes a sensibilidade à dor, pelo teste funcional de alodinia mecânica, bem como resultados das propriedades mecânicas da cartilagem (Fmax e Dmax). Por fim, serão apresentados resultados morfológicos referentes a proporção de colágeno em lâminas histológicas coradas com *Picrosirius*.

6.1. Análise funcional – teste de alodinia mecânica

A figura 11 mostra os resultados da alodinia mecânica realizada na região articular do joelho dos animais com AR induzida. Em (A), ambos os grupos NT e FBML apresentaram redução da alodinia na 2ª ($p<0,05$), 3ª e 4ª semana ($p<0,001$), quando comparadas com a alodinia na 1ª semana. O grupo FBMV manteve valores de alodinia na 2ª e 3ª semana, similares a 1ª semana com redução apenas na 4ª semana ($p<0,05$).

Em (B), o grupo FBML apresentou aumento nos valores de alodinia apenas na 3ª semana quando comparado ao grupo NT ($p<0,05$). O grupo FBMV apresentou valores de alodinia superiores aos grupos NT e FBML na 2ª, 3ª e 4ª semana ($p<0,001$).

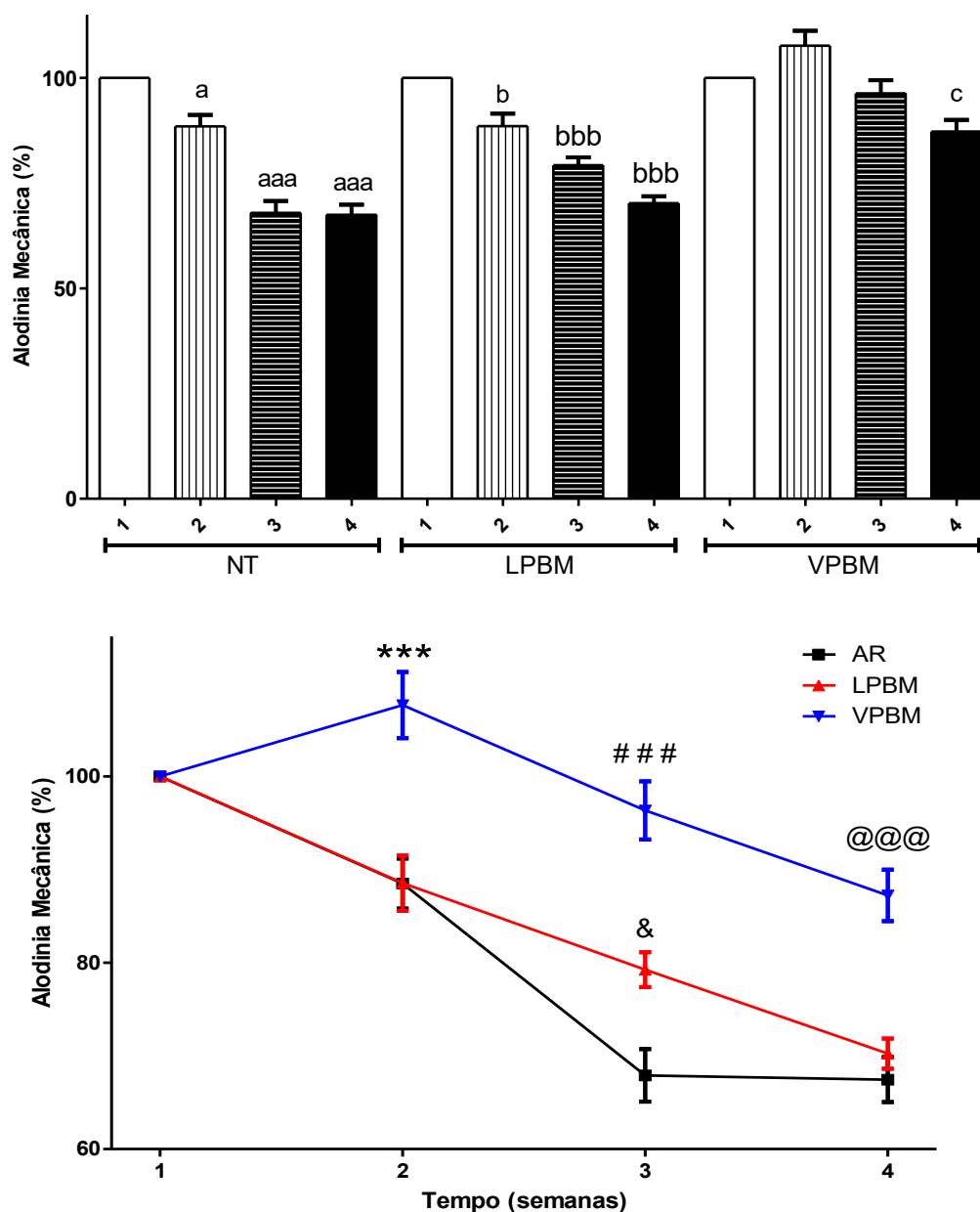


Figura 11: Avaliação da alodinia mecânica na articulação do joelho de ratos com artrite reumatoide induzida. Em (A), comparativo da evolução da alodinia em 4 semanas do estudo experimental. a $p < 0,05$ e aaa $p < 0,001$ Vs NT1. b $p < 0,05$ e bbb $p < 0,001$ Vs LPBM1. c $p < 0,05$ Vs VPBM. Em (B), comparativo da alodinia entre os grupos experimentais e no mesmo tempo de análise. Grupos com AR sem tratamento (NT) ou tratados com fotobiomodulação irradiada no joelho (FBML) ou sobre os vasos da cauda (FBMV). * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ Vs NT. ## $p < 0,05$ e ### $p < 0,001$ Vs FBML.

