

Efeito da terapia por fotobiomodulação (660 nm e 830 nm) no comportamento da dor e edema induzidos por carragenina em camundongos

Effect of photobiomodulation therapy (660 nm and 830 nm) on carrageenan-induced edema and pain behavior in mice

Alexandre Marcio Marcolino¹, Ketlyn Germann Hendler¹, Rafael Inacio Barbosa¹, Lais Mara Siqueira das Neves², Heloyse Uliam Kuriki¹, Rafael Cypriano Dutra¹

DOI 10.5935/2595-0118.20220035-pt

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A fotobiomodulação (FBM) é uma importante ferramenta terapêutica para modulação dos processos inflamatórios. Neste estudo, investigou-se o efeito anti-inflamatório e analgésico de duas energias e dois comprimentos de onda diferentes (660 nm e 830 nm) através do modelo de edema de pata induzido por carragenina em camundongos.

MÉTODOS: Trinta e seis camundongos *Swiss* machos (n=6 animais/grupo) foram divididos em seis grupos: Grupo 1 (controle salino), Grupo 2 (carragenina), Grupo 3 (carragenina + laser 660 nm, 5,88 J), Grupo 4 (carragenina + laser 660 nm, 2,94 J), Grupo 5 (carragenina + laser 830 nm, 5,88 J) e Grupo 6 (carragenina + laser 830 nm, 2,94 J). A FBM foi aplicada 1h após a injeção de carragenina que induziu o edema de pata e a hiperalgesia térmica, os quais foram medidos por meio de um pletismômetro e pelo *flicker test* em banho-maria a 38°C (±0,5°C), respectivamente. As patas esquerdas injetadas com carragenina apresentaram edema local que persistiu por até 6h após sua administração.

Todos os animais foram avaliados antes, 1, 2, 3, 4, e 6 horas após a injeção de carragenina.

RESULTADOS: A FBM, principalmente o comprimento de onda 830 nm com 2,94 J de energia, reduziu o edema de pata induzido pela carragenina. Além disso, o comprimento de onda 660 nm (5,88 J / 2,94 J) e o 830 nm (2,94 J) inibiram a hiperalgesia térmica induzida pela carragenina após 4h da injeção na pata.

CONCLUSÃO: Evidenciou-se que a FBM 830 nm (2,94 J) produziu efeito anti-inflamatório mais pronunciado, enquanto o laser de 660 nm (5,88 J / 2,94 J) de energia foi mais eficaz para reduzir a resposta de hiperalgesia induzida pela injeção de carragenina.

Descritores: Dor, Terapia a Laser de baixa intensidade, Edema, Hiperalgesia, Inflamação, Carragenina.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Photobiomodulation (PBM) is an important therapeutic tool for inflammatory process modulation. In this study, the anti-inflammatory and analgesic effect of two different energies and two different wavelengths (660 nm and 830 nm) were investigate and compared through the model of carrageenan-induced paw edema in mice.

METHODS: Male Swiss mice, 36 animals (n=6 animals/group) were divided into six groups: Group 1 (saline-control), Group 2 (carrageenan), Group 3 (carrageenan + laser 660 nm, 5.88 J), Group 4 (carrageenan + laser 660 nm, 2.94 J), Group 5 (carrageenan + laser 830 nm, 5.88 J), and Group 6 (carrageenan + laser 830 nm, 2.94 J). PBM was applied 1h after the carrageenan injection which induced paw edema and hyperalgesia, which were measured by means of a plethysmometer and by flicker test using a water bath at 38°C (±0.5°C), respectively. Left paws of mice injected with carrageenan exhibited local edema that persisted for up to 6h after its administration. All animals were evaluated before, 1, 2, 3, 4, and 6 h after the injection of carrageenan.

RESULTS: PBM, specially the 830 nm wavelength with 2.94 J of energy, reduced the paw edema induced by carrageenan. In addition, the 660 nm wavelengths (5.88 J / 2.94 J) and 830 nm (2.94 J) inhibited thermal hyperalgesia induced by carrageenan after 4 h of paw injection.

CONCLUSION: There was evidence that the PBM 830 nm (2.94 J) produced a more pronounced anti-inflammatory ef-

Alexandre Marcio Marcolino – <https://orcid.org/0000-0002-2347-3797>;

Ketlyn Germann Hendler – <https://orcid.org/0000-0002-8209-1895>;

Rafael Inacio Barbosa – <https://orcid.org/0000-0003-3690-3001>;

Lais Mara Siqueira das Neves – <https://orcid.org/0000-0003-3862-3353>;

Heloyse Uliam Kuriki – <https://orcid.org/0000-0002-4610-4396>;

Rafael Cypriano Dutra – <https://orcid.org/0000-0002-6938-2161>.

1. Universidade Federal de Santa Catarina, Ciências da Saúde, Araranguá, SC, Brasil.

2. Universidade de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Apresentado em 03 de fevereiro de 2022.

Aceito para publicação em 13 julho de 2022.

Conflito de interesses: não há – Fontes de fomento: não há.

DESTAQUES

- O presente estudo demonstrou que a PBM foi eficaz minimizando a dor e o edema no processo inflamatório agudo em um modelo experimental.
- O comprimento de onda 830 nm (energia de 5,88 J) foi mais eficaz na melhora do edema no processo inflamatório agudo em um modelo experimental.
- Na análise da dor, a energia de 2,94 J foi mais eficaz independente do comprimento de onda utilizado no processo inflamatório agudo em um modelo experimental.

Correspondência para:

Alexandre Marcio Marcolino

E-mail: alexandre.marcolino@ufsc.br ammfisio2@gmail.com

© Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor

fect, while the 660 nm (5.88 J / 2.94 J) energy laser was more effective to inhibit the hyperalgesia response induced by the carrageenan injection.

