

Aplicação da terapia por fotobiomodulação vascular em indivíduos com lombalgia e sua relação com a metilação global

Application of vascular photobiomodulation therapy in individuals with low back pain and its relationship with global methylation

Layse Rafaela Moroti-Perugini¹, Isadora Fernandes Cônsolo¹, Ana Francisca Rocha Feio-Ribeiro¹, Rodrigo Antonio Andraus¹, Regina Célia Poli^{1,2}

DOI 10.5935/2595-0118.20230090-pt

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A lombalgia está entre as condições mais incapacitantes no mundo e; dentre os fatores epigenéticos, a metilação em ilhas CpG de regiões promotoras de genes pode modular a expressão gênica permitindo uma possível correlação ao desenvolvimento da doença, como também pode trazer esclarecimentos a respeito do tratamento a ser escolhido. O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia da terapia através do uso do ILIB modificado relacionada ao processo de metilação de DNA na lombalgia. Os objetivos secundários deste estudo foram a investigação da intensidade da dor, sexo, dados sociodemográficos e perfil físico-funcional.

MÉTODOS: Este estudo, desenvolvido em um município da região sul do Brasil, caracteriza-se como prospectivo. A amostra deste estudo foi composta por 30 participantes, de ambos os sexos, com idade média de 41,77 anos. Foram analisados os seguintes aspectos: características antropométricas, metilação global através do método ELISA, nível de dor, nível de atividade física, incapacidades funcionais e nível de hesitação para realizar atividades relacionada ao trabalho e atividade física.

RESULTADOS: Observou-se associação estatisticamente significativa entre os níveis de metilação antes e a após aplicação

do tratamento para grupo experimental e placebo ($p < 0,005$) demonstrando uma média responsividade entre as variáveis metilação e tratamento ($d = 0,5$). No entanto, não houve nenhuma outra associação estatística correlacionada as demais variáveis do trabalho.

CONCLUSÃO: Os resultados obtidos neste estudo sugerem que há necessidade mais estudos relacionados a identificação de genes específicos na metilação, além da necessidade de padronização de dosimetria utilizadas para aplicação do laser ILIB de forma transcutânea, em artéria radial.

Descritores: Dor, Epigenética, Lombalgia, Metilação do DNA, Terapia com luz de baixa intensidade.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Low back pain is among the most disabling conditions worldwide, and among the epigenetic factors, methylation in CpG islands of gene promoter regions can modulate gene expression, potentially correlating with the development of the disease and providing insights into the choice of treatment. The objective of this study was to assess the efficacy of therapy using modified ILIB related to DNA methylation processes in low back pain. Secondary objectives of this study included investigating pain intensity, gender, sociodemographic data, and physical-functional profile.

METHODS: This prospective study was conducted in a municipality in the southern region of Brazil. The sample consisted of 30 participants of both genders, with an average age of 41.77 years. The following aspects were analyzed: anthropometric characteristics, global methylation using the ELISA method, pain level, physical activity level, functional disabilities, and hesitancy level related to work and physical activity-related activities.

RESULTS: A statistically significant association was observed between methylation levels before and after treatment application for the experimental and placebo groups ($p < 0.005$), demonstrating a mean responsiveness between methylation and treatment ($d = 0.5$). However, there were no other statistically significant associations correlated with the other work variables.

CONCLUSION: The results obtained in this study suggest the need for further research related to the identification of specific genes in methylation, as well as the standardization of dosimetry used for transcutaneous ILIB laser application in the radial artery.

Keywords: DNA methylation, Epigenetics, Low back pain, Low intensity light therapy, Pain.

Layse Rafaela Moroti-Perugini – <https://orcid.org/0000-0002-4270-4001>;
Isadora Fernandes Cônsolo – <https://orcid.org/0000-0001-5048-2106>;
Ana Francisca Rocha Feio-Ribeiro – <https://orcid.org/0009-0004-4773-0227>;
Rodrigo Antonio Andraus – <https://orcid.org/0000-0002-3849-0872>;
Regina Célia Poli – <https://orcid.org/0000-0003-4631-4606>.

1. Universidade Pitágoras Unopar Anhanguera, Biologia Molecular, Londrina, PR, Brasil.
2. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Medicina, Londrina, PR, Brasil.

Apresentado em 07 de julho de 2023.

Aceito para publicação em 10 de outubro de 2023.