6.2. Teste funcional – Propriedades mecânicas da cartilagem

A figura 12 apresenta os resultados da Força Máxima no momento da ruptura da cartilagem, durante teste cíclico de compressão, sem evidenciar diferenças entre os grupos irradiados e não irradiados. Foi observada redução de Fmax em todos os grupos em que a AR foi induzida ($p < 0,001$), quando comparado ao grupo CTL;

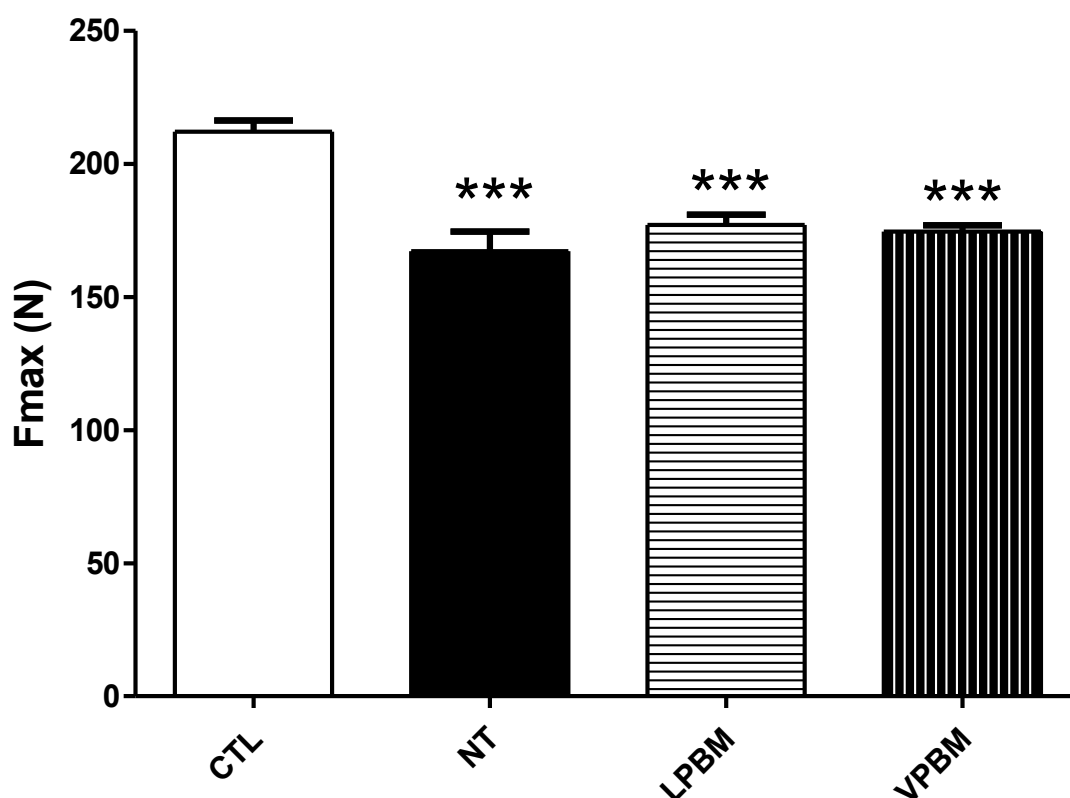


Figura 12: Gráfico da força máxima (Fmax) no momento da ruptura da cartilagem do joelho de ratos com artrite reumatóide induzida. Grupos experimentais: Saudável (CTL); AR sem tratamento (NT) ou tratado com fotobiomodulação local (FBML) ou vascular de ação sistêmica (FBMV). *** $p < 0,001$ Vs CTL.

Os resultados apresentados na figura 13 se referem a capacidade de deformação máxima (Dmax) das cartilagens do joelho de ratos, nos diferentes grupos experimentais. Novamente é observada redução de Dmax em todos os grupos com AR induzida ($p < 0,001$), quando comparados ao grupo saudável (CTL). Ambos os grupos tratados com fotobiomodulação (FBML = $p < 0,05$ e FBMV = $p < 0,01$) apresentaram aumento na capacidade de Dmax quando comparados ao grupo com AR e sem tratamento (NT), sem diferirem entre aplicação local e vascular.

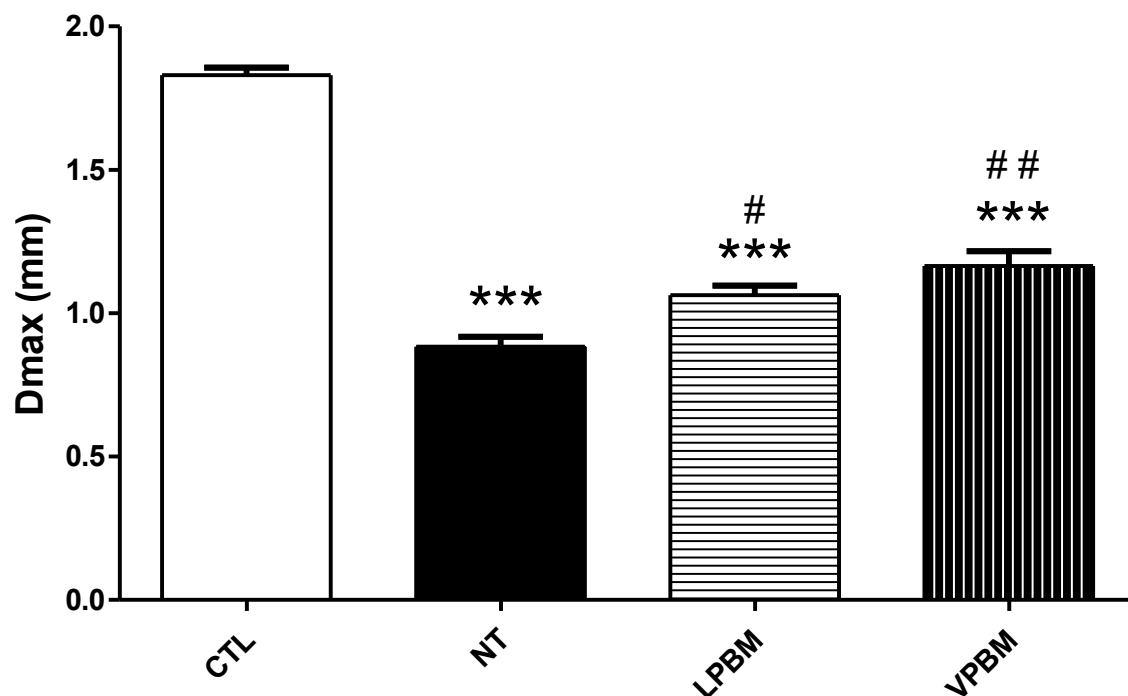


Figura 13: Gráfico da deformação máxima (Dmax) no momento da ruptura da cartilagem do joelho de ratos com artrite reumatóide induzida. Grupos experimentais: Saudável (CTL); AR sem tratamento (NT) ou tratado com Fotobiomodulação Local (FBML) ou Vascular de ação sistêmica (FBMV). *** $p < 0,001$ Vs CTL. # $p < 0,05$ Vs NT e ## $p < 0,001$ Vs NT.

