

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

RENATA FERREIRA DE GUZZI TREMARIN

**“EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO TRANSCRANIANA ASSOCIADA AO
EXERCÍCIO NO DESEMPENHO MOTOR E COGNITIVO DE CAMUNDONGOS”**

São Carlos-SP
2025

RENATA FERREIRA DE GUZZI TREMARIN

“EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO TRANSCRANIANA ASSOCIADA AO EXERCÍCIO NO DESEMPENHO MOTOR E COGNITIVO DE CAMUNDONGOS”

Dissertação de Mestrado (versão final) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Fisioterapia na área de concentração Neurociências.

Orientadora: Profa. Dra. Anna Carolyn Lepesteur Gianlorenço

São Carlos-SP
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: TREMARIN, Renata Ferreira de Guzzi

Título: Efeitos da fotobiomodulação transcraniana associada ao exercício no desempenho motor e cognitivo de camundongos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos para obtenção do título de mestre em fisioterapia

Aprovado em: 20 de dezembro de 2024

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Anna Carolyna Lepesteur Gianlorenço

Instituição: Universidade Federal de São Carlos – UFSCar

Julgamento: Aprovada

Profa. Dra. Adriana Sanches Garcia de Araujo

Instituição: Universidade Federal de São Carlos – UFSCar

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Rodrigo Pegado de Abreu Freitas

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Julgamento: Aprovada

Dedico essa dissertação aos meus maiores
incentivadores, Marli Guzzi, Jandrei Tremarin
e a Luiza Tremarin o apoio de vocês foi
imprescindível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus por ter me guiado e oportunizado toda essa experiência, pela força e resiliência em conseguir passar por cada etapa com muita dedicação. Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha orientadora, Prof. Dra Anna Carolyn Gianlorenço, pelo aceite na orientação, pela paciência e apoio incondicional ao longo desse processo. Agradeço também aos professores do programa de pós-graduação da UFSCar, especialmente à Prof. Dra Anabelle Cornachione, pelos ensinamentos e contribuições com a formação da minha carreira acadêmica e aos Prof. Dr. Cleber Ferraresi e Mariana Ávila pelas orientações, sugestões e elucidações do projeto e do programa.

À minha família, especialmente à minha mãe, marido e filha, meus alicerces, por todo o suporte, apoio, carinho, paciência e encorajamento contínuo.

Aos amigos de laboratório que genuinamente contribuíram ao longo dessa jornada, em especial ao José Mário Prati, Mariana L. Zambetta e a Elayne B. Fernandes obrigada por todo apoio, suporte e orientações.

À minha equipe em especial Bruna S. Maricondi e Amanda Zambon que fornecendo todo o suporte aos nossos pacientes e atendimentos permitiram que eu pudesse me dedicar com afinco nessa jornada e desafios que um mestrado dispõe.

Aos membros da banca pelo aceite e disponibilidade em contribuir com esse trabalho.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia, com fé, dedicação e a certeza de que o impossível é apenas questão de tempo”.

RESUMO

Introdução: Alterações físicas e cognitivas inerentes ao processo de envelhecimento são motivos de preocupação visto o crescimento da população idosa. Intervenções comportamentais que possam retardar o declínio funcional, mantendo um padrão de vida saudável são objeto de muitos estudos. Para que haja o desenvolvimento de terapias seguras e com efeitos biológicos e neurofisiológicos comprovados é fundamental a utilização de modelos não clínicos de espécies animais para dados preditivos para humanos. A estimulação cerebral não invasiva e o exercício físico são intervenções não farmacológicas que têm atraído atenção pela ausência de eventos adversos associados ao seu uso, e por um robusto perfil de segurança, com potencial melhora na função motora e cognitiva, com mecanismos de redução da inflamação, proliferação celular e atenuação do estresse oxidativo. Poucos estudos exploram a associação da fotobiomodulação com exercício nesse contexto, portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a resposta comportamental e os efeitos neuroprotetores em camundongos de meia idade submetidos à terapia de fotobiomodulação transcraniana e exercício físico. A hipótese é de que haja melhora na função cognitiva e motora nesses animais após 10 dias de intervenção.

Métodos: Cinquenta camundongos machos suíço albino, com idade entre 8-10 meses foram distribuídos em grupos sendo que um grupo recebeu dez aplicações diárias de fotobiomodulação (PBM+S), um grupo com fotobiomodulação desligada pelo mesmo período (SHAM+S), um grupo com fotobiomodulação e exercícios em roda de corrida (PBM+E), um quarto grupo com fotobiomodulação desligada e com exercícios (SHAM +E) e um grupo caixa moradia. As análises comportamentais foram realizadas pelos testes de memória (Teste de reconhecimento de objeto), de desempenho motor (Rota rod) e locomoção geral (Teste de campo aberto). As análises estatísticas foram realizadas com o software STATA, para os dados paramétricos com ANOVA de uma via e não paramétricos Kruskal-Wallis seguido do teste post hoc e correção de Bonferroni.