Keywords: Edema, Hyperalgesia, Inflammation, Low level laser therapy, Pain.

INTRODUÇÃO

A inflamação é um fenômeno fisiológico inicial desencadeado durante a perda da homeostase devido a lesões e infecções. Este fenômeno se inicia pela resposta imune inata que reconhece as células danificadas e patogênicas. O reconhecimento de micro-organismos patogênicos é essencial para iniciar respostas imunes, tais como processos inflamatórios mediados por receptores de reconhecimento de padrões (RRP), que identificam estruturas moleculares que são amplamente compartilhadas por agentes patogênicos, conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PMAP)¹⁻³.

A indução do processo inflamatório produz edema em patas de camundongos. Na inflamação, há uma perda de equilíbrio entre a pressão hidrostática e osmótica, com saída de proteínas dos vasos sanguíneos e aumento da pressão osmótica extracelular causando a saída de fluidos dos vasos para o interstício, contribuindo, assim, para a formação de edema⁴. Assim, há uma variedade de estímulos para induzir a migração de células polimorfonucleares e consequentes processos inflamatórios agudos nas patas de camundongos, como a carragenina, que é usada para induzir inflamação em animais; estes estímulos atuam como uma substância algogênica nas patas de animais, causando uma resposta inflamatória com consequente migração celular e hiperalgesia³⁻⁷.

A injeção de carragenina provoca o processo inflamatório e consequente formação de edema, aumentando o volume do tecido e exacerbando a sensibilidade ao estímulo térmico e mecânico⁸⁻¹¹. Há diferentes mediadores envolvidos na inflamação, tais como histamina, serotonina (5-HT) e bradicinina (BK), que são os primeiros mediadores detectáveis durante a fase inicial da inflamação da pata induzida pela carragenina. As prostaglandinas (PG), produzidas através da ciclo-oxigenase (COX), estão envolvidas no aumento da permeabilidade vascular, e são detectáveis principalmente durante a fase final do processo inflamatório. Além disso, a inflamação local e/ou sistêmica está associada à regulação ascendente de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF, IL-1 e IL-6¹²⁻¹⁵.

Em estudos experimentais, o uso de carragenina estabelece um modelo animal simples para avaliação de dor e edema no local da inflamação aguda, com lesão ou dano leve ao tecido inflamado. Este modelo experimental fornece variações de diferentes recursos terapêuticos e farmacológicos, com o objetivo de minimizar o processo inflamatório^{6,7,13-18}.

Recursos eletrofísicos, como a terapia de fotobiomodulação (TFBM), estão sendo amplamente utilizados na pesquisa de diferentes modelos experimentais, como tendões, nervo periférico, tecido cutâneo, ossos e músculos¹⁹⁻²⁴. Além disso, eles são aplicados para o tratamento de processos inflamatórios agudos e consequente resolução do edema agudo^{5,6,25-30}. Os efeitos protetores da FBM estão associados a diferentes ações, tais como: i) aumento da microcirculação local e estimulação da angiogênese; ii) vasodilatação; iii) regulação

para baixo dos mediadores pró-inflamatórios, como PGE₂; iv) modulação das células imunes inatas e adaptativas; v) efeitos antioxidantes; e vi) cicatrização e reparo tecidual³¹.

Os autores³²⁻³⁴ descrevem que a modulação da dor e edema pode ser baseada nos mecanismos de ação da FBM no processo inflamatório, diminuindo a condução nervosa (impulsos aferentes) e a ação sobre citocinas pró-inflamatórias, resultando em melhora da dor e edema causado pelo processo inflamatório.

O estudo³⁵ utilizou a TFBM para a redução de TNF- α na lesão pulmonar aguda. Os autores observaram que o laser reduziu a expressão de TNF- α . No manuscrito de revisão bibliográfica realizado em outro estudo³⁶, o laser modula o processo inflamatório de forma dose-dependente. Os autores^{5,6} realizaram duas pesquisas comparando lasers de 660 nm e 684 nm no processo inflamatório induzido pela injeção de carragenina em patas de camundongos, demonstrando a melhora do edema e a redução dos níveis de citocinas.

A maioria dos artigos usa FBM visível para o tratamento do processo inflamatório agudo^{5,25,37-41}, e poucos artigos usam FBM infravermelha e próxima ao infravermelho⁴²⁻⁴⁴. A FBM de 808 nm em modelos experimentais de processo inflamatório agudo na articulação temporomandibular de ratos foi descrita em uma pesquisa recente⁴³, que observou a capacidade de modular o processo inflamatório, reduzindo os níveis pró-inflamatórios de citocinas. Os autores⁴⁵ demonstraram a ação da FBM no mRNA em um modelo de edema de pata em ratos e a pesquisa realizada pelo estudo⁴² utilizou FBM de 830 nm no edema agudo da pata de ratos. Os autores observaram um efeito modulador da FBM no processo inflamatório dos animais avaliados. Em outro estudo²⁴, os autores descreveram a ação da FBM no edema e na dor em um modelo de síndrome de dor complexa do tipo 1. Os autores observaram uma melhora nas variáveis avaliadas no estudo.

O uso de FBM para modular o processo inflamatório agudo foi estudado, com maior uso do comprimento de onda visível, mas ainda há muitas questões que precisam ser resolvidas, tais como: investigar diferentes doses para fornecer resultados melhores neste modelo de pesquisa e realizar mais estudos com comprimentos de onda quase infravermelhos e infravermelhos³². Dessa maneira, o presente estudo foi concebido para investigar e comparar o efeito de dois comprimentos de onda diferentes e duas energias da TFBM durante o processo inflamatório agudo em patas de camundongos.