A figura 14 mostra relação entre força máxima (Fmax) e deformação máxima (Dmax) no momento da ruptura da cartilagem, no teste mecânico de compressão cíclica. O grupo NT apresentou menores valores de Fmax e Dmax, comparado ao grupo CTL ($p < 0,001$). Ambos os grupos tratados com FBM apresentaram aumento de Dmax comparado ao grupo NT. Não foram observadas diferenças nas propriedades mecânicas entre os grupos FBML e FBMV.

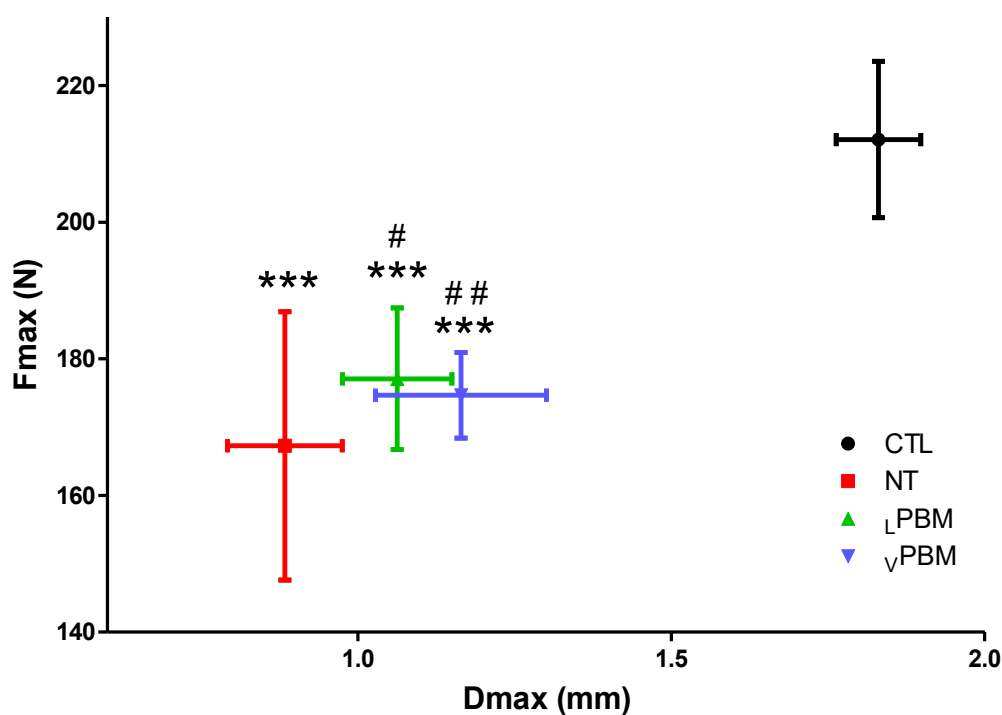


Figura 14: Gráfico da relação entre Fmax(N) e Dmax (mm) no momento da ruptura da cartilagem do joelho de ratos com artrite reumatoide induzida. Grupos Experimentais: Saudável (CTL); AR sem tratamento (NT) ou tratado com fotobiomodulação local (FBML) ou vascular de ação sistêmica (FBMV). *** $p < 0,001$ Vs CTL. # $p < 0,05$ Vs NT e ## $p < 0,001$ Vs NT.

6.3. Quantificação de colágeno em lâminas coradas por *Picrosirius*.

A figura 15 representa a proporção de colágeno total obtida a partir das análises das imagens histológicas de cartilagens coradas com *Picrosirius* para determinação do colágeno. O grupo NT apresentou redução da proporção de colágeno, quando comparado ao grupo CTL ($p < 0,001$), enquanto os grupos tratados (FBML e FBMV) apresentaram valores similares ao grupo CTL.

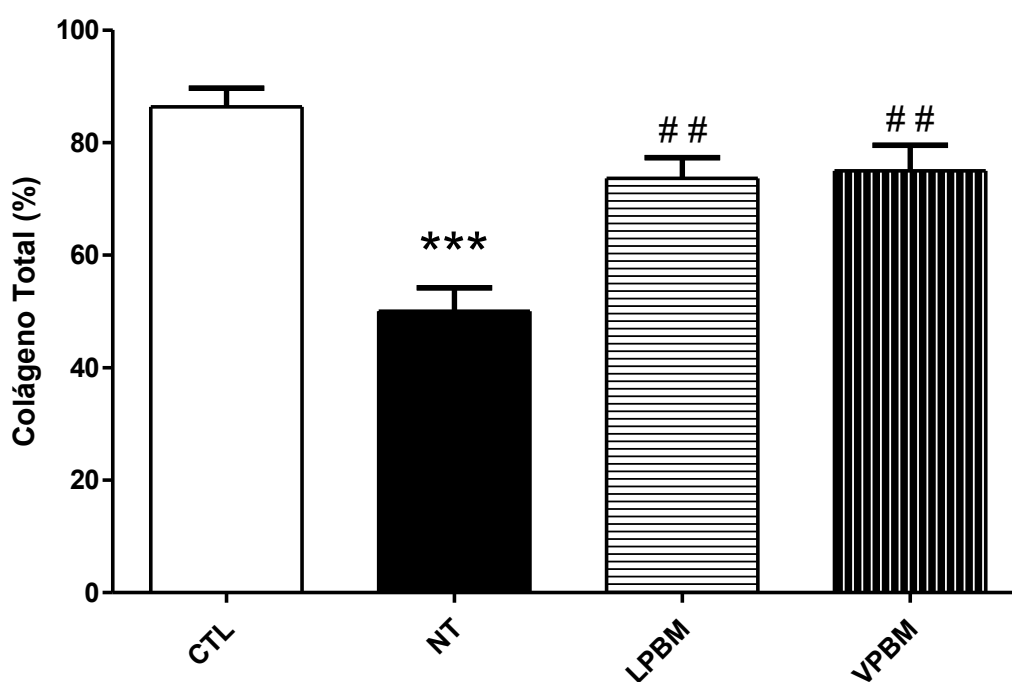


Figura 15: Gráfico da proporção de colágeno total (%): Grupos experimentais: Saudável (CTL); AR sem tratamento (NT) ou tratado com fotobiomodulação local (FBML) ou vascular de ação sistêmica (FBMV). *** $p < 0,001$ Vs CTL. # $p < 0,05$ Vs NT e ## $p < 0,001$ Vs NT.