Resultados: Entre as variáveis analisadas, encontramos diferenças significativas entre os grupos referente, à memória dos animais: o grupo SHAM+E apresentou valores significativamente maiores em comparação ao grupo PBM+S ($z = 2,496$, $p = 0,0125$). Além disso, os valores para memória no grupo PBM+S foram significativamente menores em relação ao grupo SHAM +S ($z = -2,451$, $p = 0,0143$). Com relação às outras variáveis, não encontramos diferenças significativas entre os grupos.

Conclusão: Dessa forma, inferimos que a fotobiomodulação facilitou a memória dos animais, sem associação do exercício, por outro lado o exercício por si também apresentou efeito, porém com menor magnitude. Sugerimos dessa forma, que em camundongos de meia idade saudáveis, a fotobiomodulação pode levar a melhora cognitiva quando utilizada individualmente, porém quando associada não demonstrou o mesmo desempenho, sendo necessário mais estudos futuros para sua aplicação em outras populações e com outros parâmetros.

PALAVRAS-CHAVE: fotobiomodulação; exercício físico; camundongos meia idade

ABSTRACT

Introduction: Physical and cognitive changes inherent to the aging process are a concern given the growing elderly population. Behavioral interventions to slow functional decline while maintaining a healthy standard of living are widely studied. Developing safe therapies with proven biological and neurophysiological effects requires the use of non-clinical animal models to predict human outcomes. Non-invasive brain stimulation and physical exercise are non-pharmacological interventions attracting attention due to their lack of associated adverse events, robust safety profile, and potential to improve motor and cognitive functions by reducing inflammation, promoting cell proliferation, and mitigating oxidative stress. Few studies explore the combined effects of photobiomodulation and exercise in this context, so the present study aims to evaluate behavioral responses and neuroprotective effects in middle-aged mice subjected to transcranial photobiomodulation therapy and physical exercise. The hypothesis is that these interventions improve cognitive and motor function after 10 days. **Methods:** Fifty male Swiss albino mice, aged 8–10 months, were divided into groups: one receiving ten daily photobiomodulation sessions (PBM+S), one with inactive photobiomodulation (SHAM+S), one combining photobiomodulation and running wheel exercises (PBM+E), a fourth group with inactive photobiomodulation and exercise (SHAM+E), and a control group. Behavioral analyses included memory tests (object recognition test), motor performance (rotarod test), and general locomotion (open field test). Statistical analyses utilized STATA software, with parametric data analyzed using one-way ANOVA and non-parametric data via Kruskal-Wallis tests, followed by post-hoc analysis and Bonferroni correction. **Results:** Significant differences emerged in memory performance among groups. The SHAM+E group showed higher memory values compared to PBM+S ($z = 2.496$, $p = 0.0125$), while the PBM+S group exhibited significantly lower memory values than SHAM+S ($z = -2.451$, $p = 0.0143$). No significant differences were found in other variables. **Conclusion:** Photobiomodulation alone facilitated memory improvement in mice, independent of exercise. Conversely, exercise also produced an effect, though of lesser magnitude. These findings suggest that in healthy middle-aged mice, photobiomodulation alone can enhance cognitive function, but its combination with exercise did not yield the same performance, warranting further studies for application to other populations and parameters.

KEYWORDS: photobiomodulation; physical exercise; middle age

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Animais alojados no biotério do laboratório de Neurociências e Reabilitação Neurológica da UFSCar	7
Figura 2 – Desenho esquemático da linha do tempo das intervenções realizadas durante o estudo experimental.....	8
Figura 3 - (A) Vista lateral do crânio do camundongo com pontos detalhados da medição do bregma e do lambda demonstrando as distâncias dorsoventrais da linha intraural. (B) Vista dorsal do crânio do camundongo demonstrando as distâncias anteroposteriores da linha intraural com o bregma medido no ponto de cruzamento entre as suturas coronal e sagital. (CECYN; ABRAHAO; 2023).....	9
Figura 4 - Camundongo suavemente contido enquanto o diodo de laser é aplicado no topo da cabeça	10
Figura 5 - Camundongo na roda de corrida.....	10
Figura 6 - Camundongo realizando a segunda fase do teste, reconhecimento de objetos idênticos.....	11
Figura 7 - Camundongo realizando a terceira fase do teste, reconhecimento do novo objeto.....	12
Figura 8 - Camundongos sendo avaliados no teste do rotarod em relação ao número de quedas.	13
Figura 9 - Camundongo na habituação para o teste do campo aberto.....	14
Figura 10 - Média e erro padrão da média da diferença em segundos do tempo gasto entre o reconhecimento de objetos idênticos e distintos.....	15
Figura 11 – Média e erro padrão da média do cálculo delta para número de quedas, representação da diferença entre o número de quedas ao final do experimento comparado ao teste antes do experimento.....	17
Figura 12 - Média e erro padrão da média da distância percorrida em metros no teste de campo aberto	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Grupos Experimento	7
Tabela 2 Representação do Teste de Shapiro-Wilk.....	14