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

DESTAQUES

- Alterações relacionadas ao processo de metilação e sua relação ao tratamento ILIB modificado;
- O tratamento ILIB modificado e sua relação com o quadro algico;
- Não há consenso epigenético para alterações de metilação e a lombalgia, necessitando mais estudos para esclarecer a sua correlação com a doença.

Editor associado responsável: Vania Maria de Araújo Giarretta
<https://orcid.org/0000-0003-4231-5054>

Correspondência para:

Regina Célia Poli

E-mail: regina.frederico@platosedu.com.br

INTRODUÇÃO

A dor lombar (DL) é uma condição complexa e pode ser classificada de acordo com seu mecanismo em nociceptiva, neuropática e nociplástica. Vale ressaltar que a percepção de dor é diferente da nocicepção, pois envolve não apenas a ativação de fibras nervosas, mas também fatores emocionais, cognitivos, comportamentais, genéticos e epigenéticos^{1,2}. Desta forma, diferentes alterações epigenéticas podem estar relacionadas à DL, incluindo a metilação em ilhas CpG de regiões promotoras de genes podendo modular a expressão gênica sem que haja alteração na sequência de DNA². Alguns genes, como CELSR1, NAV1, MINK1 e KIF11 já apresentaram regiões específicas metiladas, sendo que estas foram correlacionadas ao processo algico, participação/migração célula-célula e diferenciação neural³. Além disso, a metilação de genes envolvidos na resposta inflamatória e na regeneração do tecido pode afetar a suscetibilidade à DL e a capacidade de recuperação após lesões. Compreender os mecanismos epigenéticos subjacentes à DL pode ajudar a identificar novos alvos terapêuticos e personalizar o tratamento para pacientes com diferentes perfis epigenéticos^{4,5}. Apesar da existência de vários tipos de lasers para tratamento algico e inflamatório, o laser ILIB de aplicação modificada ou ILIB modificado (irradiação a laser não invasiva do sangue por meio transcutâneo) é um recurso terapêutico que emite fótons de luz que são absorvidos por fotorreceptores do corpo, causando uma alteração no transporte de elétrons e do potencial de membrana mitocondrial; desta forma, impactando a síntese mitocondrial de ATP⁶. As mitocôndrias respondem ao tratamento ativando fatores de transcrição, realizando a modulação da expressão e síntese de proteínas pró-inflamatórias⁷. Entretanto, os mecanismos epigenéticos envolvidos nesse processo são ainda desconhecidos; bem como a eficácia deste tratamento em pacientes com lombalgia, sendo este o primeiro estudo a realizar estas análises. Percebendo uma possível correlação entre o processo inflamatório e o tratamento realizado por irradiação a laser não invasiva do sangue com a DL, nota-se a necessidade de compreensão mais aprofundada dos aspectos relacionados a eficácia do tratamento, como também sua relação com as alterações epigenéticas relacionadas, e verificadas através do processo de metilação. Os objetivos secundários deste estudo foram a investigação da intensidade da dor antes e após aplicação do tratamento, sexo e dados sociodemográficos para caracterização de heterogeneidade amostral e perfil físico-funcional.

MÉTODOS

Este trabalho é um estudo piloto que contou com 30 indivíduos adultos, com idade entre 18 e 59 anos; que foram recrutados via telefone, e-mail ou por publicações em *sites* pertencentes as universidades idealizadoras do projeto. Esta faixa etária foi selecionada para que pudesse fornecer dados de uma amostra mais heterogênea em termos de saúde geral, *status* de trabalho e fatores contribuintes para o desenvolvimento e agravamento da DL.

Foram incluídos no estudo indivíduos que apresentavam DL sem causa idiopática e que estivessem inseridos no mercado de trabalho. Foram excluídos aqueles participantes que apresentassem: qualquer tipo de doença neurológica, cardiopulmonar, metabólica, ortopédicas, vestibulopatias, crises labirínticas, problemas mentais, distúrbios de

atenção e fala, algum problema que pudesse interferir nos testes físicos e funcionais, ter realizado algum tipo de cirurgia do aparelho locomotor, em uso de analgésicos, relaxantes musculares, anti-inflamatórios no período do estudo, gestante e não se voluntariar de forma gratuita. Todos os dados e avaliações realizadas com os voluntários ocorreram em laboratórios específicos para tais atividades. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa envolvendo seres humanos com o parecer substanciado de número 5.344.523 de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