6.4. Imagens representativas da cartilagem coradas com *Picrosirius*

A figura 16 apresenta imagens histológicas representativas das cartilagens do joelho de ratos em 4 grupos experimentais, coradas com *Picrosirius*. As imagens foram utilizadas para quantificação de colágeno total, identificada pela cor rosa, representada em pixels e anteriormente em porcentagem de colágeno, na figura 15.

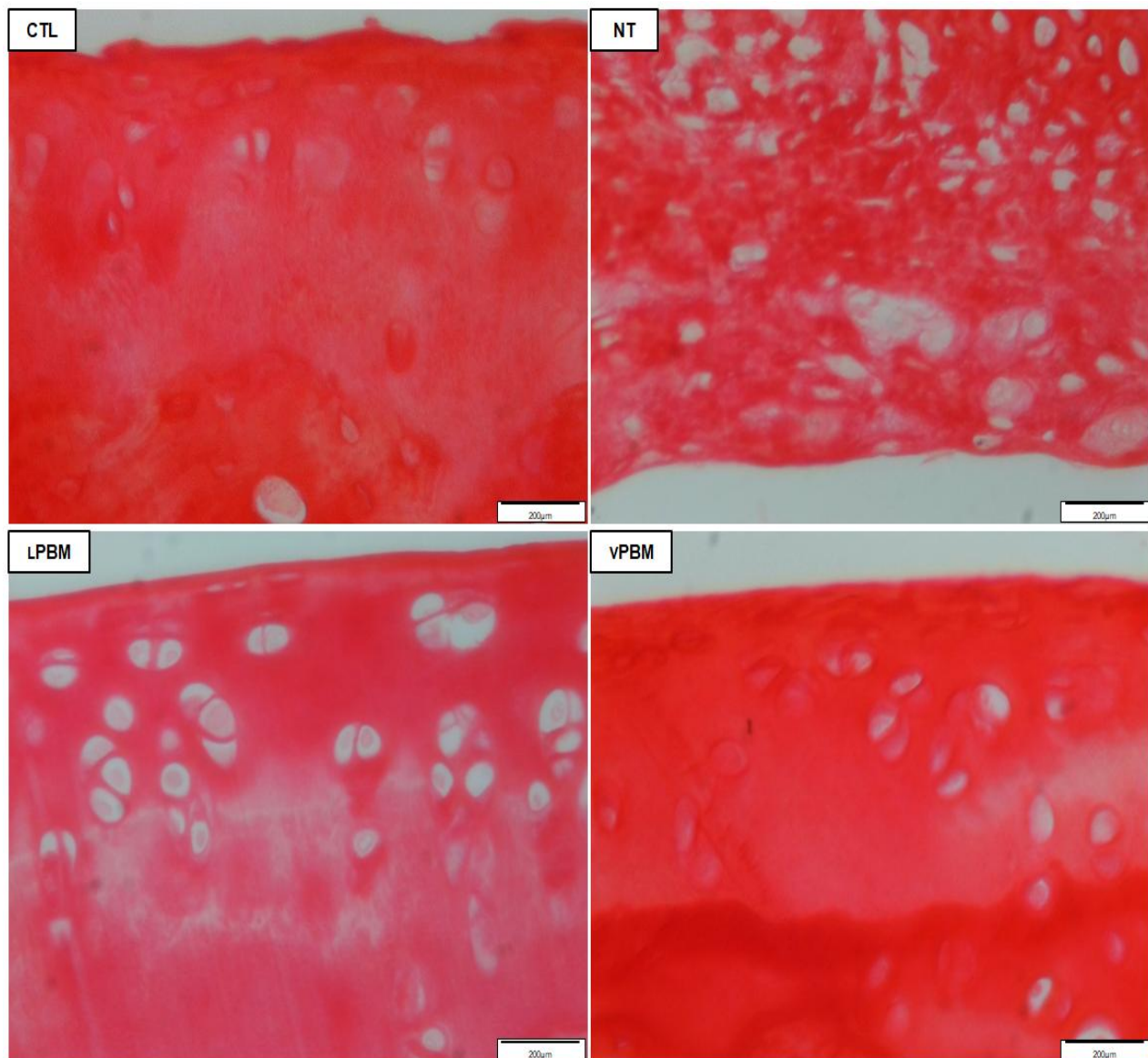


Figura 16: Imagens representativas das cartilagens coradas por *Picrosirius* nos 4 grupos experimentais CTL, NT, FBML, FBMV. Corte transversal. Amplitude 100X.

7. DISCUSSÃO

Neste estudo, investigamos os efeitos da fotobiomodulação local (FBML) e vascular (FBMV) no reparo tecidual de cartilagens com artrite reumatóide induzida (AR), por meio de avaliações funcionais relacionadas tanto à sensibilidade dolorosa, utilizando o teste de alodinia mecânica, como de resistência mecânica, utilizando teste cíclico de compressão da cartilagem, ou ainda pela avaliação da proporção de colágeno nas cartilagens de joelhos de ratos.⁴⁰ O modelo experimental foi adaptado de estudos prévios que utilizaram injeções de solução composta por colágeno tipo II e adjuvante completo de Freund possibilitando o desenvolvimento de poliartrite erosiva mediada por resposta autoimune.^{27, 28, 30, 31, 41, 42, 43}

Foram utilizadas dosimetrias distintas para cada protocolo de FBM. No grupo FBML (808nm; 4 J/cm²; 100mW), os parâmetros foram adaptados de estudos que demonstraram redução da atividade de metaloproteinases de matriz (MMPs) e preservação das propriedades mecânicas da cartilagem.³⁰ No grupo FBMV (808nm; 15 J/cm²; 100mW), os parâmetros foram baseados em modelos experimentais de doenças pulmonares⁵¹, diabetes³⁹ lesões musculares^{50, 52} e artrite aguda^{27, 28, 30, 31, 41, 42, 43}, nos quais a FBMV apresentou efeitos positivos no controle da inflamação e no reparo tecidual.

