



Perfil de segurança da laserterapia de alta potência em células microgliais BV-2
FOTOBIO

PIBITI/CNPq

Victorio Souza Boff, Juliana Maria Chaves, Marcos Vinicius Ferlito, Ana Paula Vargas Visentin, João Vitor Ferlito, Ernesto Leal Júnior, Thiago de Marchi, Cátia dos Santos Branco



INTRODUÇÃO / OBJETIVO

A fotobiomodulação (FBM) é uma abordagem terapêutica que utiliza luz de baixa intensidade para modular processos celulares (Hamblin, 2017). Recentemente, lasers de classe IV vêm sendo explorados pelo potencial em condições neurológicas e inflamatórias, embora seus efeitos em células microgliais ainda sejam pouco compreendidos. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de segurança da irradiação com laser de alta potência sobre células microgliais BV-2, visando compreender suas respostas frente a diferentes parâmetros de exposição (Lee, 2020; Faust et al, 2021).

MATERIAL E MÉTODOS

As células BV-2 foram cultivadas e submetidas à irradiação com o laser AlphaVet® (650–980 nm) a 756 J (energia irradiada) em quatro protocolos (A: 3,6 W; B: 7,2 W; C: 14,4 W; D: 0,2 W), avaliando os efeitos em tempos de 5 min, 30 min, 60 min, 2 h e 24 h após a exposição. Foram analisadas viabilidade celular (MTT; Denizot & Lang, 1986), liberação de DNA de fita dupla (dsDNA; PicoGreen®; Ha et al., 2011), produção de espécies reativas de oxigênio (ROS; DCFH-DA, Frozza et al., 2017) e de óxido nítrico (NO; Choi et al., 2012; Griess). A análise estatística foi realizada pela análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$).

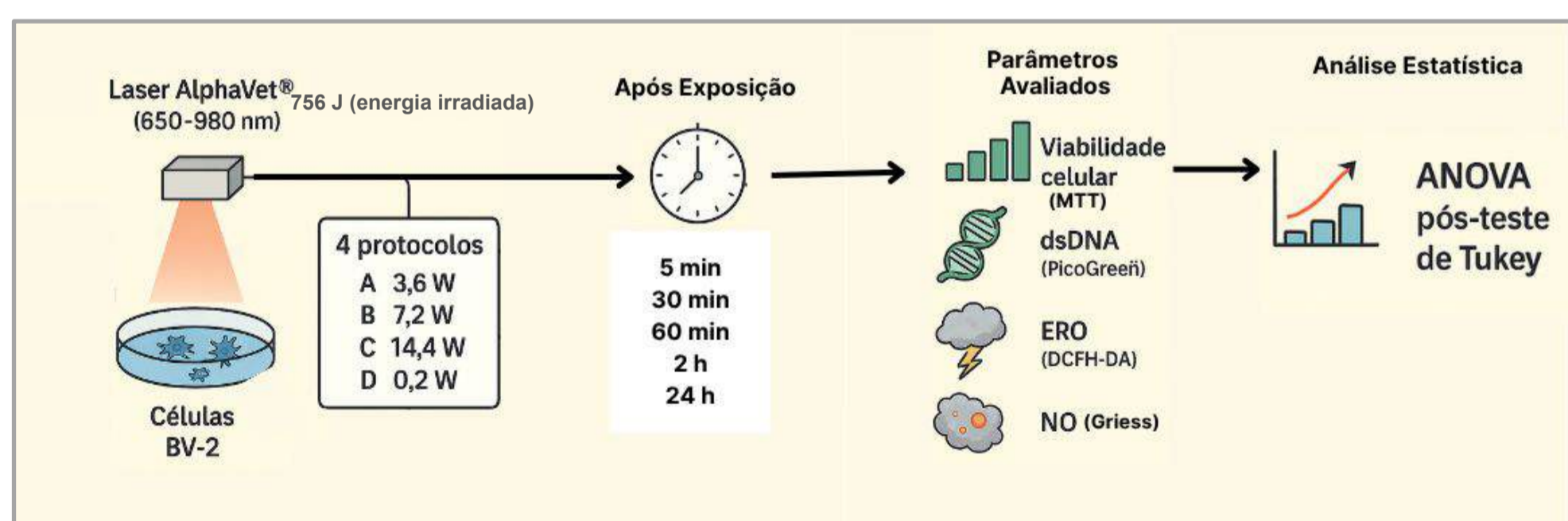


Tabela 1: Esquematização da metodologia.