O estudo foi realizado em etapas. Inicialmente foram fornecidas informações sobre a pesquisa (os participantes da pesquisa foram informados sobre os objetivos do estudo e os procedimentos adotados na coleta de dados e, ao estarem cientes, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando em participar da pesquisa); após estarem cientes e de acordo com os termos da pesquisa foram realizadas entrevista e coleta de dados (os indivíduos voluntários foram submetidos aos instrumentos de avaliação, em seguida discutidos, e para caracterização da amostra foram realizadas perguntas como: idade, sexo, tabagismo, alcoolismo, uso de fármacos e outras drogas, além disso foram realizadas as medidas antropométricas de cada participante: peso corporal e altura. Tais dados foram coletados para maior compreensão amostral. Nesta etapa, também ocorreu a obtenção das amostras biológicas pré-realização do ILIB modificado); aplicação do tratamento: os participantes foram separados em dois grupos; sendo um grupo experimental e um grupo placebo. A seleção dos participantes pertencentes aos grupos foi definida através da escolha aleatória de envelopes pré-definidos, sendo, portanto, 15 envelopes para tratamento e 15 envelopes para placebo.

Para a aplicação do laser os voluntários se posicionaram sentados em uma cadeira com encosto para acomodar a região lombar e amenizar o cansaço do posicionamento, os pés ficaram apoiados no chão e o braço apoiado em uma mesa localizada logo a frente do paciente. A aplicação do tratamento foi realizada com uma separação entre o paciente e o laser, impedindo que houvesse a visualização do tratamento. A região de aplicação do laser escolhida foi a artéria radial esquerda, com duração de 30 minutos.

Todos os indivíduos pertencentes ao grupo experimento receberam 10 sessões em dias consecutivos do ILIB modificado, em um comprimento de onda de 660nm, com potência 100 mW, na frequência de 1J/cm²; sendo um laser vermelho. Todos os parâmetros de aplicação são próprios do aparelho, preestabelecidos pelo fabricante (DMC Equipamentos). No grupo dos pacientes selecionados como placebo, houve o mesmo posicionamento de aplicação e mesmo número de sessões, porém o laser se encontrava desligado.

Após aplicação do tratamento, os participantes foram reavaliados. Respondendo novamente aos instrumentos de avaliação e realizando uma nova coleta de material biológico.

• Um questionário desenvolvido para mensurar os níveis de evitação de dor devido ao medo relacionados a execução do próprio trabalho e à atividade física em pacientes com lombalgia é o *Fear Avoidance Beliefs Questionnaire* (FABQ). O instrumento de análise é subdividido em: uma subescala de atividade física composto por quatro itens (FABQ-Phy) e uma de trabalho composto por sete itens (FABQ-Work). Cada item é pontuado de zero a 6 e somado para produzir a pontuação. As pontuações possíveis variam de zero a 28 para o FABQ-Phy e de zero a 42 para o FABQ-Work¹¹.

- O DNA foi obtido a partir da escala analógica visual (EAV) utilizada para avaliar a intensidade da DL nos pacientes. A escala refere-se à pontuação de zero (nenhuma dor) a 10 (pior dor imaginável)⁸.
- Para a avaliação das incapacidades funcionais foi utilizado o questionário de Roland Morris (QRM). Esse questionário, validado para uso no Brasil, tem a finalidade de avaliar as incapacidades funcionais do paciente com DL. Ele conta com 24 itens que fazem uma correlação entre a capacidade funcional e os sintomas dolorosos do paciente. Esta lista possui algumas frases que os indivíduos têm utilizado para se descreverem quando sentem dores nas costas. Cada frase assinalada corresponde a um ponto, assim, a pontuação varia de zero a 24, e quanto maior a pontuação obtida maior é a influência da DL nas suas capacidades funcionais⁹.
- O questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) foi usado para verificar a média de tempo semanal despendida em atividades físicas de intensidades variadas (leve, moderada e intensa)¹⁰. A sua aplicação foi realizada na versão longa que engloba as áreas de trabalho, transporte, atividades domésticas e lazer e do tempo despendido por semana na posição sentada¹⁰.

