



ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

Kelly Christine Ferreira Folhadella¹, Ives Charlie da Silva², Anderson Zanardi de Freitas³, Aguinaldo Silva Garcez⁴, Silvia Cristina Nunez¹

¹ *Universidade Brasil, Instituto Científico e Tecnológico, Bioengenharia, São Paulo, SP*

² *Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP*

³ *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo, Brasil*

⁴ *Faculdade São Leopoldo Mandic, Campinas, Brasil*

kfolhadella@gmail.com*



ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

I CONTEC BRASIL

I CONGRESSO ACADÊMICO E
TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

INTRODUÇÃO

- A Fotobiomodulação (FBM) – Abrange ampla gama de aplicações clínicas / seus mecanismos de atuação na inflamação ainda são objeto de investigação em diferentes tipos de modelos experimentais.
- O *zebrafish*, ou paulistinha - modelo animal amplamente utilizado pela indústria farmacêutica e as condições necessárias ao seu manejo adequado, assim como sua manutenção já estão bem estabelecidos¹⁸.
- Seu genoma foi sequenciado e quando comparado com o genoma humano, aproximadamente 70% dos genes têm um ortólogo do *zebrafish*.
- Ocupam pouco espaço em laboratório e se reproduzem rapidamente
- Embriões transparentes
- Baixo custo comparados a outros modelos





ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

I CONTEC BRASIL

I CONGRESSO ACADÊMICO E
TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

OBJETIVOS

- Verificar o potencial do *zebrafish* como modelo experimental de inflamação induzida por carragenina para estudo da Fotobiomodulação, através de imagens de tomografia por coerência óptica e cortes histológicos.
- Estabelece-lo como um modelo bastante viável no estudo da inflamação e da terapia com laser de baixa potência, pela sua facilidade de manejo e pelo baixo custo associados à relevância biológica deste organismo.



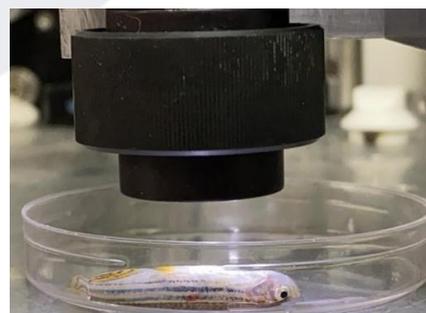
ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

I CONTEC BRASIL

I CONGRESSO ACADÊMICO E TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

MATERIAL E MÉTODOS

- Aprovação pelo Comitê de Ética Uso Animais (336/2017)
- Os 18 animais foram divididos em grupos: G1, G2, G3, G4, G5 E G6.
- Injeção no grupo G3, G4, G5 e G6 de 10 µl de solução de carragenina da Sigma-Aldrich, USA a 3,5% na cavidade peritoneal, com seringa de 1ml e agulha de 6 mm x 0,23 mm
- G2 receberam injeção de 10µl de solução PBS (*Phosphate Buffered Saline* ou tampão fosfato salino) na cavidade peritoneal. E G1, sem intervenção.
- Fotobiomodulação na região abdominal com laser portátil Recover- MMOptics com potência de 100 mW e comprimento de onda de 660 nm (3 J, 4 J e 20 J).
- Imagens de tomografia por coerência óptica (OCT).
- Cortes histológicos longitudinais e coloração pelo método Hematoxilina-eosina (HE)



Grupos	Amostra	Procedimento
G1	3	Sem intervenção
G2	3	Solução salina
G3	3	Carragenina 3,5%
G4	3	Carragenina 3,5% + 3 J
G5	3	Carragenina 3,5% + 4 J
G6	3	Carragenina 3,5%+ 20 J