756 J / Energia Irradiada			
Protocolos	Potência	Tempo de aplicação	Distância laser --> placa
A	3,6 W	03:45 min	34 cm
B	7,2 W	02:15 min	33 cm
C	14,4 W	01:30 min	33,1 cm
D	0,2 W	01:30 min	31,1 cm

Todas as potências serão avaliadas nos seguintes tempos: 5, 30, 60, 180min e 24horas.

Tabela 2: Protocolos, potências, tempos de aplicação e distância do laser à placa.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram que houve redução inicial na viabilidade celular (5 min), seguida de recuperação progressiva, com destaque para os protocolos C e D em 24 h (Figura 1 A). Notou-se elevação nos níveis de NO em 24 h nos protocolos A e D (Figura 1 B).

RESULTADOS

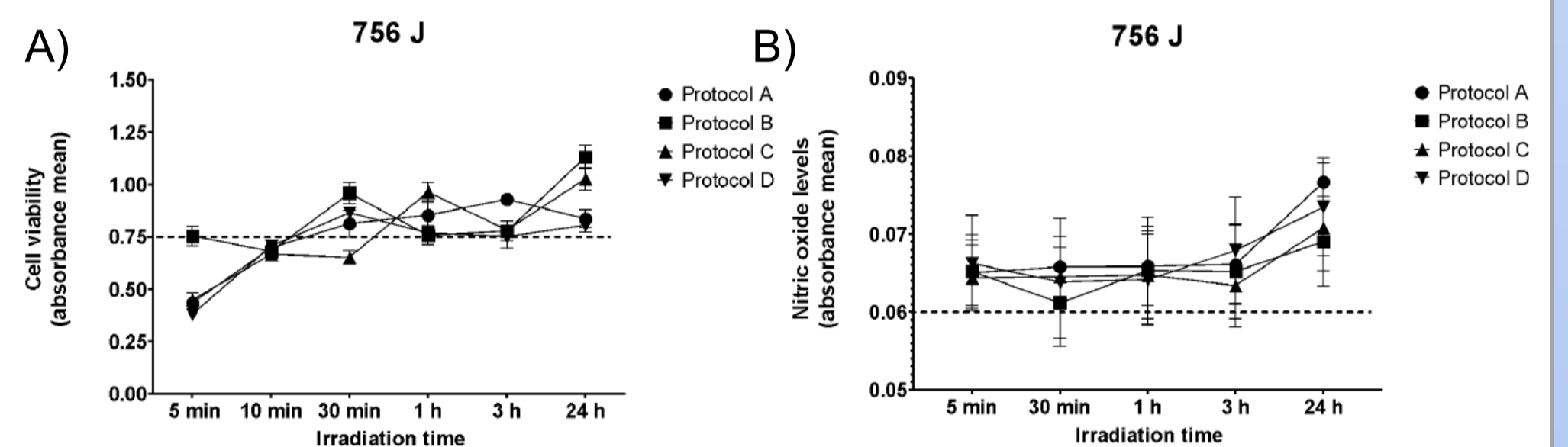


Figura 1. (A) Gráfico representando a viabilidade celular dos 4 protocolos e seus respectivos tempos e (B) gráfico representando os níveis de óxido nítrico dos 4 protocolos e seus respectivos tempos. As linhas tracejadas em cada gráfico, representam os níveis do grupo controle.

A liberação de dsDNA foi variável, sendo mais elevada nos protocolos C e D (Figura 2 A). Os níveis de ERO atingiram picos em 30 min e queda em seguida (Figura 2 B).