O DNA foi obtido a partir de leucócitos do sangue periférico, coletado com EDTA, utilizando o *Kit* de extração de DNA *Pure Link Genomic DNA* (Invitrogen, Carlsbad, EUA), segundo as orientações do fabricante. Os DNA extraídos, foram acondicionados em freezer (80°C) até o momento da realização das análises. A avaliação da qualidade e quantidade de DNA foi realizada por meio de análise de absorvância em espectrofotômetro (NanoDrop 2000 – Thermo Scientific) a 260nm e 280nm. Posteriormente, foi realizada a diluição do DNA em água ultrapura para a concentração final de 50ng/μL.

A análise da metilação global foi realizada em duplicata utilizando o kit *Imprint Methylated DNA Quantification* (MDQ1, Imprint, Sigma-Aldrich) para detectar níveis relativos de DNA metilado, com base no princípio *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Foi utilizado um formato de placa de 96 poços. As amostras de DNA foram diluídas em solução de ligação, e a quantidade de DNA utilizada foi calculada para obter uma concentração final de 50ng/μL. A ligação do DNA foi alcançada incubando 30 μL de DNA diluído a 37°C por uma hora. Foi adicionada solução de bloqueio e as amostras foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos. O DNA metilado foi então capturado usando anticorpos de captura e detectados por ligação aos anticorpos de detecção previamente diluídos. Conforme declarado pelo fabricante do *kit*, após a adição de uma solução de desenvolvimento nos poços, ocorreu uma reação colorimétrica¹³.

Portanto, as mudanças de cor foram monitoradas, tanto após a adição da solução de desenvolvimento quanto 10 minutos após a incubação, quando a solução de parada foi adicionada. Tanto um controle negativo (branco) quanto um controle com DNA 100% metilado (controle positivo) foram analisados com as amostras de DNA. A absorvância foi medida em 450 nm. A porcentagem de metilação global do DNA foi calculada considerando a seguinte fórmula: $[(A450nmAmostra - A450nmBranco) / A450nmDNA \text{ controle metilado} - A450nmBranco] \times 100$ ¹³.

Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados obtidos, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk, e após análise, notou-se que os dados possuíam

um valor de $p > 0,05$ e foram considerados normais, portanto, paramétricos. As diferenças nas variáveis contínuas entre os grupos foram avaliadas com o teste *t* de Student e expressas como média e desvio padrão. O teste Qui-quadrado ou Exato de Fischer foram utilizados para análise de associação entre a variável dependente (tratamento) e as demais variáveis do estudo: IPAQ, FABQ, EAV, QRM, tabagismo, etilismo. Para avaliar o tamanho do efeito do tratamento foi utilizado o teste *d* de Cohen; o tamanho do efeito foi interpretado como $d \leq 0,2$, tamanho de efeito pequeno; $d > 0,2 \leq 0,7$, tamanho de efeito médio; $d \geq 0,8$ tamanho de efeito grande. As variáveis categóricas foram expressas em números absolutos e em porcentagem. As análises estatísticas foram realizadas no IBM SPSS Windows 24 (SPSS, Inc; Chicago, IL, EUA) e o valor de significância adotado foi $p < 0,05$.

RESULTADOS

A amostra do estudo incluiu um total de 30 participantes, sendo 12 homens, com média de idade de $42 \pm 11,91$ anos, e 18 mulheres, com média de idade de $41,61 \pm 12,27$ anos. Em relação a raça, 50% dos voluntários eram brancos, 40% pardos e 10% negros. Do número total de participantes, 80% deles não faziam uso de tabaco e 60% não consumiam álcool. Em relação à prática de exercício físico, 76,7% não realizavam nenhum exercício; 16,6% das pessoas realizavam exercícios de uma a três vezes na semana, e apenas 6,6% das pessoas realizavam exercício de cinco a sete vezes na semana (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição demográfica e características da população do estudo

Características	n	%
Sexo		
Masculino	12	40
Feminino	18	60
Idade (anos)		
21 - 30	7	23,33
31 - 40	8	26,66
41 - 50	4	13,33
50 - 58	11	36,66
Tabagismo		
Não	24	80
Sim	6	20
Etilismo		
Não	18	60
Sim	12	40
Exercício físico		
Não realiza	23	76,7
1-3x/semana	5	16,6
5-7x/semana	2	6,66
Raça		
Branco	15	50
Pardo	12	40
Negro	3	10

Tabela 2. Associação entre o tratamento e as demais variáveis apresentadas no estudo.