MÉTODOS

Trinta e seis camundongos *Swiss* machos (30-40 g) foram utilizados nos experimentos pré-clínicos. Os camundongos foram obtidos na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, e mantidos no Campus de Araranguá durante os protocolos experimentais. Os camundongos foram mantidos em grupos de quatro a seis animais por gaiola, mantidos sob temperatura (22 \pm 2°C) e umidade (60%-80%) controladas, com um ciclo de 12h de luz/escuro (luzes acesas às 7h00 da manhã) e tiveram livre acesso a alimento (Puro Trato®, Santo Augusto, Rio Grande do Sul, Brasil) e água.

Todos os procedimentos utilizados no presente estudo seguiram os "Princípios do cuidado animal de laboratório" (publicação NIH nº 85-23) e foram aprovados pelo Comitê de Ética Animal da UFSC (CEUA-UFSC, protocolo nº PP00956). A lista de verifica-

ção ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) foi utilizada.

O tamanho do grupo foi calculado com base em experimentos anteriores realizados no laboratório, assim, foi utilizada uma amostra de conveniência com 36 animais, um número que consistia no mínimo necessário para a obtenção de dados consistentes.

As intervenções foram realizadas pelo pesquisador 1 e as avaliações foram realizadas pelo pesquisador 2, cegos para o grupo, ambos treinados antes do início da coleta de dados. A análise e o processamento de dados foram realizados pelo pesquisador 3, também de maneira cega.

Grupos experimentais

O estudo foi realizado com 36 camundongos divididos aleatoriamente em seis grupos por meio de um sorteio por envelope selado, com 6 animais em cada, denominados como Grupo 1: controle salino; Grupo 2: carragenina; Grupo 3: carragenina + laser 660 nm, com 5,88 J de energia; Grupo 4: carragenina + laser 660 nm, com 2,94 J de energia; Grupo 5: carragenina + laser 830 nm, com 5,88 J de energia; e Grupo 6: carragenina + laser 830 nm, com 2,94 J de energia.

Todos os procedimentos foram realizados na região plantar da pata traseira esquerda dos camundongos, e a FBM foi realizada 1 hora após a administração da carragenina. Todos os animais da FBM foram submetidos à técnica pontual com contato na região plantar da pata traseira esquerda. A escolha da dose efetiva de laser foi baseada em experimentos-piloto (dados não mostrados) ou em dados anteriores descritos na literatura^{5,36}. Nos animais do Grupo 1 (controle), foi administrada somente a substância salina na região plantar da pata traseira esquerda.

Indução de edema

Para induzir o processo inflamatório agudo, os animais receberam uma injeção de λ -carragenina (2,5%) em 50 μ L de solução fisiológica a 0,09% (NaCl) nas regiões subcutâneas da superfície plantar da pata traseira esquerda⁴⁶.

Avaliação de edema e hiperalgesia

Os animais foram aclimatados durante 30 min antes dos testes comportamentais e, para determinar os limiares basais térmicos e do edema, todos os grupos foram avaliados antes da indução da inflamação. O edema agudo na pata traseira esquerda do animal foi induzido por injeção intraplantar de carragenina, foi analisado por pletismografia e demonstra volume referente ao edema na pata traseira esquerda do animal.

O edema foi medido por pletismografia (Modelo 7150TM, Ugo Basile, Varese, Itália) antes, 1, 2, 3, 4, e 6h após a injeção de carragenina. Os dados foram expressos em mililitros (mL) de água. Com a imersão da pata do animal no pletismômetro, ocorre o movimento da água, assim, os milímetros de água deslocados são quantificados. A avaliação da hiperalgesia térmica foi realizada por meio de um *flicker test* utilizando um banho de água a $38^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e foi quantificada em segundos. No teste da hiperalgesia térmica, a quantificação de segundos começou com a imersão da pata do animal na água e terminou quando o animal moveu sua pata na tentativa de tirá-la da água. A coleta de dados foi realizada nos mesmos intervalos citados para medir o edema.

Fotobiomodulação

O equipamento de diodo laser de arseneto de Gálio-Alumínio (GaAlAs, Ibramed Medical EquipmentTM, Amparo, São Paulo, Brasil), emitindo 830 nm de comprimento de onda, foi utilizado neste estudo, assim como o diodo laser de Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP, Ibramed Medical EquipmentTM, Amparo, São Paulo, Brasil), transmitindo 660 nm de comprimento de onda, ambos com feixe contínuo. A tabela 1 mostra a descrição dos parâmetros utilizados.

Tabela 1. Parâmetros de fotobiomodulação utilizados no estudo.

Parâmetros de laser	Energia (J)	Tempo de irradiação (s)	Área do feixe (cm ²)	Potência (mW)
Grupo 3 (660 nm)	5.88	196	0.06	30
Grupo 4 (660 nm)	2.94	98	0.06	30
Grupo 5 (830 nm)	5.88	196	0.11	30
Grupo 6 (830 nm)	2.94	98	0.11	30

J = Joule; s = segundos; cm² = centímetros quadrados; mW = miliwatts.

A dose de 5,88 J e o uso do comprimento de onda de 660 nm foi baseado no estudo⁴⁰. Para comparação, outro comprimento de onda, de 830 nm, e outra energia, de 2,94 J, foram utilizados com a mesma potência nas duas sondas, como descrito na tabela 1.

Análise estatística

Os dados dos grupos foram analisados usando o programa *GraphPad Prism 6* (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, EUA). Antes da análise de cada grupo, a normalidade na distribuição dos dados foi observada usando o teste Shapiro-Wilk. Os resultados são representativos de um ou dois experimentos independentes. Uma comparação estatística dos dados foi realizada pela ANOVA de uma e duas vias, seguida pelo teste Post-Hoc de Bonferroni, dependendo do protocolo experimental. Os valores de $p < 0,05$ e 0,001 foram considerados significativos.