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

NIR:	Luz infravermelha próxima
PBM:	Fotobiomodulação
t-PBM:	Fotobiomodulação transcraniana
nm:	Nanmetros
COX:	Citocromo C oxidase
NO:	xido nítrico
O₂:	Oxignio
ATP:	Adenosina trifosfato
PCD:	Morte celular programada
MPTP:	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
DP:	Doença de Parkinson
EROs:	Espécies reativas de oxignio
NADH:	Dinucleótido de nicotinamida adenina
BDNF:	Fator neurotrófico do cérebro
5-HT:	5- hidroxitriptamina (serotonina)
GDNF:	Fator neurotrófico da glia
CONCEA:	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CEUA:	Comitê de tica em Pesquisa Animal
g:	gramas
SHAM:	placebo
GaAIs:	arsenieto de gálio e alumínio
J:	Joules
mW:	miliwatt
J/cm²:	Joules/centímetro quadrado
NOR:	teste de reconhecimento de objeto
m:	metros
m/s:	metros/segundo
ANOVA:	Análise de Variância
CCL:	Comprometimento Cognitivo Leve
Aβ:	Beta-amilóide

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	1
2. INTRODUÇÃO	2
3. OBJETIVOS E HIPÓTESES	6
3.1 OBJETIVOS GERAIS	6
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
4. MATERIAL E MÉTODOS	7
4.1 ANIMAIS	7
4.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS	7
4.3 FOTOBIMODULAÇÃO	9
4.4 TESTE COMPORTAMENTAL	10
4.4.1 Roda de Corrida	10
4.4.2 Teste de reconhecimento de objeto	11
4.4.3 Teste Rota Rod	12
4.4.4 Teste de Campo Aberto	13
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
6. RESULTADOS	14
7. DISCUSSÃO	18
8. CONCLUSÃO	22
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Essa dissertação foi realizada seguindo as normas do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia e desenvolvida no Laboratório de Neurociências e Reabilitação Neurológica da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

A orientadora do presente projeto, Prof^a Dra. Anna Carolyn Lepesteur Gianlorenço, segue a linha de pesquisa de processos básicos, desenvolvimento e recuperação funcional do sistema nervoso, realiza pesquisas experimentais com camundongos sobre as potenciais intervenções para melhora de funções motoras e não motoras, além da interação dos sistemas histaminérgico e dopaminérgico. Além disso, também realiza pesquisas sobre avaliação e intervenção em indivíduos com Doença de Parkinson. Para tanto, segue com parceria internacional com o Departamento de Fisiologia da Universidade de Toronto através da pesquisadora Maithe Arruda Carvalho, PhD, e com o Dr Felipe Fregni, Diretor do Spaulding Neuromodulation Center, Harvard Medical School. O presente projeto teve como colaboradores nacionais Professor Dr Cléber Ferraresi e Professor Doutor Vanderlei Bagnato.

A discente pesquisadora deste projeto, Renata Ferreira G Tremarin, é Médica Veterinária e atua na área de fisioterapia e reabilitação veterinária há 12 anos, iniciou o Mestrado em Março de 2023 com o intuito de aprimorar e aprofundar seus estudos, adquirindo maior embasamento para atuação dos novos recursos humanos em sua área, além de buscar maior robustez científica para iniciar sua carreira acadêmica e melhorar seus atendimentos, uma vez que devam ser baseados em evidências. Durante os dois anos, a discente realizou disciplinas referentes ao cumprimento de créditos do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da UFSCar. No primeiro e terceiro semestres focou na escrita do projeto e no segundo semestre, a discente realizou a qualificação do projeto, no qual foi aprovada. No terceiro semestre, a discente submeteu o projeto ao comitê de ética em pesquisa com animais da UFSCar e obteve posterior aprovação e sendo assim, deu início a coleta de dados. No decorrer do curso de Mestrado, a discente foi aperfeiçoando suas habilidades de trabalho participando das atividades do laboratório e também institucionais, junto ao Departamento de Ciências Fisiológicas com a colaboração da Professora Dra Anabelle Cornachione. Atualmente, a discente dá por finalizada sua pesquisa e aguarda para a defesa de sua dissertação.