Características		Com tratamento (%)	Placebo (%)	Teste Qui-Quadrado de Pearson	Valor de p
IPAQ - pré	Sedentário	6,7	6,7	4,629	0,328
	Intermediário	43,3	46,6		
	Ativo	60	46,6		
IPAQ - pós	Sedentário	26,7	13,3	3,818	0,431
	Intermediário	20	46,7		
	Ativo	53,4	40		
Tabagismo	Sim	73,3	86,7	0,833	0,361
	Não	26,7	13,3		
Etilismo	Sim	26,7	53,3	2,222	0,136
	Não	73,3	46,7		
EAV - pré	0 a 3	30	23,1	12,623	0,179
	4 a 7	50	37,7		
	8 a 10	20	38,5		
EAV - pós	0 a 3	80	69,3	3,487	0,837
	4 a 7	20	23,1		
	8 a 10	0	7,7		
FABQ -phys	0 - 12	80	84,7	9,92	0,357
	13 - 24	20	15,3		
FABQ -work	0 - 12	50	23,1	16,896	0,392
	13 - 24	20	53,9		
	25 - 42	30	23,1		
QRM - pré	0 - 13	60	46,2	16,082	0,308
	14 - 24	40	53,9		
QRM - pós	0 - 13	90	53,9	18,253	0,250
	14 - 24	10	46,2		

IPAQ = pré-questionário internacional de atividade física pré-aplicação do laser; IPAQ-pós = questionário internacional de atividade física pós aplicação do laser; EAV-V-pré = escala visual analógica pré-aplicação do laser; EAV-pós = escala visual analógica pós aplicação do laser; FABQ-phys = *Fear Avoidance Beliefs Questionnaire* relacionada a atividade física; FABQ-work = *Fear Avoidance Beliefs Questionnaire* relacionado ao trabalho; QRM-pré = questionário Roland Morris pré-aplicação do laser; QRM-pós = questionário Roland Morris pós aplicação do laser.

Tabela 3. Relação da variável metilação e aplicação do laser ILIB modificado.

	n	Média (%)	Desvio padrão	Valor de p
Grupo Placebo				
Pré-tratamento	13	32,24	14,85	0,00001
Pós-tratamento	13	24,74	18,43	
Grupo Experimental				
Pré-tratamento	10	41,88	16,32	0,00002
Pós-tratamento	10	34,13	19,81	

Como pode ser observado na tabela 2, não houve mudança estatisticamente relevante ($p > 0,05$) nas variáveis IPAQ, FABQ, EAV, QRM, tabagismo, etilismo após a realização do tratamento com ILIB modificado.

Em relação a metilação, houve significância estatística entre os grupos pré e pós-aplicação do laser ILIB modificado, tanto no grupo tratamento quanto no controle, conforme exposto na tabela 3. É possível verificar uma média de $32,24 \pm 14,85$ de metilação para o grupo controle pré-aplicação do laser, e uma média de metilação de $24,74 \pm 18,73$ deste mesmo grupo pós-aplicação do tratamen-

to ($p < 0,01$); já para o grupo tratamento houve uma média de $41,88 \pm 16,32$ pré-irradiação do laser e de $34,13 \pm 19,81$ pós-irradiação ($p < 0,01$).

O tamanho do efeito do tratamento com o laser ILIB modificado foi de $d = 0,5$, considerado como um tamanho de efeito médio em relação a metilação global de DNA.

Não houve correlação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre metilação e as outras variáveis do estudo (IPAQ, EAV, FABQ, QRM, tabagismo, etilismo).

DISCUSSÃO

O estudo investigou o efeito da aplicação da terapia ILIB modificado no processo de metilação do DNA em indivíduos com lombalgia. Apesar de não se encontrar nenhuma correlação entre o tratamento e as outras variáveis do estudo, como: melhora das incapacidades funcionais, através do QRM; melhora da intensidade da dor, através da EAV; ou mesmo do tempo despendido para atividades físicas variadas, verificado através do IPAQ; os níveis de metilação pré-aplicação do tratamento e pós-aplicação, apresentaram diferenças significativas, indicando um aumento da expressão, tanto no grupo

experimental, quanto no grupo placebo. Baseado no tamanho de efeito do tratamento, a diminuição da porcentagem de metilação global apresentou um efeito médio, apontando que a intervenção para a metilação apresenta uma média responsividade.