RESULTADOS

Efeito da fotobiomodulação no edema de patas induzido pela carragenina

O edema de patas induzido pela carragenina foi comparado com o grupo de controle salino. As patas esquerdas de camundongos injetados com carragenina exibiram edema local (Figura 1a), que persistiu por até 6 h após sua administração. A aplicação de FBM, particularmente o laser de 830 nm com 2,94 J de energia, reduziu o edema das patas induzido pela carragenina (Figura 1a), com inibição de 60,1% em Σ 1 - 6 h ($F(5,28) = 60,98$), após a injeção de carragenina, quando comparado ao grupo controle, com base na área sob a curva (AUC) (Figura 1b). Entretanto, o tratamento com laser de 660 nm e 830 nm (5,88 J de energia) não conseguiu inibir o edema induzido pela injeção de carragenina (Figura 1).

Os animais foram tratados com laser de 660 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia) ou 830 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia), 1h após a injeção de carragenina (2,5%, 50 μ L, i.pl.) (a). Área sob a curva entre Σ 1 - 6

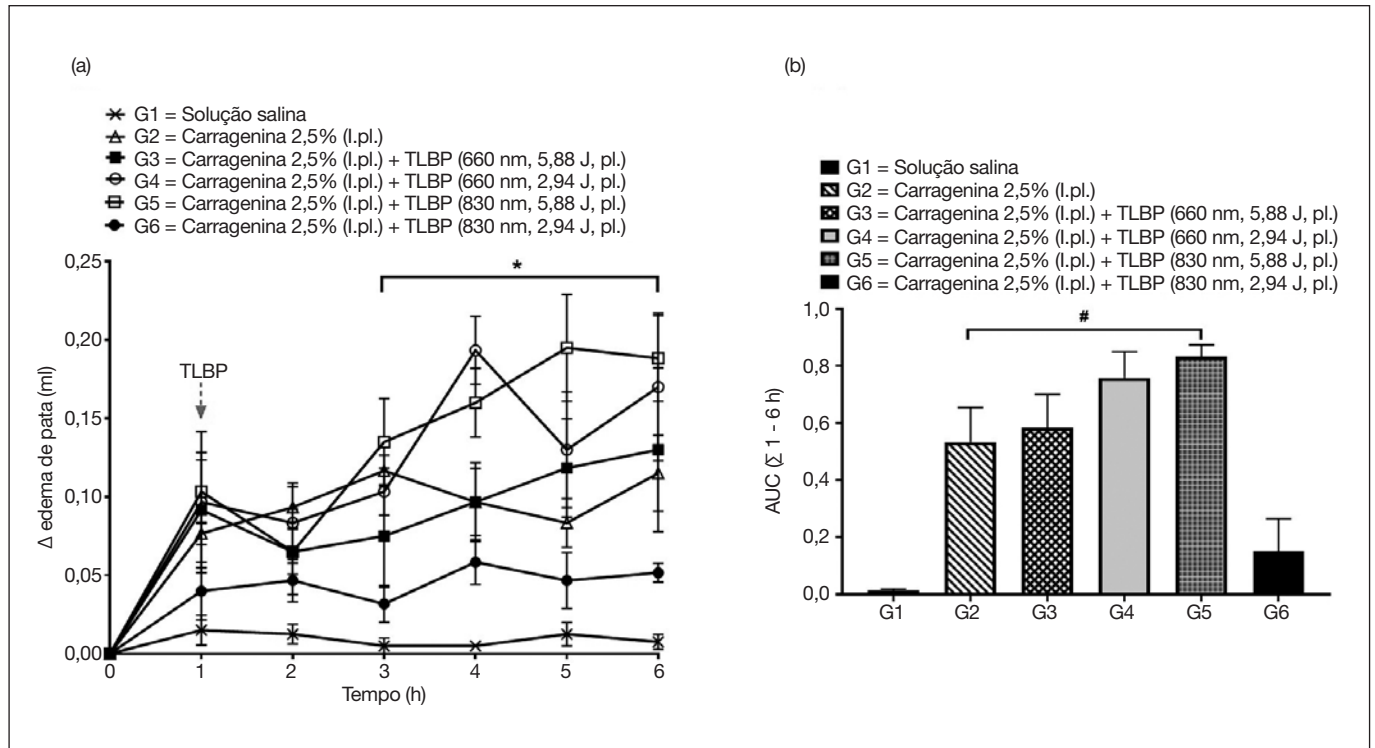


Figura 1. Efeito da fotobiomodulação no edema de pata induzido pela carragenina em camundongos

I.pl. = intrapleurais; TLBP = terapia laser de baixa potência; pl. = pleural; * = $p < 0,0001$ versus o grupo salino, exceto quando comparado com o Grupo 6; # = $p < 0,050$ versus os grupos salino e G6. (ANOVA bidirecional seguida de teste Post-Hoc de Bonferroni).

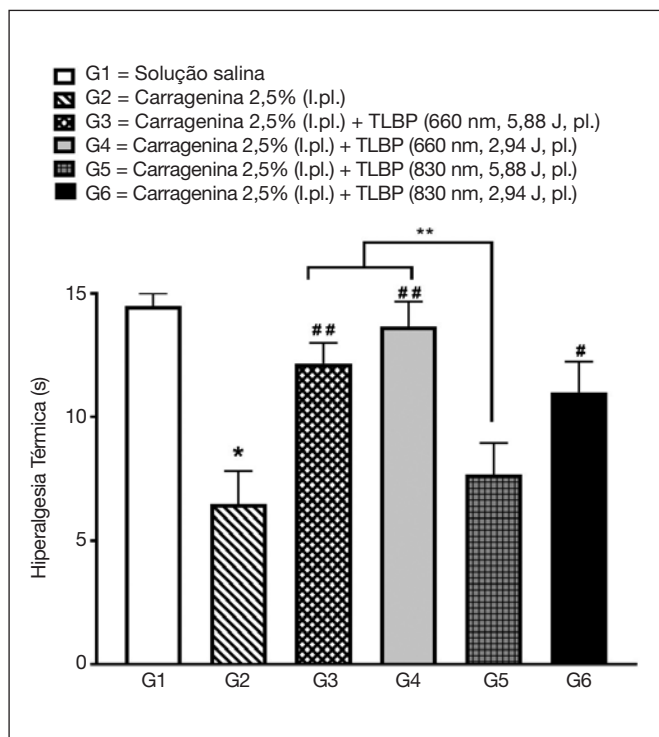


Figura 2. Efeito da fotobiomodulação na hiperalgesia térmica induzida pela carragenina em camundongos