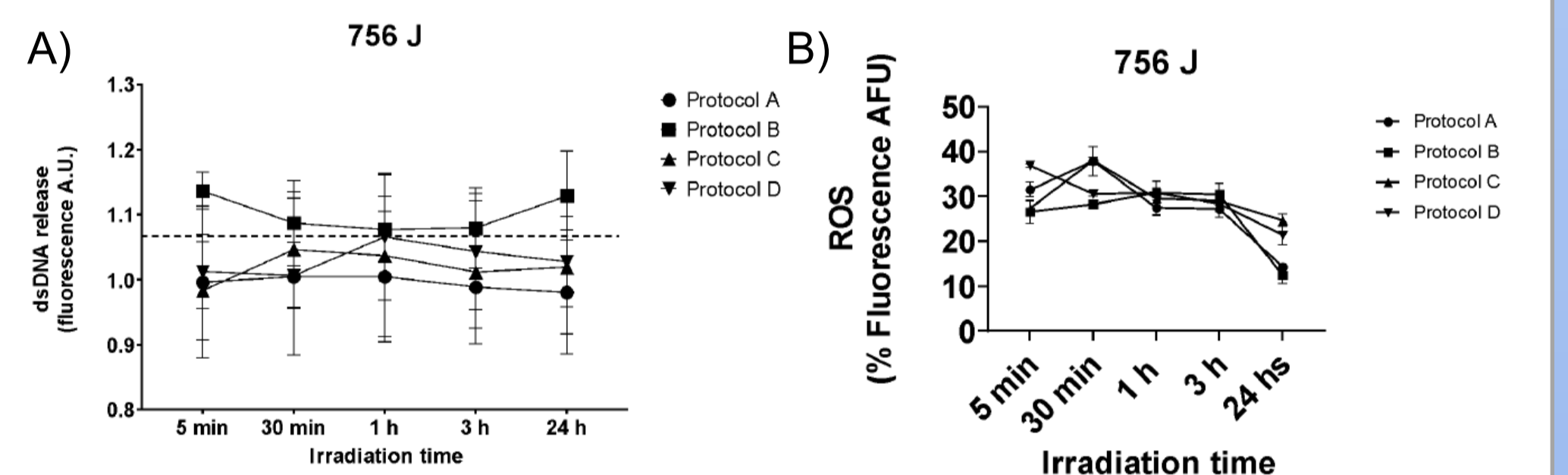


Figura 2. (A) Gráfico representando a liberação de DNA de fita dupla (dsDNA) nos 4 protocolos e seus respectivos tempos e (B) gráfico representando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) nos 4 protocolos e seus respectivos tempos. As linhas tracejadas em cada gráfico, representam os níveis do grupo controle.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A integração dos achados sugere que a laserterapia de alta potência desencadeia estresse celular inicial modulável conforme o protocolo. Protocolos com potências intermediárias mostraram melhor perfil de segurança, favorecendo a recuperação celular e indicando potencial para aplicações terapêuticas seguras em patologias neuroinflamatórias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHOI, Jeong Il; KIM, Woong Mo; LEE, Hyung Gon; KIM, Yeo Ok; YOON, Myung Ha. Role of neuronal nitric oxide synthase in the antiallodynic effects of intrathecal EGCG in a neuropathic pain rat model. *Neuroscience Letters*, v. 510, n. 1, p. 53-57, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.12.070>.

DENIZOT, F., & LANG, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89(2), 271–277.

FAUST, Travis E.; GUNNER, Georgia.; SCHAFER, Dorothy P. Mechanisms governing activity-dependent synaptic pruning in the developing mammalian CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00507-y>.

FROZZA, C. O. DA S., SANTOS, D. A., RUFATTO, L. C., MINETTO, L., SCARIOT, F. J., ECHEVERRIGARAY, S., PICH, C. T., MOURA, S., PADILHA, F. F., BORSUK, S., SAVEGNAGO, L., COLLARES, T., SEIXAS, F. K., DELLAGOSTIN, O., ROESCH-ELY, M., & HENRIQUES, J. A. P. (2017). Antitumor activity of Brazilian red propolis fractions against Hep-2 cancer cell line. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 91(2017), 951–963. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.027>

HA, T. T. N., HUY, N. T., MURAO, L. A., LAN, N. T. P., THUY, T. T., TUAN, H. M., NGA, C. T. P., VAN TUONG, V., VAN DAT, T., KIKUCHI, M., YASUNAMI, M., MORITA, K., HUONG, V. T. Q., & HIRAYAMA, K. (2011). Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. *PLoS ONE*, 6(10), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025969>

HAMBLIN, Michael R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophysics*, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3934/2Fbiophy.2017.3.337>