A metilação do DNA, geralmente, atua silenciando genes quando ocorre nas regiões promotoras e intensificadoras dos genes¹⁴. Sabendo que a metilação do DNA possui um papel importante na expressão de genes, ela também pode contribuir para a ocorrência de alterações epigenéticas, colaborando para o desenvolvimento de diversas doenças¹⁵, como a lombalgia no caso da ativação do NF-KB, que atua na inflamação através da transcrição de genes pró-inflamatórios, assim agravando a degeneração do disco intervertebral, o que ocorre quando há hipermetilação dos genes: CARD14, EFHD2, RTKN2¹⁶.

Outros casos, também relacionados a hipermetilação^{17,18}, avaliaram a relação entre a metilação do TRPA1 e a dor em diferentes circunstâncias; sendo que o primeiro estudo faz a comparação entre a dor neuropática em indivíduos com dor crônica e pacientes de pré-operatórios para cirurgia torácica; enquanto o segundo estudo realizou a análise de pacientes com a doença de Crohn, relacionada à inflamação, com indivíduos saudáveis; em ambos os trabalhos os pesquisadores encontraram associação entre a dor e o nível de metilação.

Segundo o estudo¹⁹, há alguns fatores que podem influenciar no processo de análise da metilação: um grupo amostral ser o mesmo, análises de amostras biológicas distintas (saliva e sangue), trazendo resultados de hiper e hipometilação. Os autores também enfatizam que alguns métodos investigativos da metilação podem identificar com maior sensibilidade as áreas de interesse. Assim, os níveis de metilação e a identificação dos genes envolvidos no processo de análise tornam-se importantes para melhorar compreensão e trazem esclarecimentos aos dados obtidos, já que genes distintos podem metilar diferentemente¹⁹.

Um estudo²⁰ relacionado ao câncer observou que a metilação de L3MBTL1 relacionou-se com menor expressão gênica e ao baixo risco de recorrência do câncer, sendo um fator de proteção.

Desta forma, é possível que diferentes genes sejam hipermetilados e atuem de diferentes formas. O estudo²¹ destacou o gene CD44, o qual atua na interleucina-4 (IL-4) e no Interferon- γ (IFN- γ). A ativação das células T encefalitogênicas CD44 pelo peptídeo oligodendrócito mielina glicoproteína (MOG) levou a uma desmetilação da região promotora de IFN- γ e da interleucina-17 (IL-17), e a uma hipermetilação do promotor do gene IL-4 e *Forkhead winged helix transcription factor-3* (Foxp3). A ativação semelhante das células T encefalitogênicas deficientes em CD44 levou a uma hipermetilação do gene IFN- γ e IL-17a e a uma desmetilação do promotor do gene IL-4 e Foxp3. Os pesquisadores concluíram que o gene CD44 regula reciprocamente a diferenciação das células T encefalitogênicas, por meio da metilação do DNA dos promotores dos genes IFN- γ /IL-17a e IL-4/Foxp3²¹.

No presente estudo foi avaliada a metilação global por meio do método ELISA, não sendo possível a identificação de quais genes estavam ou não metilados, impossibilitando a investigação da expressão de genes específicos que, por exemplo, poderiam codificar citocinas pró ou anti-inflamatórias. No entanto, este trabalho ressalta a diferença existente entre os grupos antes e após o tratamento; e que apesar de haver uma diferença nesses grupos, mesmo no grupo placebo, houve uma hipometilação global do DNA. Portanto, apresentando

uma média responsividade. Porém, a identificação dos genes poderia contribuir para distinção e maiores esclarecimentos por parte dos resultados, visto que a hiper/hipometilação pode ocorrer em genes distintos, em diferentes ocasiões, conforme visto em estudos anteriores, e mesmo que em efeito placebo, diferentes genes poderiam ser expressos¹⁹⁻²¹.

Levando em consideração a escolha do tratamento, fotobiomodulação vascular (VPBM) ou ILIB modificado; sabe-se que a aplicação deste laser atua na absorção por fótons de luz por fotorreceptores, como a enzima citocromo C oxidase, acarretando aumento no transporte de elétrons e do potencial de membrana mitocondrial; e portanto, aumento na síntese mitocondrial de ATP^{6,7}. As mitocôndrias respondem ao tratamento ativando fatores de transcrição, realizando a modulação da expressão e síntese de proteínas pró-inflamatórias; conferindo, também, melhora do quadro algico⁸.