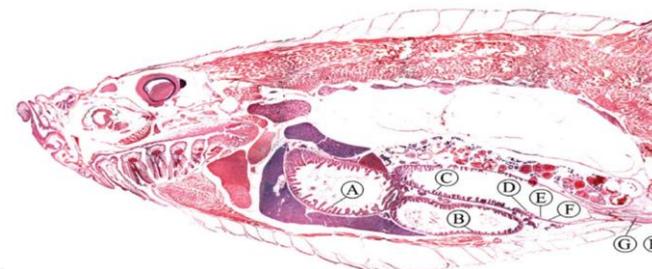
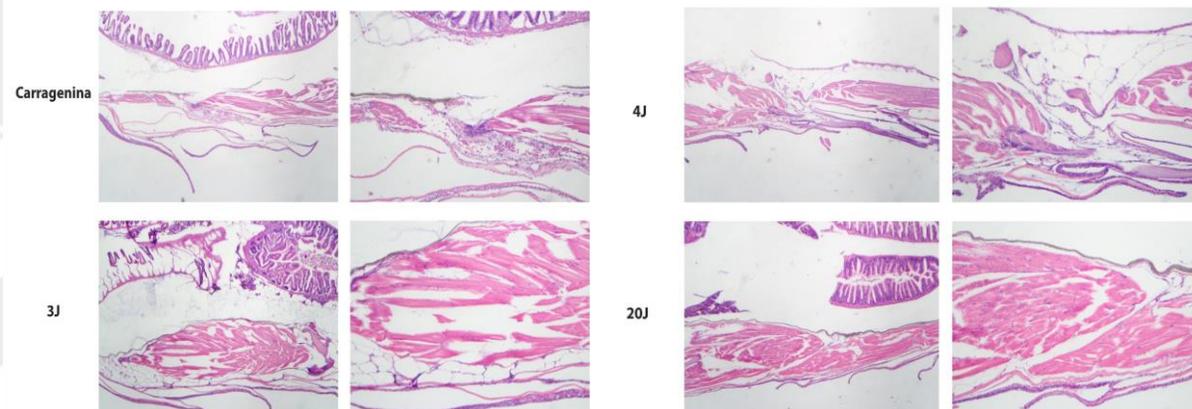
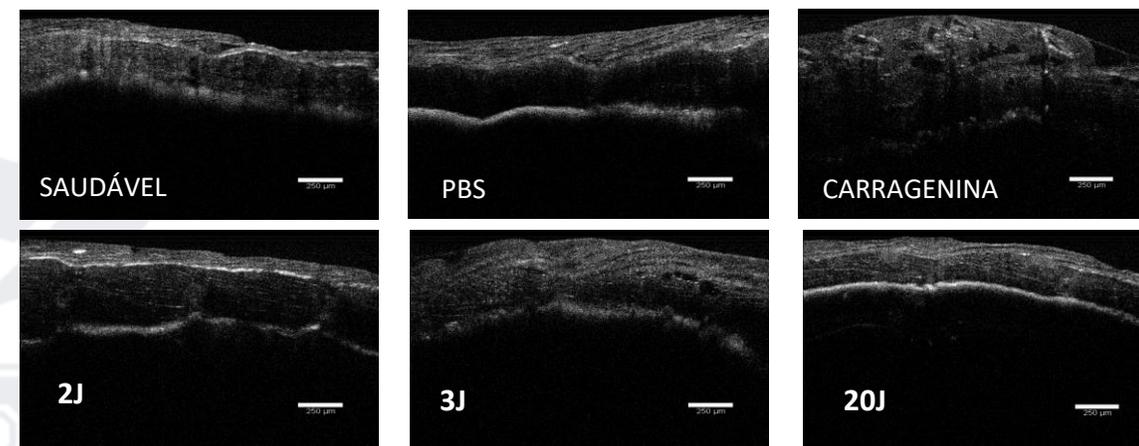
ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

I CONTEC BRASIL

I CONGRESSO ACADÊMICO E TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Os resultados do OCT vão ao encontro do que se vê na histologia, no que se refere à análise qualitativa dos resultados.
- Fica claro que o organismo do *zebrafish* responde bem ao estímulo da luz no comprimento de onda do vermelho (660nm) quando sofre processo inflamatório induzido por carragenina, pois todos os grupos experimentais mostraram resposta positiva, no sentido de uma tentativa de retorno a um padrão de homeostasia.
- O grupo que mostrou melhor resultado com relação a harmonia do tecido e tendência a uma reorganização próxima ao padrão anatômico normal de um *Zebrafish* adulto foi o do grupo 20 J, entretanto, os grupos 3 e 4 J também exibem uma tendência à reorganização tecidual.



Fonte: Menke AL, Spitsbergen JM, Wolterbeek APM, Woutersen RA. Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. *Toxicol Pathol.* 2011;39(5):759–75



ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM *ZEBRAFISH*

I CONTEC BRASIL

I CONGRESSO ACADÊMICO E
TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

CONCLUSÕES

Tomando por base todo conhecimento que já está disponível na literatura sobre o modelo *Zebrafish*, e ainda, tendo em vista os resultados deste estudo, pode-se concluir que o *Zebrafish* representa uma ótima alternativa como modelo experimental no estudo da PBM sobre a inflamação.



ESTUDO DOSE-RESPOSTA DA ATUAÇÃO DO LASER DA BAIXA POTÊNCIA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM ZEBRAFISH

I CONTEC BRASIL
I CONGRESSO ACADÊMICO E
TECNOLÓGICO DA UNIVERSIDADE BRASIL
XIV Encontro de Iniciação Científica
VIII Encontro de Pós-Graduação
04 e 05 de Dezembro de 2020