Além dos objetivos geral e específicos do presente projeto, o mesmo também tem por objetivo contribuir com a literatura a respeito do entendimento sobre as potenciais intervenções que ainda não possuem evidências científicas concretas ou que ainda são desconhecidas. Tem

como objetivo futuro avançar nas técnicas de intervenção e promover sua aplicação em outras espécies, em sua área de atuação.

Currículo Lattes: <https://lattes.cnpq.br/5278351994171677>

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-9686-4026>

Descrição da dissertação para público leigo: O estudo investigou formas de combater o envelhecimento cerebral usando luz (fotobiomodulação) e exercícios físicos. Foram testados 50 camundongos de meia-idade divididos em grupos: alguns receberam apenas a luz, outros fizeram apenas exercício, e alguns combinaram os dois. Os testes analisaram a memória, a locomoção e o desempenho motor. Os resultados mostraram que a fotobiomodulação sozinha melhorou a memória dos camundongos mais do que o exercício, embora o exercício também tenha trazido benefícios, mas de menor intensidade. Surpreendentemente, a combinação dos dois não apresentou os mesmos resultados positivos. Os pesquisadores concluíram que a fotobiomodulação pode ajudar a melhorar a memória no protocolo aplicado, mas mais estudos são necessários para entender como funciona em diferentes contextos e populações.

2. INTRODUÇÃO

Segundo dados na Organização Mundial de Saúde, em 2019, havia 703 milhões de pessoas com 65 anos ou mais na população global, com expectativa de que este número duplique para 1,5 bilhões em 2050. Isso está intrinsecamente relacionado aos avanços na área da saúde e ao desenvolvimento de tecnologias assistivas que reduzam o desgaste físico associado ao envelhecimento. Esses fatores estão desencadeando transformações substanciais nos sistemas econômicos e de saúde, e na estrutura social em muitos países (RODRIGUES *et al.*, 2022).

No entanto, as alterações físicas e cognitivas inerentes ao processo de envelhecimento, tais como alteração na memória e atenção, redução da força muscular, e do equilíbrio, são motivo de preocupação, uma vez que podem resultar em inatividade física e isolamento social. Isso, por sua vez, agrava as condições crônicas de saúde e acelera o desenvolvimento da fragilidade (MERCHANT *et al.*, 2021).

Há grande interesse no desenvolvimento de intervenções comportamentais que possam retardar o início de declínio funcional, especialmente durante os estágios iniciais. A base de conhecimento necessária para criar terapias que melhorem a função nos anos posteriores da

vida é um dos objetivos da pesquisa apoiada para entender melhor os mecanismos subjacentes do envelhecimento e da alteração cognitiva associada. Para o desenvolvimento de terapias seguras e com efeitos biológicos e neurofisiológicos comprovados, a utilização de modelos não clínicos relevantes e de espécies animais é fundamental para se obterem dados preditivos para os seres humanos. Para a maioria das novas terapias isto é obtido aplicando estratégias com fundamento científico (CANNON; GREENAMYRE, 2010); LAVER, 2016).

A estimulação não invasiva cerebral tem atraído atenção pela ausência de eventos adversos relevantes associados ao seu uso e por um robusto perfil de segurança, além de atuar nas ondas cerebrais melhorando a função motora e cognitiva dos pacientes com diferentes condições (MCGEE et al., 2023). Entre as técnicas existe a fototerapia no infravermelho próximo (*Near-infrared phototherapy* - NIR) ou fotobiomodulação (*Photobiomodulation* - PBM) que é uma modalidade de tratamento estudada há anos, definida como distribuição terapêutica de luz de baixa irradiância em células ou tecidos corporais a um comprimento de onda específico correspondente a absorções moleculares entre 600 e 1100 nm janela espectral que corresponde a profundidade máxima de penetração para modular processos biológicos (OUESLATI et al., 2015; FOO et al., 2020).

Estudos com modelos experimentais têm demonstrado a eficácia da terapia com laser de baixa intensidade, aplicado de forma transcraniana (t-PBM), em conferir efeitos terapêuticos no sistema nervoso central. Esses efeitos incluem a redução da inflamação, a promoção da proliferação celular e a atenuação do estresse oxidativo, sugerindo potencial melhora da capacidade de aprendizado e memória em animais testados (XUAN et al, 2014; HUANG et al, 2012; WU et al, 2012).

A aplicação transcraniana da fotobiomodulação terapêutica em camundongos garante que a irradiação alcance a superfície cortical do cérebro. Estudos recentes indicam que essa técnica tem potencial para influenciar a neuroplasticidade neuronal, modulando a excitabilidade no córtex motor por meio de diversos mecanismos biológicos (CHAIEB et al, 2015; CHANG et al, 2018; LONGO et al, 2020; ASKALSKY e LOSIFESCU, 2019).