I.pl. = intrapleurais; TLBP = terapia laser de baixa potência; pl. = pleural; * = $p < 0,050$ versus o grupo controle; # = $p < 0,050$; ## = $p < 0,002$ versus o grupo carragenina; ** = $p < 0,0002$ versus o grupo FBM de 830 nm (5,88 J) (ANOVA unidirecional seguido de teste Post-Hoc de Bonferroni).

h após injeção de carragenina (b). Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), $n = 6$ animais por grupo.

Efeito da fotobiomodulação na hiperalgesia térmica induzida pela carragenina

Como esperado, a aplicação de carragenina na superfície plantar da pata traseira dos animais aumentou a latência de retirada da pata para estímulo de calor quando comparada ao grupo controle (Figura 2). Os resultados apresentados na Figura 2 mostram que a FBM de 660 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia) e FBM de 830 nm (2,94 J de energia) inibiram a hiperalgesia térmica induzida pela carragenina após 4 h de injeção na pata ($F(5,26) = 7,59$, Figura 2). Em oposição, o tratamento com laser de 830 nm (5,88 J de energia) não foi eficaz (Figura 2). É importante ressaltar que os animais submetidos à FBM de 660 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia) apresentaram melhora significativa na hiperalgesia térmica quando comparados com aqueles submetidos à FBM de 830 nm com 5,88 J de energia (Figura 2). Os animais foram tratados com laser de 660 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia) ou de 830 nm (5,88 J ou 2,94 J de energia), 1 h após a injeção de carragenina (2,5%, 50 μ L, i.pl.). A hiperalgesia térmica foi avaliada através de banho de água a 38°C ($\pm 0,5^\circ$ C) 4 h após a injeção de carragenina. Os resultados estão expressos como média \pm EPM ($n = 6$ animais por grupo).

DISCUSSÃO

De acordo com os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos que foram observados no presente estudo, a FBM inibiu a inflamação e a

dor durante a resposta inflamatória aguda⁴⁷. Além disso, o estudo comparou os efeitos de dois comprimentos de onda diferentes do laser de FBM na resolução do processo inflamatório agudo em patas de camundongos.

Diferentes estudos na literatura utilizam modelos animais como ferramentas para aumentar a compreensão sobre as respostas inflamatórias, tais como edema de pata^{5,6,46}, lesão pulmonar^{29,35}, modelos de osteoartrite^{48,49}, modelos de lesão de pele^{23,50} e modelos de distúrbios musculares esqueléticos inflamatórios³⁰. Assim, para estudar o papel da FBM no processo inflamatório, foi utilizado o edema de pata induzido por carragenina em camundongos, que induz respostas inflamatórias, incluindo a formação de edema, infiltração de neutrófilos e o desenvolvimento de hiperalgesia.

Além disso, a injeção de carragenina na pata do roedor induz o edema que se desenvolve nas primeiras 6 h até as 24 h. Esta resposta inflamatória é mediada principalmente pela histamina e por uma síntese crescente de PGE2 após a liberação periférica de óxido nítrico (NO), TNF, IFN- γ , e IL-1, que demonstraram induzir iNOS em diversas células^{5,7,47}.

Assim, os autores^{51,52} sugerem que pode haver uma ação diferenciada na ativação de cascatas metabólicas envolvendo a ação de diferentes comprimentos de onda vermelhos e quase infravermelhos, causando algumas mudanças como: modular os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias, ação modulatória sobre estímulos nervosos periféricos, além de causar diferenciação, migração e proliferação celular. No presente estudo, diferentes manifestações podem ser observadas quando os comprimentos de onda de 660 nm e 830 nm são avaliados. Na avaliação do edema, a FBM próxima do infravermelho com menor energia obteve melhores resultados, porém, ao observar a FBM vermelha, os melhores resultados foram em relação à hiperalgesia.

Embora a FBM baixa seja usada para tratar o processo inflamatório em animais, ainda não foi observado um consenso entre os parâmetros e o comprimento de onda utilizado. O presente estudo compara dois comprimentos de onda (660 nm e 830 nm), visíveis e infravermelhos, respectivamente, ambos com feixe contínuo, com energia de 5,88 J, de acordo com o autor⁵, e 2,94 J de acordo com o autor⁵³, que mostraram que os efeitos anti-inflamatórios do laser podem ser alcançados dentro de uma janela terapêutica de 0,6 a 9,6 J de energia total emitida²⁶⁻³⁰.

O estudo²⁴ demonstrou que o laser (650 nm) inibiu a resposta inflamatória por meio da liberação de hormônios adrenais. Segundo o estudo²⁷, o laser de 780 nm com dose de 0,4 J diminuiu o processo inflamatório, baixando o nível de TNF regulado, porém nenhuma alteração na expressão de IL-6 foi observada. Também são de interesse os resultados do mesmo grupo mostrando que o laser bloqueou os níveis de IL-6 e TNF durante um modelo de lesão por incisão na pele de camundongos²⁶.