REFERÊNCIAS

1. Silveira PCL, Scheffer DDL, Glaser V, Remor AP, Pinho RA, Aguiar Junior AS, et al. Low-level laser therapy attenuates the acute inflammatory response induced by muscle traumatic injury. *Free Radic Res.* 2016;50(5):503–13.
2. Denadai AS, Aydos RD, Silva IS, Olmedo L, De Senna Cardoso BM, Da Silva BAK, et al. Acute effects of low-level laser therapy (660 nm) on oxidative stress levels in diabetic rats with skin wounds. *J Exp Ther Oncol.* 2015;11(2):85–9.
3. Chow RT, Armati PJ. Photobiomodulation: Implications for anesthesia and pain relief. *Photomed Laser Surg.* 2016;34(12):599–609.
4. Garcez, Aguinaldo Silva; Ribeiro, Martha Simões; Núñez SC. Laser de Baixa Potência, Princípios básicos e Aplicações na odontologia. Aplicações Terapêuticas em Odontologia. Elsevier B.V.; 2007. 1–258 p.
5. Itri R, Hofling DB, Baptista IMC, Pereira MHC, Pazos MC, Azevedo Luiz MCR, Pinto NC, Serrão Junior NR, Trajano RW, Ricci R, Tomimura S SS. Laser em Biomedicina: Princípios e Prática: Guia para Iniciantes, Pesquisadores e Discentes da Área de Saúde e Exatas. Chavantes MC, editor. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. 281 p.
6. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Inflamação e Reparação. In: Schoen FJ, editor. *Patologia Estrutural e Funcional.* 5th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.; 1996. p. 1226.
7. Rankin JA. Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues.* 2004;15(1):3–17.
8. Kotas ME, Medzhitov R. Homeostasis, Inflammation, and Disease Susceptibility. *Cell [Internet].* 2015;160(5):816–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.010>
9. Lieschke GJ, Currie PD. Animal models of human disease: Zebrafish swim into view. *Nat Rev Genet.* 2007;8(5):353–67.
10. Fishman MC. Zebrafish - The canonical vertebrate. *Science (80-).* 2001;294(5545):1290–1.
11. Porawski M, Schaefer PG, Maurer RL, Matte U. Implementation of a New Experimental Animal Model - Zebrafish.
12. Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature.* 2013;496(7446):498–503.
13. Howe DG, Bradford YM, Eagle A, Fashena D, Frazer K, Kalita P, et al. The Zebrafish Model Organism Database: New support for human disease models, mutation details, gene expression phenotypes and searching. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1):D758–68.
14. Escaleira RC. O Zebrafish (*Danio rerio*): contribuições para a pesquisa biomédica na Marinha do Brasil. *Arq Bras da Med Nav.* 2017;78(1):43–8.
15. Zhang H, Anderson JE. Satellite cell activation and populations on single muscle-fiber cultures from adult zebrafish (*Danio rerio*). *J Exp Biol.* 2014;217(11):1910–7.
16. Yusupov VI, Simonova NB, Chuiiko GM, Golovkina EI, Bagratashvili VN. The regulatory effect of low-intensity radiation in the near-infrared region on the early development of Zebrafish (*Danio rerio*). *Biophys (Russian Fed.)* 2018;63(1):109–15.
17. Novoa B, Figueras A. Current Topics in Innate Immunity II. *Adv Exp Med Biol [Internet].* 2012;946:253–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21948373>
18. Westerfield M. *The Zebrafish Book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*, 5th Edition. University of Oregon Press, Eugene (Book). 2007.
19. Nunes C de S, Cinsa LA. Princípios Do Processamento Histológico De Rotina. *Rev Interdiscip Estud Exp.* 2016;8(Unico):31–40.
20. Menke AL, Spitsbergen JM, Wolterbeek APM, Woutersen RA. Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. *Toxicol Pathol.* 2011;39(5):759–75.
21. Assis L, Moretti AIS, Peviani SM, Durigan JLQ, Russo TL, Rodrigues N, et al. Low-level laser therapy enhances muscle regeneration through modulation of inflammatory markers. *Photonics Lasers Med.* 2016;5(3):211–8.
22. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MTT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PSLM, Iversen V V., et al. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(1):33–7.
23. Lopes-Martins RAB, Albertini R, Lopes Martins PSL, Bjordal JM, Faria Neto HCC. Spontaneous effects of low-level laser therapy (650 nm) in acute inflammatory mouse pleurisy induced by carrageenan. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(4):377–81.
24. Bencan Z, Sledge D, Levin ED. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav [Internet].* 2009;94(1):75–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2009.07.009>
25. Zang L, Shimada Y, Nishimura N. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Sci Rep [Internet].* 2017;7(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-01432-w>
26. Hamblin MR, Huang YY, Heiskanen V. Non-mammalian Hosts and Photobiomodulation: Do All Life-forms Respond to Light? *Photochem Photobiol.* 2019;95(1):126–39.
27. Ghaemi M, Sharifi D, Mokmeli S, Kowsari G, Mortazavi P, Golmai P. Comparison and evaluation of the low-level laser and the red and blue LED effects on wound healing in rabbit. *J Lasers Med Sci.* 2019;10(3):189–93.
28. Paredes AD, Benavidez D, Cheng J, Mangos S, Patil R, Donoghue M, et al. The Effect of Fluence on Macrophage Kinetics, Oxidative Stress, and Wound Closure Using Real-Time In Vivo Imaging. *Photobiomodulation, Photomedicine, Laser Surg.* 2019;37(1):45–52.