A avaliação da alodinia mecânica foi realizada por meio do teste de pressão no joelho, utilizando o equipamento Randall–Selitto, antes e após a indução da AR. Neste trabalho, observou-se redução da alodinia mecânica nos animais com AR sem tratamento (NT), sendo também regressiva a cada semana avaliada, até o final do experimento. O grupo FBML apresentou melhora significativa da alodinia mecânica apenas na segunda semana de tratamento, enquanto o grupo FBMV manteve níveis de sensibilidade maiores que ambos os grupos NT e FBML. Os resultados deste estudo mostraram vantagem no controle da dor pelo tratamento com fotobiomodulação vascular, fato relevante considerando que, na AR, a dor acomete múltiplas articulações e a aplicação vascular, realizada em um único ponto, poderia favorecer tanto o controle da dor como a adesão terapêutica.

Testes como o de alodinia mecânica já foram amplamente empregados em modelos de hiperalgesia, incluindo na AR^{18, 44 - 47}, permitindo avaliar alterações nociceptivas de origem periférica ou central, associadas a mediadores neuroimunes e à plasticidade do sistema nervoso central.²⁰ Embora o mecanismo de ação da FBM na modulação da dor não esteja totalmente elucidado, existem evidências que esta terapia pode envolver a atenuação da inflamação, com redução de mediadores como COX-2 e prostaglandinas⁴⁸ e mecanismos centrais relacionados à ativação de receptores inibitórios GABAérgicos.⁴⁷

As propriedades mecânicas da cartilagem foram analisadas pelo teste cíclico de compressão, considerando a força máxima de ruptura (Fmax) e a capacidade máxima de deformação (Dmax) ao final de cada ensaio. Neste estudo observamos a redução de Fmax e Dmax em todos os grupos com AR induzida (NT, FBML e FBMV) em comparação ao grupo saudável (CTL). Com relação a capacidade de deformação, ambos os grupos tratados (FBML e FBMV) apresentaram Dmax superior à do grupo NT. A capacidade de deformação da cartilagem é importante, pois protege o tecido das constantes forças de tração e compressão. A hidratação dos glicosaminoglicanos confere ao agregado propriedades de resistência à compressão, atuando como uma “mola biomecânica” ao deslocar e readquirir moléculas de água de acordo com a carga aplicada. Esse mecanismo depende do equilíbrio entre o intumescimento do agregado e a tração nas fibrilas de colágeno tipo II, cuja integridade é essencial para o desempenho funcional da cartilagem. O deslocamento de água decorrente de cargas compressivas cíclicas favorece a nutrição dos condrócitos, uma vez que, devido à natureza avascular da cartilagem, a troca de nutrientes e resíduos ocorre por difusão a partir do líquido sinovial. Assim, cargas dinâmicas promovem a saída de água, removendo metabólitos, e a subsequente reentrada do fluido, trazendo nutrientes. Por outro lado, cargas estáticas não favorecem essa troca, e cargas excessivas podem induzir apoptose de condrócitos e degradação da matriz extracelular, dependendo de fatores como magnitude, frequência e duração.⁵⁰

As propriedades biomecânicas da cartilagem também estão relacionadas à presença de fibras colágenas, cuja proporção influencia diretamente tanto na

elasticidade como em sua resistência a lesões mecânicas, fatores determinantes para a estabilidade da cartilagem.^{10, 33, 49} O colágeno, proteína abundante no tecido conjuntivo articular, compõe majoritariamente a matriz extracelular (MEC) da cartilagem, especialmente na forma de colágeno tipo II, embora outros tipos também participem da organização estrutural do tecido.^{24,}
33

Neste estudo, observou-se redução na proporção total de colágeno no grupo com AR sem tratamento (NT) em relação ao grupo saudável (CTL). Em contrapartida, ambos os grupos tratados com fotobiomodulação (FBML e FBMV) apresentaram aumento dessa proporção, com valores próximos aos do grupo saudável. Esses achados histológicos, combinados aos resultados biomecânicos, reforçam os efeitos benéficos da FBM, tanto quando aplicada localmente (FBML) quanto de forma sistêmica (FBMV), onde ambas podem estar relacionadas com a atenuação da degeneração articular induzida pela AR. Ademais, ao comparar as duas modalidades, verificou-se que a irradiação vascular, além dos efeitos positivos sobre as propriedades biomecânicas e a quantidade total de colágeno, apresentou resultados superiores no controle da alodinia mecânica.

A FBML já é reconhecida por modular a inflamação, reduzir a expressão de MMPs e estimular a síntese de colágeno, contribuindo para a preservação da matriz cartilaginosa e para a melhora das propriedades mecânicas do tecido.^{24,}
²⁷ Com relação a FBMV, embora a cartilagem seja um tecido avascular, esta forma de irradiação poderia atuar de forma indireta, promovendo aumento do aporte sanguíneo nas regiões periarticulares, o que favoreceria a remoção de mediadores inflamatórios e o suprimento de nutrientes essenciais à homeostase articular.^{11, 39} Além disso, estudos anteriores já evidenciaram que a FBMV exerce efeitos antioxidantes sistêmicos, reduzindo radicais livres e estresse oxidativo, fatores que contribuem para o tratamento da AR.^{37, 38}

Outro aspecto relevante é a possibilidade de associação entre as modalidades de FBM (local e vascular) e fármacos convencionais. Essa combinação pode potencializar os efeitos terapêuticos, permitindo a redução das doses medicamentosas e, conseqüentemente, dos efeitos adversos. No

entanto, a ausência de padronização dos parâmetros de aplicação e a escassez de diretrizes clínicas específicas ainda geram insegurança entre profissionais de saúde. Além disso, a transposição dos resultados obtidos em modelos animais para a prática clínica deve ser feita com cautela, considerando as diferenças fisiológicas, fortalecendo a necessidade de estudos clínicos controlados. Existe também certa confusão na nomenclatura utilizada para os estudos com FBMV. Alguns trabalhos ainda mantêm o termo ILIB não invasivo, enquanto outros utilizam a nomenclatura “irradiação transcutânea”, ou ainda ‘fotobiomodulação sistêmica’.⁵³

Em síntese, os resultados reforçam o potencial da FBM, tanto local quanto vascular, como estratégia no tratamento da AR, promovendo preservação do colágeno, melhorando as propriedades mecânicas da cartilagem e controlando a dor. A FBMV destacou-se por sua ação sistêmica e eficácia no controle da dor. Contudo, estudos adicionais são necessários para elucidar seus mecanismos, otimizar protocolos e consolidar sua aplicação clínica.

8. CONCLUSÃO

A terapia por fotobiomodulação, tanto na modalidade local (808nm; 4 J/cm²; 100mW) quanto vascular (808nm; 15 J/cm²; 100mW), demonstrou efeitos positivos na preservação da proporção de colágeno e na manutenção da capacidade de deformação da cartilagem, além de promover melhora significativa no controle da dor em modelo experimental de artrite reumatóide.