Os autores^{5,6} mostraram que o pico do edema é na segunda hora após a indução e observaram a melhora no volume da pata do animal 4 h após a indução do edema e 3 h após a aplicação do laser com 660 nm e 685 nm de comprimento de onda. Da mesma forma, observaram a diminuição de TNF com a aplicação de FBM. Já os autores⁴² observaram que o pico de edema foi estabelecido na terceira hora após a indução e observaram a redução no edema após 6 h, corroborando o estudo⁴⁵, que detectou o pico de edema 4h após a

injeção de carragenina, e o estudo³⁵, que relatou a regulação do nível de TNF 4h após a indução de edema.

Os estudos^{5,6} mostrou que 5,88 J de energia com laser visível inibia o edema na pata traseira esquerda dos animais. Além disso, o mesmo relatório não mostrou diferença significativa para os comprimentos de onda com 5,88 J de energia. Ao analisar o Grupo 6 (laser de 830 nm, com 2,94 J de energia), é possível concluir que este tratamento teve maior eficácia para o edema quando comparado com outros grupos, corroborando relatórios anteriores^{25,47,42}, que utilizaram emissão de energia de 2,04 J, 0,96 J e 1,0 J, respectivamente, obtendo melhora no edema da pata do animal.

Os autores⁴⁷ reportam que a FBM melhora a dor induzida na pata do animal. Estes autores utilizaram um comprimento de onda de 632,8 nm e obtiveram resultados positivos, aumentando o limiar de dor, correspondendo aos dados do presente estudo, que mostram melhora na hiperalgesia térmica dos animais tratados com FBM, a qual foi estatisticamente diferente dos outros grupos. Na revisão sistemática³⁶, a janela terapêutica para alívio da dor é de 5,0 J a 19,5 J, corroborando os Grupos 3 e 5 do presente estudo. No entanto, o Grupo 4, com energia inferior à observada na revisão³⁶, também obteve resultados positivos, minimizando a hiperalgesia dos animais. Assim, pode-se inferir que a melhora do edema e da hiperalgesia em animais pode ser explicada pela ação de FBM do laser no processo inflamatório²⁵.

As limitações encontradas no presente estudo foram a falta de análise dos mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios, que poderiam responder melhor aos efeitos relacionados à melhora da hiperalgesia com uma energia maior e à melhora do edema com uma energia menor. Assim, novos estudos deveriam ser realizados para melhor elucidar esta questão.

O presente estudo destaca os efeitos da FBM, trazendo dados importantes sobre o uso do comprimento de onda de 830 nm, que melhora o volume do edema, e de 660 nm de comprimento de onda, com melhores resultados para a hiperalgesia térmica. Em relação à lacuna existente, o presente estudo traz um ponto importante sobre o uso de 2,94 J de energia, obtendo melhores resultados quando comparados ao dobro dessa energia e com a mesma potência em ambos os dispositivos.

No conjunto, os dados sugerem que a FBM foi eficiente para melhorar o edema e a hiperalgesia em camundongos. Além disso, o laser de 660 nm com 2,94 J de energia foi mais eficaz para inibir a resposta da hiperalgesia, enquanto o laser de 830 nm com 2,94 J de energia foi mais eficaz para prevenir a formação de edema em patas de camundongos. Assim, é importante enfatizar que, para estudos futuros, a energia de 2,94 J pode ser utilizada em outros modelos experimentais e com diferentes parâmetros de FBM, tais como: o uso de 904 nm de comprimento de onda e também diferentes potências.

Apesar dos esforços crescentes da comunidade científica, as terapias disponíveis para tratar essas condições têm ações parcialmente eficazes e numerosos efeitos colaterais, os quais resultam em profundas implicações sobre a qualidade de vida dos pacientes.

CONCLUSÃO

O fato de que a FBM foi eficaz no edema induzido por carragenina e no comportamento da dor em camundongos, mesmo em

um modelo animal, é especialmente relevante para que os futuros protocolos de tratamento possam ser indicados para prevenir e tratar edemas e distúrbios inflamatórios da dor. Finalmente, os dados confirmam e ampliam os resultados da literatura anterior sobre o efeito anti-inflamatório e analgésico da FBM e sugerem que a FBM pode ser clinicamente importante e complementar ao tratamento de doenças inflamatórias.

COLABORAÇÕES DOS AUTORES

Alexandre Marcio Marcolino

Análise estatística, Gerenciamento do Projeto, Supervisão

Ketlyn Germann Hendler

Coleta de Dados, Metodologia, Redação - Preparação do original

Rafael Inacio Barbosa

Análise estatística, Investigação, Redação - Revisão e Edição

Lais Mara Siqueira das Neves

Coleta de Dados, Investigação, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição

Heloyse Uliam Kuriki

Coleta de Dados, Conceitualização, Metodologia

Rafael Cypriano Dutra

Aquisição de financiamento, Gerenciamento de Recursos, Metodologia, Redação - Revisão e Edição