Apesar disso, o presente estudo não observou melhora na intensidade da dor (avaliada pela EAV) após a aplicação do tratamento. Este resultado também foi encontrado no estudo²², em que a terapia por fotobiomodulação não apresentou superioridade em relação ao grupo placebo na melhora da dor e incapacidades em pacientes com DL crônica não específica. Os autores²³ também trazem resultados semelhantes, afirmando não haver diferença entre o grupo placebo e o experimental em suas análises.

Em outros trabalhos^{24,25}, a aplicação do ILIB modificado apontou respostas positivas, como: melhora para doenças crônicas sistêmicas, modulação da inflamação e redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias²⁴⁻²⁶.

Além disso, em revisão sistemática²⁵ sobre ILIB modificado e ILIB (*Intravascular irradiation of blood*), os pesquisadores destacaram a problemática em relação a dosimetria, em que doses muito baixas podem não apresentar respostas no tecido irradiado, enquanto doses muito altas podem causar inibição; além do tempo e potência de irradiação. Porém, não há consenso a respeito das doses a serem utilizadas; assim, dificultando o uso do tratamento com laser de baixa potência²⁵.

Foi verificada neste estudo uma significância estatística entre a dor e o tratamento, as demais variáveis também não apresentaram correlação. Tanto o medo, nível de atividade física e incapacidades funcionais permaneceram sem grandes alterações; trazendo questionamentos correlacionados a percepção da dor e do tratamento ofertado. Visto que pessoas com DC possuem a tendência em adotar comportamentos de evitação, acabam desenvolvendo medo de realizar certas atividades, gerando maior grau de incapacidade; o período de tratamento ofertado neste trabalho, poderia, também, não proporcionar a segurança necessária para quebra do padrão estabelecido pelos próprios pacientes, desta forma as variáveis não manifestariam diferenças significativas estatisticamente²⁶.

Assim, é necessário que se tenha mais clareza a respeito da dosimetria a ser utilizada, tempo de tratamento; como, também, especificidade a respeito dos genes metilados a serem avaliados, já que a não identificação destes não deixa claro a situação de mecanismos pró ou anti-inflamatórios atuantes nos diferentes grupos.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo apontam uma hipometilação global do DNA entre os grupos pré e pós-aplicação do ILIB modificado

para o grupo placebo e experimental, demonstrando uma média responsividade entre as variáveis metilação e tratamento. Faz-se necessário mais estudos relacionados ao tema, e a identificação dos genes específicos para maior clareza dos dados obtidos.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Layse Rafaela Moroti-Perugini

Análise Estatística, Coleta de Dados, Investigação, Metodologia, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição, Software

Isadora Fernandes Cônsolo

Coleta de Dados

Ana Francisca Rocha Feio-Ribeiro

Coleta de Dados

Rodrigo Antonio Andraus

Coleta de Dados

Regina Célia Poli

Análise Estatística, Aquisição de Financiamento, Conceitualização, Gerenciamento de Recursos, Gerenciamento do Projeto, Redação - Revisão e Edição, Supervisão