Destaca-se que a FBMV, nos parâmetros utilizados neste estudo, apresentou desempenho superior no controle da dor, sugerindo uma ação sistêmica mais abrangente na modulação do processo inflamatório. Apesar dos resultados promissores, são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos de ação da fotobiomodulação vascular, além da otimização de protocolos clínicos, necessários para consolidar a FBM como estratégia eficaz e segura no manejo da artrite reumatóide.

9. REFERÊNCIAS

1. Yap, H. Y., Tee, S. Z., Wong, M. M., Chow, S. K., Peh, S. C., & Teow, S. Y. (2018). Pathogenic Role of Immune Cells in Rheumatoid Arthritis: Implications in Clinical Treatment and Biomarker Development. *Cells*, 7(10), 161. <https://doi.org/10.3390/cells7100161>
2. Gibofsky A. (2014). Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsis. *The American journal of managed care*, 20(7 Suppl), S128–S135.
3. Aletaha, D., Neogi, T., Silman, A.J., Funovits, J., Felson, D. T., Bingham, C. O., 3rd, Birnbaum, N. S., Burmester, G. R., Bykerk, V. P., Cohen, M. D., Combe, B., Costenbader, K. H., Dougados, M., Emery, P., Ferraccioli, G., Hazes, J. M., Hobbs, K., Huizinga, T. W., Kavanaugh, A., Kay, J., ... Hawker, G. (2010). 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism*, 62(9), 2569–2581. <https://doi.org/10.1002/art.27584>
4. Arnett, F. C., Edworthy, S. M., Bloch, D. A., McShane, D.J., Fries, J. F., Cooper, N. S., Healey, L. A., Kaplan, S. R., Liang, M. H., & Luthra, H. S. (1988). The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*, 31(3), 315–324. <https://doi.org/10.1002/art.1780310302>
5. Kumar, L. D., Karthik, R., Gayathri, N., & Sivasudha, T. (2016). Advancement in contemporary diagnostic and therapeutic approaches for rheumatoid arthritis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 79, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.001>
6. Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *Lancet* (London, England), 388(10055), 2023–2038. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8)

7. Huh, Y. H., Lee, G., Lee, K. B., Koh, J. T., Chun, J. S., & Ryu, J. H. (2015). HIF-2 α -induced chemokines stimulate motility of fibroblast-like synoviocytes and chondrocytes into the cartilage-pannus interface in experimental rheumatoid arthritis mouse models. *Arthritis research & therapy*, 17, 302. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0816-x>

8. Goeldner I, Skare TL, Reason IT de M, Utiyama SR da R. Artrite reumatoide: uma visão atual. *JBras Patol Med Lab* [Internet]. 2011Oct;47(5):495–503. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000500002>

9. Alamanos, Y., Voulgari, P. V., & Drosos, A. A. (2006). Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 36(3), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2006.08.006>

10. Ouyang, Z., Dong, L., Yao, F., Wang, K., Chen, Y., Li, S., Zhou, R., Zhao, Y., & Hu, W. (2023). Cartilage-Related Collagens in Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis: From Pathogenesis to Therapeutics. *International Journal of molecular sciences*, 24(12), 9841. <https://doi.org/10.3390/ijms24129841>

11. Zhang, L., Hu, J., & Athanasiou, K. A. (2009). The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration. *Critical reviews in biomedical engineering*, 37(1-2), 1–57. <https://doi.org/10.1615/critrevbiomedeng.v37.i1-2.10>

12. Pettit, A. R., Walsh, N. C., Manning, C., Goldring, S. R., & Gravalles, E. M. (2006). RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford, England), 45(9), 1068–1076. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kei045>

13. Bian, Y., Xiang, Z., Wang, Y., Ren, Q., Chen, G., Xiang, B., Wang, J., Zhang, C., Pei, S., Guo, S., & Xiao, L. (2023). Immunomodulatory roles of metalloproteinases in rheumatoid arthritis. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1285455. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1285455>
14. Laurindo I, Ximenes A, Lima F, Pinheiro G, Batistella L, Bertolo M, et al.. Rheumatoid arthritis: diagnosis and treatment. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2004Nov;44(6):435–42. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbr/a/Wdk9p87DbzP4HBDt5vPsZdg/>
15. Mota LMH da, Cruz BA, Brenol CV, Pereira IA, Rezende-Fronza LS, Bertolo MB, et al.. Guidelines for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2013Mar;53(2):141–57. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbr/a/Fmjnf9MHprBRrhdwm5K5Vc/>
16. Zeidler H. (2012). The need to better classify and diagnose early and very early rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*, 39(2), 212–217. https://doi.org/10.3899/j_rheum.110967
17. Taylor, P. C., Atzeni, F., Balsa, A., Gossec, L., Müller-Ladner, U., & Pope, J. (2021). The Key Comorbidities in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Narrative Review. *Journal of clinical medicine*, 10(3), 509. https://doi.org/10.3390/j_cm10030509
18. Sparks, J. A. (2019). Rheumatoid Arthritis. *Annals of internal medicine*, 170(1), ITC1–ITC16. <https://doi.org/10.7326/AITC201901010>
19. Sánchez-Flórez, J. C., Seija-Butnaru, D., Valero, E. G., Acosta, C. D. P. A., & Amaya, S. (2021). Pain Management Strategies in Rheumatoid Arthritis: A Narrative Review. *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*, 35(4), 291–299. <https://doi.org/10.1080/15360288.2021.1973647>

20. Iyer, P., & Lee, Y. C. (2021). Why It Hurts: The Mechanisms of Pain in Rheumatoid Arthritis. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 47(2), 229–244. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2020.12.008>

21. Fraenkel, L., Bathon, J. M., England, B. R., St Clair, E. W., Arayssi, T., Carandang, K., Deane, K. D., Genovese, M., Huston, K. K., Kerr, G., Kremer, J., Nakamura, M. C., Russell, L. A., Singh, J. A., Smith, B. J., Sparks, J. A., Venkatachalam, S., Weinblatt, M. E., Al-Gibbawi, M., Baker, J. F., ... Akl, E. A. (2021). 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis care & research*, 73(7), 924–939. <https://doi.org/10.1002/acr.24596>

22. Hamblin M. R. (2017). Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS biophysics*, 4(3), 337–361. <https://doi.org/10.3934/biophy.2017.3.337>