A eficácia da penetração do laser de baixa intensidade através do crânio humano também tem sido confirmada por pesquisas. Esses estudos demonstram que diferentes regiões anatômicas absorvem quantidades variadas de fotobiomodulação (JAGDEO et al, 2012; TEDFORD et al, 2015). Além disso, foi observado que a intensidade e comprimento de onda do laser tem um impacto direto na profundidade alcançada nos tecidos cerebrais, permitindo

que a fotobiomodulação atinja o sistema nervoso central através da penetração da energia através dos tecidos externos (TEDFORD et al, 2015; THUNSHELLE, 2016).

Dessa forma, esse método de tratamento tem se mostrado eficaz na melhoria da função metabólica cerebral, estimulando a neurogênese e a sinaptogênese, bem como regulando neurotransmissores e fornecendo neuroproteção por meio de sinalização anti-inflamatória e antioxidante (SALEHPOUR et al, 2018). A PBM atua em moléculas sensíveis à luz no corpo, denominadas cromóforos, que são excitadas através da estimulação fotônica. Existem 3 cromóforos nos tecidos dos mamíferos capazes de absorver luz na faixa de NIR, a hemoglobina, a mioglobina e o Citocromo C oxidase (COX) (OUESLATI et al., 2015; FOO et al., 2020).

A principal teoria que sustenta a utilização da PBM é que esse recurso aumenta a produção de energia mitocondrial, promovendo fotodissociação do óxido nítrico (NO) no sítio de ligação da COX, facilitando a ligação de O₂ e a transferência de elétrons (HAMBLIN; 2018). As mitocôndrias são organelas responsáveis por gerar energia na forma de adenosina trifosfato (ATP), através do processo de respiração e fosforilação oxidativa. Elas desempenham um papel crucial no metabolismo de lipídios e aminoácidos, além de armazenarem os produtos resultantes da oxidação do piruvato e do ciclo de Krebs. Também são fundamentais para a manutenção da homeostase do cálcio, a eliminação de radicais livres e o controle da morte celular programada (PCD) (BOSE; BEAL, 2016).

Infusões acidentais de MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina) inibiram seletivamente o complexo mitocondrial I que é um dos componentes da cadeia de transporte de elétrons (LANGSTON et al., 1983; BURNS et al., 1985), outras toxinas capazes de inibir o complexo I como rotenona, piridabeno, tricloroetileno e fenpiroximato induziram neurodegeneração dopaminérgica, em moscas, roedores e humanos, desta forma associa-se que a disfunção mitocondrial desempenhe um papel importante na doença de Parkinson (DP) (CHATURVEDI E BEAL 2008). Toxinas que afetam as mitocôndrias reduzem o movimento das mitocôndrias, aumentam a transição de permeabilidade mitocondrial, aumentam a geração das espécies reativas de oxigênio (EROs), e a síntese de óxido nítrico (BOSE; BEAL, 2016).

As mitocôndrias que utilizam o oxigênio para produção de energia, são uma das fontes primárias de EROs contribuindo para o estresse oxidativo intracelular, o NADH (dinucleotídeo de nicotinamida adenina) e a cadeia de transporte de elétrons ao serem estimulados excessivamente produzem excesso de EROs. Quando em concentrações moderadas os EROs desempenham importantes papéis nos processos fisiológicos como vias de sinalização, indução de resposta mitogênica, defesa contra patógenos infecciosos, quando em superprodução

promove falha no equilíbrios das defesas antioxidantes endógenas desencadeando danos oxidativos como alterações pós-traducionais, oxidação de proteínas e de lipídios, além de oxidação do DNA/RNA que são alterações muito comuns nas doenças neurodegenerativas (GAN; JOHNSON, 2014)

Outra estratégia comportamental para retardar alterações relacionadas ao envelhecimento é o exercício físico. Com relação ao exercício físico, é comprovado que possui efeito positivo no desempenho comportamental, sendo objeto de muitos estudos, principalmente por ser capaz de promover mudanças importantes na neuroplasticidade com efeitos duradouros, tanto em nível molecular quanto comportamental (FANG et al., 2018).

Um estudo de meta-análise sugeriu que o exercício pode modular positivamente as vias dos fatores neurotróficos como fator neurotrófico do cérebro (*Brain derived neurotrophic factor - BDNF*), entre outros marcadores essenciais na neurorestauração e na neuroproteção, estimulando o crescimento e a diferenciação de novos neurônios e sinapses. Também reforçou que o exercício tem vários efeitos benéficos nas mitocôndrias, como melhora da biogênese mitocondrial e normalização dos níveis de proteínas da cadeia respiratória mitocondrial (Complexo I, Complexo II e Complexo V). Esta meta-análise mostrou melhora da angiogênese pelo aumento da densidade dos vasos sanguíneos, da neuroplasticidade sináptica e do aumento da neurogênese do hipocampo, o que refletiu na melhora da memória nos testes comportamentais, aumento da serotonina (5-HT) e dos receptores canabinóides e opioides que podem estar correlacionados com a melhora dos sintomas não motores como depressão e dor (FERREIRA; BINDA; REAL, 2021).