REFERÊNCIAS

- Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev*. 2014;13(1):3-10.
- Noah TA, Zachary MW, Randy JN. Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Ann Rev Ecology Evol Systemat*. 2012;43:385-406.
- Janeway CA Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*. 1989;54Pt:1-13.
- Michel CC, Curry FE. Microvascular permeability. *Physiol Rev*. 1999;79(3):703-61.
- Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B*. 2007;89(1):50-5.
- Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Bjordal J, Brugnera A, Mittmann J, Silva M, Costa M. Cytokine mRNA expression is decreased in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation after low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg*. 2008;26(1):19-24.
- Gomes RP, Bressan E, Silva TM, Gevaerd MS, Tonussi CR, Domenech SC. Efeitos de um minuto e dez minutos de deambulação em ratos com artrite induzida por adjuvante completo de Freund sobre os sintomas de dor e edema. *Rev Bras Reumatol*. 2014;54(2):83-9.
- Chan CC, Boyce S, Brideau C, Ford-Hutchinson AW, Gordon R, Guay D, Hill RG, Li CS, Mancini J, Penne-ton M. Pharmacology of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, L-745,337: a novel nonsteroidal anti-inflammatory agent with an ulcerogenic sparing effect in rat and non human primate stomach. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995;274(3):1531-7.
- Khanna IK, Weier RM, Yu Y, Collins PW, Miyashiro JM, Koboldt CM, Veenhuizen AW, Currie JL, Seibert K, Isakson PC. 1,2-Diarylpyrroles as potent and selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *J Med Chem*. 1997;40(11):1619-33.
- Riendeau D, Percival MD, Boyce S, Brideau C, Charlston S, Cromlish W, et al. Biochemical and pharmacological profile of a tetrasubstituted furanone as a highly selective COX-2 inhibitor. *Br J Pharmacol*. 1997;121(1):105-17.
- Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, Seibert K, Isakson PC. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997;283(3):1069-75.
- Cuzzocrea S, Sauterin L, De Sarro G, Costantino G, Rombolà L, Mazzon E, Ialenti A, De Sarro A, Ciliberto G, Di Rosa M, Caputi AP, Thiemermann C. Role of IL-6 in the pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *J Immunol*. 1999;163(9):5094-104.
- Morris CJ. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol Biol*. 2003;225:115-21.
- Abd El-Rahman RS, Suddek GM, Gameil NM, El-kashef HA. Protective potential of MMR vaccine against complete Freund's adjuvant-induced inflammation in rats. *Inflammopharmacology*. 2011;19(6):343-8.
- Bhalekar MR, Upadhaya PG, Nalawade SD, Madgulkar AR, Kshirsagar SJ. Anti-rheumatic activity of chloroquine-SLN gel on wistar rats using complete Freund's adjuvant (CFA) model. *Indian J Rheumatol*. 2015;10(1):58-64.
- Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L, Isakson P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(25):12013-7.
- Portanova J, Zhang Y, Anderson GD, Hauser SD, Masferrer JL, Seibert K, Gregory AS, Isakson PC. Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo. *J Exp Med*. 1996;184(3):883-91.
- Sun S, Yin Y, Yin X, Cao F, Luo D, Zhang T, Li Y, Niu L. Anti-nociceptive effects of Tanshinone IIA (THIA) in a rat model of complete Freund's adjuvant (CFA)-induced inflammatory pain. *Brain Res Bull*. 2012;88(6):581-8.
- Barbosa RI, Marcolino AM, de Jesus Guirro RR, Mazzer N, Barbieri CH, de Cássia Registro Fonseca M. Comparative effects of wavelengths of low-power laser in regeneration of sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers Med Sci*. 2010;25(3):423-30.
- Baroni BM, Rodrigues R, Freire BB, Franke RA, Geremia JM, Vaz MA. Effect of low-level laser therapy on muscle adaptation to knee extensor eccentric training. *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(3):639-47.
- Leal-Junior EC, Vanin AA, Miranda EF, de Carvalho Pde T, Dal Corso S, Bjordal JM. Effect of phototherapy (low-level laser therapy and light-emitting diode therapy) on exercise performance and markers of exercise recovery. A systematic review with meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2015;30(2): 925-39.
- Marcolino AM, Barbosa RI, das Neves LM, Mazzer N, de Jesus Guirro RR, de Cássia Registro Fonseca M. Assessment of functional recovery of sciatic nerve in rats submitted to low-level laser therapy with different fluences. An experimental study: laser in functional recovery in rats. *J Hand Microsurg*. 2013;5(2):49-53.
- das Neves LM, Marcolino AM, Prado RP, Ribeiro Tde S, Pinfildi CE, Thomazini JA. Low-level laser therapy on the viability of skin flap in rats subjected to deleterious effect of nicotine. *Photomed Laser Surg*. 2011;29(8):581-7.
- Canever JB, Barbosa RI, Hendler KG, Neves LM, Kuriki HU, Aguiar Júnior AS, Fonseca MCR, Marcolino AM. Effects of photobiomodulation on different application points and different phases of complex regional pain syndrome type I in an experimental model. *Korean J Pain*. 2021;34(3):250-61.
- Albertini R, Aimbire FS, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, Teixeira SA, De Nucci G, Castro-Faria Neto HC, Zângaro RA, Lopes-Martins RA. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. *J Photochem Photobiol B*. 2004;74(2-3):101-7.
- Fukuda TY, Tanji MM, Jesus JF, Sato MN, Duarte AJ, Plapler H. Single session to infrared low level diode laser on tnf-a and il-6 cytokines release by mononuclear spleen cells in mice: a pilot study. *Lasers Surg Med*. 2010;42(6):584-8.
- Fukuda TY, Tanji MM, Silva SR, Sato MN, Plapler H. Infrared low-level diode laser on inflammatory process modulation in mice: pro and anti-inflammatory cytokines. *Lasers Med Sci*. 2013;28(5):1305-13.
- Alves AC, Vieira R, Leal-Junior E, dos Santos S, Ligeiro AP, Albertini R, Junior R, de Carvalho P. Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(5):R116.
- Oliveira RG, Ferreira AP, Côrtes AJ, Aarestrup BJ, Andrade LC, Aarestrup FM. Low-level laser reduces the production of TNF- α , IFN- γ , and IL-10 induced by OVA. *Lasers Med Sci*. 2013;28(6):1519-25.
- Mantinceo M, Pinheiro JP, Morgado AM. Low-level laser therapy on skeletal muscle inflammation: evaluation of irradiation parameters. *J Biomed Opt*. 2014;19(9):098002.
- Farivar S, Malekshahi T, Shiari R. Biological effects of low level laser therapy. *J Lasers Med Sci*. 2014;5(2):58-62.
- Chow R. LLLT Treatment of Pain: Clinical Applications* Chap 17. 265 – 286. In Hamblin MR, Ferraresi C, Huang Y, de Freitas LF, Carroll JD. *Low-Level Light Therapy: Photobiomodulation*. Tutorial Texts in Optical Engineering Volume TT115; Ed. Spie Press, Bellingham, Washington USA, 2018. 390p.
- Chow R, Armati P, Laakso L, Bjordal JM, Baxter GD. Inhibitory effects of laser irradiation on peripheral mammalian nerves and relevance to analgesic effects: a systematic review. *Photomed Laser Surg*. 2011; 29(6): 365-81.
- Yan W, Chow R, Armati PJ. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic nerve: implications for laser-induced analgesia. *J Peripher Nerv Syst*. 2011;16(2):130-5.
- Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, Lopes Martins RA, Bjordal JM. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(1):33-7.
- Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RA. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(2):158-68.
- Chagas LR, Silva Jr JA, de Almeida Pires J, Costa MS. Expression of mPGES-1 and IP mRNA is reduced by LLLT in both subplantar and brain tissues in the model of peripheral inflammation induced by carrageenan. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):83-8.
- Bortone F, Santos HA, Albertini R, Pesquero JB, Costa MS, Silva Jr JA. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle

- of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. *Int Immunopharmacol.* 2008;8(2):206-10.
39. Neves LMS, Gonçalves ECD, Cavalli J, Vieira G, Laurindo LR, Simões RR, Coelho IS, Santos ARS, Marcolino AM, Cola M, Dutra RC. Photobiomodulation therapy improves acute inflammatory response in mice: the role of cannabinoid receptors/ATP-sensitive K⁺ channel/p38-MAPK signalling pathway. *Mol Neurobiol.* 2018;55(7):5580-93.
40. Prianti AC Jr, Silva JA Jr, Dos Santos RF, Rosseti IB, Costa MS. Low-level laser therapy (LLLT) reduces the COX-2 mRNA expression in both subplantar and total brain tissues in the model of peripheral inflammation induced by administration of carrageenan. *Lasers Med Sci.* 2014;29(4):1397-403.
41. Laraia EM, Silva IS, Pereira DM, dos Reis FA, Albertini R, de Almeida P, Leal Junior EC, de Tarso Camillo de Carvalho P. Effect of low-level laser therapy (660 nm) on acute inflammation induced by tenotomy of achilles tendon in rats. *Photochem Photobiol.* 2012;88(6):1546-50.
42. Meneguzzo DT, Lopes LA, Pallota R, Soares-Ferreira L, Lopes-Martins RA, Ribeiro MS. Prevention and treatment of mice paw edema by near-infrared low-level laser therapy on lymph nodes. *Lasers Med Sci.* 2013;28(3):973-80.
43. Mazuqueli Pereira ESB, Basting RT, Abdalla HB, Garcez AS, Napimoga MH, Clemente-Napimoga JT. Photobiomodulation inhibits inflammation in the temporomandibular joint of rats. *J Photochem Photobiol B.* 2021; 222:112281.
44. de Souza Costa M, de Brito TV, de Oliveira SB, Souza Brauna I, Mazulo Neto JCR, Teles RHG, Dutra YM, de Aguiar Magalhães D, Sousa SG, de Sousa JA, Branco CERC, Hazime FA, Reis Barbosa AL, Vasconcelos DFP, Medeiros JVR, de Carvalho Filgueiras M. Photobiomodulation exerts anti-inflammatory effects on the vascular and cellular phases of experimental inflammatory models. *Lasers Med Sci.* 2022;37(1):563-71.
45. Silva MP, Bortone F, Silva MP, Araújo TR, Costa MS, Silva Júnior JA. Inhibition of carrageenan-induced expression of tissue and plasma prekalikreins mRNA by low level laser therapy in a rat paw edema model. *Rev Bras Fisioter.* 2011;15(1):1-7.
46. de Vasconcelos DI, Leite JA, Carneiro LT, Piuevam MR, de Lima MR, de Morais LC, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of ouabain in mice. *Mediators Inflamm.* 2011;2011:912925.
47. Ferreira DM, Zângaro RA, Villaverde AB, Cury Y, Frigo L, Pícolo G, et al. Analgesic effect of he-ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(2):177-81.
48. Pallotta RC, Bjordal JM, Frigo L, Leal Junior EC, Teixeira S, Marcos RL, Messias Fde M, Lopes-Martins RA. Infrared (810-nm) low-level laser therapy on rat experimental knee inflammation. *Lasers Med Sci.* 2012;27(1):71-8.
49. Assis L, Milares LP, Almeida T, Tim C, Magri A, Fernandes KR, Medalha C, Renno AC. Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015;24(1):169-77.
50. Hochman B, Pinfieldi CE, Nishioka MA, Furtado F, Bonatti S, Monteiro PK, Antunes AS, Quierregatto PR, Liebano RE, Chadi G, Ferreira FM. Low-level laser therapy and light-emitting diode effects in the secretion of neuropeptides SP and CGRP in rat skin. *Lasers Med Sci.* 2014;29(3):1203-8.
51. Dompe C, Moncrieff L, Matys J, Grzech-Lesniak K, Kocherova I, Bryja A, Bruska M, Dominiak M, Mozdziak P, Skiba THI, Shibli JA, Angelona Volponi A, Kempisty B, Dyszkiewicz-Konwinska M. Photobiomodulation - underlying mechanism and clinical applications. *J Clin Med.* 2020;9(6):1724.
52. Hamblin MR, Ferraresi C, Huang Y, de Freitas LF, Carroll JD. *Low-Level Light Therapy: Photobiomodulation.* Tutorial Texts in Optical Engineering Volume TT115; Ed. Spie Press, Bellingham, Washington USA, 2018; 390p.
53. Bjordal JM, Lopes-Martins RAB, Joensen J, Iversen VV. The anti-inflammatory mechanism of low level laser therapy and its relevance for clinical use in physiotherapy. *Phys Ther Rev.* 2010;15(4):286-93.