23. Karu T. (1989). Photobiology of low-power laser effects. *Health physics*, 56(5), 691–704. <https://doi.org/10.1097/00004032-198905000-00015>

24. Alves, A. C., Albertini, R., dos Santos, S. A., Leal-Junior, E. C., Santana, E., Serra, A. J., Silva, J. A., Jr, & de Carvalho, P.deT. (2014). Effect of low-level laser therapy on metalloproteinase MMP-2 and MMP-9 production and percentage of collagen types I and III in a papain cartilage injury model. *Lasers in medical science*, 29(3), 911–919. <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1427-x>

25. Ribeiro, B. G., Alves, A. N., Dos Santos, L. A., Cantero, T. M., Fernandes, K. P., Dias, D.daS., Bernardes, N., De Angelis, K., & Mesquita-Ferrari, R. A. (2016). Red and Infrared Low-Level Laser Therapy Prior to Injury with or without Administration after Injury Modulate Oxidative Stress during the Muscle Repair Process. *PloS one*, 11(4), e0153618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153618>

26. Alves, A. C., de Carvalho, P. T., Parente, M., Xavier, M., Frigo, L., Aimbire, F., Leal Junior, E. C., & Albertini, R. (2013). Low-level laser therapy in different stages of rheumatoid arthritis: a histological study. *Lasers in medical science*, 28(2), 529–536. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1102-7>
27. Hsieh, Y. L., Cheng, Y. J., Huang, F. C., & Yang, C. C. (2014). The fluence effects of low-level laser therapy on inflammation, fibroblast-like synoviocytes, and synovial apoptosis in rats with adjuvant-induced arthritis. *Photomedicine and laser surgery*, 32(12), 669–677. <https://doi.org/10.1089/pho.2014.3821>
28. Dos Santos AS, Efeito da terapia por fotobiomodulação no controle da lesão articular em modelo experimental de artrite reumatoide - Aspectos morfológicos e funcionais. (2020)
29. Dos Santos, S. A., Dos Santos Vieira, M. A., Simões, M. C. B., Serra, A. J., Leal-Junior, E. C., & de Carvalho, P. T. C. (2017). Photobiomodulation therapy associated with treadmill training in the oxidative stress in a collagen-induced arthritis model. *Lasers in medical science*, 32(5), 1071–1079. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2209-7>
30. Fernandes, G. H. C., Labat Marcos, R., Almeida Dos Santos, S., Jesus, C. C. L., Neto, O. R., Oliveira, A. P. L., Zamuner, S. R., Cecatto, R. B., Liebano, R. E., Pinzano, A., Camilo de Carvalho, P. T., & Ferrari Corrêa, J. (2025). Photobiomodulation control the expression of MMP, TNF- α and NK-1 receptors, improving allodynia and cartilage resistance in rheumatoid arthritis model. *Lasers in medical science*, 40(1), 306. <https://doi.org/10.1007/s10103-025-04557-x>
31. Retameiro, A. C. B., Neves, M., Tavares, A. L. F., Boaro, C. D. T., Rodriguez, D. F. S., Stein, T., Costa, R. M., Bertolini, G. R. F., & Ribeiro, L. F. C. (2022). Physical Exercise and Low-Level Laser Therapy Systemic Effects on the Ankle joint in an Experimental Rheumatoid

- Arthritis Model. Journal of manipulative and physiological therapeutics, 45(4), 248–260. <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2022.07.001>
32. Souza, MPS ., & Ribeiro, AAS . (2022). Use of Intravascular Laser Irradiation of Blood (ILIB) in Chronic Diseases: A Systematic Review. Journal Archives of Health , 3 (2), 270–274. Retrieved from <https://ojs.latinamericanpublicacoes.com.br/ojs/index.php/ah/article/view/946>
33. Silva, V. G. da.; Martins, W. The systemic action of the Intravascular Laser Irradiation of Blood (Ilib) therapy to strengthen the immune system and the inflammatory process: an integrative review . (2023). Research, Society and Development, 12(6), e24612642265. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i6.42265>
34. Tupikin GV. Protivovospalitel'nyĭ i immunosupressivnyĭ effekt lazernoĭ terapii u bol'nykh revmatoidnym artritom [Anti-inflammatory and immunosuppressive effects of laser therapy in patients with rheumatoid arthritis]. Ter Arkh. 1985;57(8):37-9. Russian. PMID: 4071434.
35. Zvereva KV, Gladkova ND, Grunina EA, Logunov PL. Vybór metodiki vnutrisosudistoĭ lazernoĭ terapii pri revmatoidnom artrite [The choice of the method for intravascular laser therapy in rheumatoid arthritis]. Ter Arkh. 1994;66(1):29-32. Russian. PMID: 8146789.
36. Timofeyev, V. T., Poryadin, G. V., & Goloviznin, M. V. (2001). Laser irradiation as a potential pathogenetic method for immunocorrection in rheumatoid arthritis. Pathophysiology : the official Journal of the International Society for Pathophysiology, 8(1), 35–40. [https://doi.org/10.1016/s0928-4680\(00\)00059-6](https://doi.org/10.1016/s0928-4680(00)00059-6)
37. Meneguzzo DT, Ferreira LS, Carvalho EM, Nakashima CK. Intravascular Laser Irradiation of Blood. Handbook of Low-Level Laser Therapy- Chapter 46 – 2016

38. Díaz, L., Gil, A. C., Marttens, A. V., Basualdo, J., Sotomayor, C., Becerra, A. V., Beltrán, V., Jorquera, G., Caviedes, R., & Fernández, E. (2025). The clinical efficacy of intravascular laser irradiation of blood (ILIB): A narrative review of randomized controlled trial. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 53, 104618. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2025.104618>
39. Tomé, R. F. F., Silva, D. F. B., Dos Santos, C. A. O., de Vasconcelos Neves, G., Rolim, A. K. A., & de Castro Gomes, D. Q. (2020). ILIB (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases-an integrative literature review. *Lasers in medical science*, 35(9), 1899–1907. <https://doi.org/10.1007/s10103-020-03100-4>
40. Choudhary, N., Bhatt, L. K., & Prabhavalkar, K. S. (2018). Experimental animal models for rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 40(3), 193–200. <https://doi.org/10.1080/08923973.2018.1434793>
41. Myers, L. K., Rosloniec, E. F., Cremer, M. A., & Kang, A. H. (1997). Collagen-induced arthritis, an animal model of autoimmunity. *Life sciences*, 61(19), 1861–1878. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(97\)00480-3](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(97)00480-3)
42. Rosloniec, E. F., Cremer, M., Kang, A. H., Myers, L. K., & Brand, D. D. (2010). Collagen-induced arthritis. *Current protocols in immunology*, Chapter 15, 15.5.1–15.5.25. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1505s89>
43. Issa, J. P. M., Trawitzki, B. F., Ervolino, E., Macedo, A. P., & Lilge, L. (2017). Low-intensity laser therapy efficacy evaluation in FVB mice subjected to acute and chronic arthritis. *Lasers in medical science*, 32(6), 1269–1277. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2235-5>