Os componentes responsáveis pela modulação da neuroplasticidade envolvem a neurotransmissão, sinaptogênese e neurogênese. Modelos experimentais demonstram que a neuroproteção promovida pelo exercício está relacionada à angiogênese, alterações em neurotransmissores e receptores, aumento de neurotrofinas como fator neurotrófico derivado do cérebro (*Brain derived neurotrophic factor - BDNF*) e fator neurotrófico da glia (*glial derived neurotrophic factor – GDNF*) (GARCIA; REAL; BRITO, 2017; WANG et al., 2022).

Crescentes evidências na literatura demonstram que no envelhecimento habilidades cognitivas específicas como velocidade de processamento e memória episódica vão sendo perdidas e que o baixo desempenho cognitivo desencadeia prejuízos à vida cotidiana. Somado a isso um desempenho cognitivo prejudicado predispõe a doenças neurológicas, entre elas as demências. Portanto estudar os mecanismos de preservação da função cognitiva é tão relevante (YU et al., 2021). O exercício físico tem sido estudado como potencial intervenção não

farmacológica nas doenças neurodegenerativas por promover melhora da marcha, equilíbrio, dor, sintomas psicológicos e cognitivos, além de ser uma terapia barata e prontamente disponível (FERREIRA; BINDA; REAL; 2021).

Os mecanismos envolvidos a estes efeitos ainda permanecem sem esclarecimentos desta forma, modelos experimentais têm sido amplamente estudados para compreender as vias envolvidas nos efeitos benéficos dos exercícios. Em geral, os resultados encontrados são: neuroproteção, neuroplasticidade através da síntese e liberação de fatores neurotróficos, restauração e equilíbrio de neurotransmissores, aumento da resistência ao estresse oxidativo, redução no processo inflamatório no cérebro, aumento na sinaptogênese, angiogênese e neurogênese (PALASZ et al., 2019).

Além disso, em revisão realizada em 2024, constatamos uma escassez de estudos publicados em indivíduos de meia idade ou idosos saudáveis explorando a associação do tratamento com fotobiomodulação e exercício na resposta motora, cognitiva e neuroprotetora no envelhecimento, demonstrando a necessidade de estudos pré-clínicos para avanço na área.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

3.1 Objetivos Gerais

Avaliar a resposta cognitiva e motora mediante associação da fotobiomodulação e do exercício físico em animais de meia idade.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a resposta cognitiva através do teste de reconhecimento de objetos em camundongos de meia idade que receberam a associação de fotobiomodulação transcraniana e exercício.
- Avaliar a resposta motora na coordenação, equilíbrio e locomoção de camundongos de meia idade que obtiveram a associação de fotobiomodulação transcraniana e exercício através do teste do rota rod.

A hipótese é de que a associação da fotobiomodulação com exercício melhore a memória e o desempenho motor em camundongos de meia idade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Os Camundongos machos Suíço albino de 8-10 meses de idade foram adquiridos do biotério da Anilab, Paulínia - SP e alojados individualmente em gaiolas (Figura 1) a 21°C em um ciclo claro/escuro de 12h/12h com abastecimento de água e alimentos *ad libitum*. Os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, Brasil) e todos os esforços foram realizados para reduzir o sofrimento animal e minimizar o número de animais utilizados. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal de São Carlos e protocolado sob o nº 7819200524.



FIGURA 1 - ANIMAIS ALOJADOS NO BIOTÉRIO DO LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS E REABILITAÇÃO NEUROLÓGICA DA UFSCAR