REFERÊNCIAS

- Knezevic NN, Candido KD, Vlaeyen JWS, Van Zundert J, Cohen SP. Low back pain. *Lancet*. 2021;398(10294):78-92.
- Suntsov V, Jovanovic F, Knezevic E, Candido KD, Knezevic NN. Can implementation of genetics and pharmacogenomics improve treatment of chronic low back pain? *Pharmac*. 2020;12(9):894.
- Aroke EN, Jackson P, Meng L, Huo Z, Overstreet DS, Penn TM, Quinn TL, Cruz-Almeida Y, Goodin BR. Differential DNA methylation in Black and White individuals with chronic low back pain enrich different genomic pathways. *Neurobiol Pain*. 2022;25(11):100086.
- Adhikari B, Starkweather A, Xu W, Acabchuk RI, Ramesh D, Eze B, Yang Y, Yang Gs, Walker J, Laubenbacher R, Park CL. A feasibility study on yoga's mechanism of action for chronic low back pain: psychological and neurophysiological changes, including global gene expression and DNA methylation, following a yoga intervention for chronic low back pain. *Pilot Feasibility Stud*. 2022;(8):142.
- Tomé RFF, Silva DFB, Dos Santos CAO, Vasconcelos Neves G, Rolim AKA, Castro Gomes DQ. IL1B (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases-an integrative literature review. *Lasers Med Sci*. 2020;35(9):1899-907.
- Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys*. 2017;4(3):337-61.
- Zein R, Selting W, Hamblin MR. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. *J Biomed Opt*. 2018;23:1.
- Guyatt GH, Townsend M, Berman LB, Keller JL. A comparison of Likert and visual analogue scales for measuring change in function. *J Chronic Dis*. 1987;40(12):1129-33.
- Roland M, Fairbank J. The Roland-Morris Disability Questionnaire and the Oswestry Disability Questionnaire. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000;25(24):3115-24.
- Benedetti TRB, Antunes PC, Rodrigues-Añez CR, Mazo GZ, Petroski EL. Reprodutibilidade e validade do questionário internacional de atividade física (IPAQ) em homens idosos. *Rev Bras Med Esporte*. 2007;13(1):11-6.
- Cleland JA, Fritz JM, Brennan GP. Predictive validity of initial fear avoidance beliefs in patients with low back pain receiving physical therapy: is the FABQ a useful screening tool for identifying patients at risk for a poor recovery? *Eur Spine J*. 2008;17(1):70-9.
- Gryzinska M, Blaszczak E, Strachecka A, Jezewska-Witkowska G. Analysis of age-related global DNA methylation in chicken. *Biochem Genet*. 2013;51(7-8):554-63.
- Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet*. 2012;13(7):484-92.
- Jin Z, Liu Y. DNA methylation in human diseases. *Genes Dis*. 2018;5(1):1-8.
- Cao G, Yang S, Cao J, Tan Z, Wu L, Dong F, Ding W, Zhang F. The role of oxidative stress in intervertebral disc degeneration. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:2166817.
- Takenaka S, Sukenaga N, Ohmuraya M, Matsuki Y, Maeda L, Takao Y, Hirose M. Association between neuropathic pain characteristics and DNA methylation of transient receptor potential ankyrin 1 in human peripheral blood. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(8):e19325.
- Gombert S, Rhein M, Winterpacht A, Münster T, Hillemecher T, Leffler A, Frieling H. Transient receptor potential ankyrin 1 promoter methylation and peripheral pain sensitivity in Crohn's disease. *Clin Epigenetics*. 2019;12(1):1.
- Voisin S, Eynon N, Yan X, Bishop DJ. Exercise training and DNA methylation in humans. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015;213(1):39-59.
- Satoh K, Ginsburg E, Vonderhaar BK. Msx-1 and Msx-2 in mammary gland development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2004;9(2):195-205.
- Li X, Xiao B, Chen XS. DNA methylation: a new player in multiple sclerosis. *Mol Neurobiol*. 2017;54(6):4049-59.
- Guimarães LS, Costa LDCM, Araujo AC, Nascimento DP, Medeiros FC, Avanzi MA, Leal-Junior ECP, Costa LOP, Tomazoni SS. Photobiomodulation therapy is not better than placebo in patients with chronic nonspecific low back pain: a randomised placebo-controlled trial. *Pain*. 2021;162(6):1612-20.
- Ay S, Doğan ŞK, Evcik D. Is low-level laser therapy effective in acute or chronic low back pain? *Clin Rheumatol*. 2010;29(8):905-10.
- da Silva Leal MV, Lima MO, Nicolau RA, de Carvalho TMT, Abreu JAC, Pessoa DR, Arisawa EALS. Effect of modified laser transcutaneous irradiation on pain and quality of life in patients with diabetic neuropathy. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2020;38(3):138-44.
- da Silva JGF, Dos Santos SS, de Almeida P, Marcos RL, Lino-Dos-Santos-Franco A. Effect of systemic photobiomodulation in the course of acute lung injury in rats. *Lasers Med Sci*. 2021;36(5):965-73.
- Dos Santos Malavazzi TC, Fernandes KPS, Lopez TCC, Rodrigues MFSD, Horliana ACRT, Bussadori SK, Mesquita-Ferrari RA. Effects of the invasive and non-invasive systemic photobiomodulation using low-level laser in experimental models: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2023;38(1):137.
- Xiao J. (Ed.) Physical exercise for human health. *Adv Experimental Med Biol*. 2020.