44. Yamacita-Borin, F. Y., Zarpelon, A. C., Pinho-Ribeiro, F. A., Fattori, V., Alves-Filho, J. C., Cunha, F. Q., Cunha, T. M., Casagrande, R., & Verri, W. A., Jr (2015). Superoxide anion-induced pain and inflammation depends on TNF α /TNFR1 signaling in mice. *Neuroscience letters*, 605, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.08.015>
45. Dhondt, W., Willaeyts, T., Verbruggen, L. A., Oostendorp, R. A., & Duquet, W. (1999). Pain threshold in patients with rheumatoid arthritis and effect of manual oscillations. *Scandinavian Journal of rheumatology*, 28(2), 88–93. <https://doi.org/10.1080/030097499442540>
46. Ferreira, D. M., Zângaro, R. A., Villaverde, A. B., Cury, Y., Frigo, L., Picolo, G., Longo, I., & Barbosa, D. G. (2005). Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomedicine and laser surgery*, 23(2), 177–181. <https://doi.org/10.1089/pho.2005.23.177>
47. E Silva, Y. M. E., de Viveiros Tavares Alves, P., Dalmaso, R. B. M., de Oliveira, A. P. L., Duran, C. C. G., Júnior, J. A. S., Zamuner, S. R., de Souza Setubal Destro, M. F., Cecatto, R. B., Martins, R. Á. B. L., Liebano, R. E., & Marcos, R. L. (2025). Photobiomodulation presents an anti-inflammatory effect, reflecting on the expression of receptors related to the pain process in a collagenase-induced tendinitis experimental model. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 269, 113205. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2025.113205>
48. Marcos, R. L., Leal-Junior, E. C., Arnold, G., Magnenet, V., Rahouad J, R., Wang, X., Demeurie, F., Magdalou, J., de Carvalho, M. H., & Lopes-Martins, R. Á. (2012). Low-level laser therapy in collagenase-induced Achilles tendinitis in rats: analyses of biochemical and biomechanical aspects. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 30(12), 1945–1951. <https://doi.org/10.1002/jor.22156>

49. Depalle, B., Qin, Z., Shefelbine, S. J., & Buehler, M. J. (2015). Influence of cross-link structure, density and mechanical properties in the mesoscale deformation mechanisms of collagen fibrils. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 52, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2014.07.008>
50. Roughley, P. J., & Mort, J. S. (2014). The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *Journal of experimental orthopaedics*, 1(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40634-014-0008-7>
51. Schapochnik, A., Alonso, P. T., de Souza, V., Rodrigues, V., Quintela, K., Cruz, M. D. P., Ferreira, C. M., Cecatto, R. B., Rodrigues, M. F. S. D., Hamblin, M. R., & Lino-Dos-Santos-Franco, A. (2023). Intravascular laser irradiation of blood (ILIB) used to treat lung diseases: a short critical review. *Lasers in medical science*, 38(1), 93. <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03750-0>
52. Fu, C.-M., Wang, N.-K., Cheng, Y.-Y., & Chang, S.-T. (2022). The Adjuvant Therapy of Intravenous Laser Irradiation of Blood (ILIB) on Pain and Sleep Disturbance of Musculoskeletal Disorders. *Journal of Personalized Medicine*, 12(8), 1333. <https://doi.org/10.3390/jpm12081333>
53. Benevento, E.M., Lisboa, F.S.S., Kaneko, L.d.O. et al. Transcutaneous intravascular laser irradiation of blood affects plasma metabolites of women. *Sci Rep* **14**, 29839 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-80169-9>

10. ANEXOS

Anexo I - Certificado de Aprovação da Comissão de Ética para o Uso de Animais de Laboratório



Universidade Nove de Julho

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ANÁLISE DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO SOBRE A ATIVIDADE DOS CONDROCITOS E CARTILAGEM ARTICULAR EM MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE INDUZIDA POR COLÁGENO: ESTUDO IN VITRO E IN VIVO", protocolada sob o CEUA nº 1021240821 (ID 000272), sob a responsabilidade de **Rodrigo Labat Marcos** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 21/09/2021.

We certify that the proposal "ANALYSIS OF THE EFFECTS OF PHOTOBIMODULATION ON THE ACTIVITY OF CHONDROCYTES AND JOINT CARTILAGE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS: IN VITRO AND IN VIVO STUDY", utilizing 40 Heterogenics rats (40 males), protocol number CEUA 1021240821 (ID 000272), under the responsibility of **Rodrigo Labat Marcos** - 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 09/21/2021.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 10/2021 a 12/2023 Área: Biofotônica Aplicada Às Ciências da Saúde

Origem: Biotério - Unidade Vergueiro

Espécie: Ratos heterogênicos

sexo: Machos

idade: 3 a 6 meses

Quantidade: 40

Linagem: Wistar

Peso: 250 a 350 g

São Paulo, 14 de março de 2024



Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Universidade Nove de Julho



Profa. Dra. Stella Regina Zamuner

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Universidade Nove de Julho

Anexo II – Certificado de curso para o Uso de Animais em Ensino e Pesquisa Científica

	
CERTIFICADO	
Certificamos que PATRICIA DE VIVEIROS TAVARES participou do "Treinamento Introdutório à Experimentação Animal", nos dias 26/05, 02/06, 16/06 e 23/06/2023, com carga horária total de 30 (trinta) horas.	
São Paulo, 18 de setembro de 2023.	
 Prof. Dr. João Carlos Ferrari Corrêa Diretor do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação Diretor de Pesquisa	 Profa. Dra. Kristianne Porta Santos Fernandes Diretora do Programa de Pós-Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde Diretora do Programa de Pós-Graduação em Medicina – Ciências da Saúde
 Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos Presidente do Comitê de Ética No Uso de Animais – CEUA	