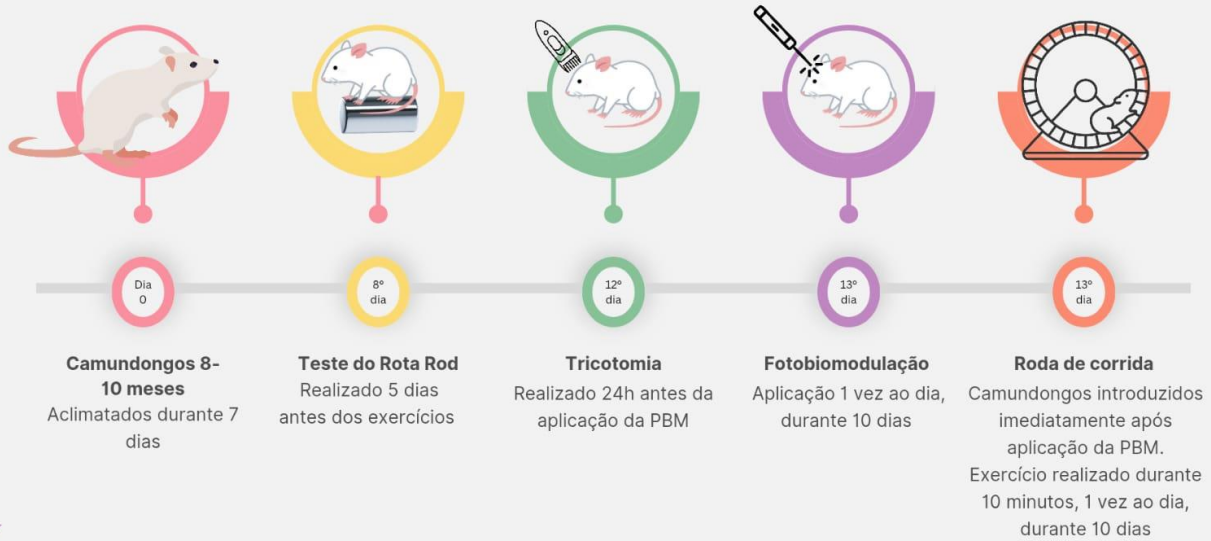
4.2 Grupos Experimentais

Foram utilizados 50 camundongos ingênuos macho suíço albino, com peso entre 36 a 54g, os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos conforme descrito na Tabela 1:

Tabela 1 Grupos Experimentais

Grupos	N = 50
Controle C (caixa moradia sedentário)	10
PBM+E (fotobiomodulação + exercício)	10
SHAM + E (sham + exercício)	10
PBM + S (fotobiomodulação + sedentário)	10
SHAM + S (sham + sedentário)	10

Material e Métodos



Material e Métodos



FIGURA 2 – DESENHO ESQUEMÁTICO DA LINHA DO TEMPO DAS INTERVENÇÕES REALIZADAS DURANTE O ESTUDO EXPERIMENTAL

4.3 Fotobiomodulação

Durante as 24h que precederam o início do tratamento, os camundongos foram contidos suavemente com a mão e os pelos do topo da cabeça foram removidos com o auxílio de uma máquina de tosa silenciosa da Shawan Star, para habituação ao pesquisador.

Para o tratamento com fotobiomodulação, os camundongos foram tratados com diodos de laser GaAIAs (arsenieto de gálio e alumínio) no comprimento de onda de 808 nm de um dispositivo emissor de luz TF Premier da MMO, São Paulo, Brasil (Figura 4). O dispositivo foi aplicado em contato direto com a superfície da cabeça do animal. Para o ponto de aplicação, os difusores foram posicionados de modo a entregar a energia no ponto com aproximadamente 1 cm² de tecido irradiado no topo da cabeça do animal, especificamente na região de interseção entre a sutura sagital e a sutura coronal no osso frontal, conhecida como bregma. (OUESLATI; LOVISA; PERRIN, 2015, CECYN; ABRAHAO, 2023). Os camundongos foram habituados durante 30 minutos e em seguida expostos, durante 30 segundos a aplicação de laser contínuo com potência de 100 mW que equivale a energia total de 3,3J, fornecendo densidade de energia de 100J/cm² até completarem 10 sessões, uma vez ao dia, durante 10 dias. Para cada exposição com fotobiomodulação, os camundongos foram contidos suavemente com a mão e o laser foi mantido perpendicularmente no topo da cabeça. Os camundongos que não receberam a irradiação, permaneceram com os difusores em um ponto de 1 cm² no topo da cabeça durante 30 segundos com o equipamento desligado (OUESLATI; LOVISA; PERRIN, 2015, EL MASSRI et al., 2016).

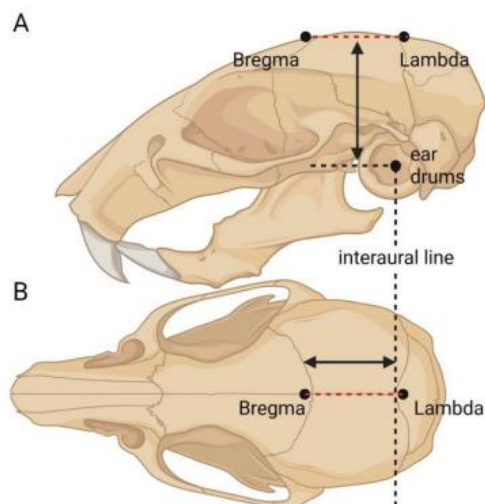


FIGURA 3 - (A) VISTA LATERAL DO CRÂNIO DO CAMUNDONGO COM PONTOS DETALHADOS DA MEDIÇÃO DO BREGMA E DO LAMBDA DEMONSTRANDO AS DISTÂNCIAS DORSOVENTRAIS DA LINHA INTRAURAL. (B) VISTA DORSAL DO CRÂNIO DO CAMUNDONGO DEMONSTRANDO AS DISTÂNCIAS ANTEROPOSTERIORES DA LINHA INTRAURAL COM O BREGMA MEDIDO NO PONTO DE CRUZAMENTO ENTRE AS SUTURAS CORONAL E SAGITAL. (CECYN; ABRAHAO; 2023)



FIGURA 4 - CAMUNDONGO SUAVEMENTE CONTIDO ENQUANTO O DIODO DE LASER É APLICADO NO TOPO DA CABEÇA

4.4 Teste Comportamental

4.4.1 Roda de Corrida

Os animais exercitados foram introduzidos à uma roda de corrida (Figura 5) com 17 cm de diâmetro durante 10 minutos, por 10 dias consecutivos imediatamente após serem submetidos a fotobiomodulação ligada ou sham. Os animais se exercitaram voluntariamente e espontaneamente durante o período estipulado e, o tempo em que o camundongo permaneceu correndo foi registrado com um cronômetro. O grupo sedentário que não foi exercitado foi introduzido diariamente à roda de corrida travada, durante 10 minutos (ZHOU et al., 2017



FIGURA 5 - CAMUNDONGO NA RODA DE CORRIDA.

4.4.2 Teste de reconhecimento de objeto

O novo teste de reconhecimento de objeto (NOR) é um método rápido e eficiente para avaliar diferentes fases de aprendizado e memória em camundongos. O teste consiste em três sessões: uma sessão de habituação, uma sessão de treinamento e uma sessão de teste. O treinamento envolve a exploração visual de dois objetos idênticos, enquanto a sessão de teste envolve a substituição de um dos objetos anteriormente explorado, por um novo objeto (LUEPTOW, 2017).

Durante a habituação os camundongos foram retirados de suas gaiolas individualmente e foram colocados no centro de um aparato de madeira vazio com dimensões 52,5 cm x 52,5 cm x 27,5 cm durante 5 minutos. Ao final, o camundongo foi alojado em uma gaiola de retenção para não comprometer o comportamento dos demais camundongos a serem testados. Todo o aparato foi higienizado com álcool 70% entre os treinos dos camundongos. 24 horas após a sessão de habituação o camundongo, foi recolocado individualmente no centro do aparato vazio durante 1 minuto para se habituar novamente, ao término foi colocado na gaiola de retenção, em seguida foram adicionados dois objetos idênticos (Figura 6), dois potes de vidro cilíndricos com areia cinza no interior da caixa em quadrantes opostos espaçados igualmente da parede e do centro do aparato, o camundongo foi reintroduzido ao centro da caixa equidistante aos objetos idênticos. Foi permitido que o modelo experimental explorasse ambos objetos até que a soma dos dois objetos explorados fosse de 30 segundos. Todo o aparato foi higienizado com álcool 70% entre o treinamento dos camundongos (LUEPTOW, 2017; MANSK, 2020).



FIGURA 6 - CAMUNDONGO REALIZANDO A SEGUNDA FASE DO TESTE, RECONHECIMENTO DE OBJETOS IDÊNTICOS

Vinte e quatro horas após a sessão de treinamento, o camundongo, foi recolocado individualmente no centro do aparato vazio durante 1 minuto para ambientar-se, ao término foi colocado na gaiola de retenção, em seguida para a sessão de teste um dos objetos foi substituído por novo objeto (Figura 7) não utilizado durante a sessão de treinamento mantendo a posição dos objetos como na sessão de treinamento. Foi permitido que o modelo experimental explorasse ambos objetos até que a soma dos dois objetos explorados fosse de 30 segundos. O lado em que o novo objeto foi posicionado foi contrabalanceado entre os animais. Todo o aparato foi higienizado com álcool 70% entre o treinamento dos camundongos (LUEPTOW, 2017; MANSK, 2020).

O tempo total da sessão de treinamento, de teste e da exploração dos objetos foi quantificado com auxílio de um cronômetro de mão (MANSK, 2020). Utilizamos a diferença entre o tempo de exposição como variável de interesse (delta_nor).



FIGURA 7 - CAMUNDONGO REALIZANDO A TERCEIRA FASE DO TESTE, RECONHECIMENTO DO NOVO OBJETO.

4.4.3 Teste Rota Rod

Os camundongos foram habituados durante 30 minutos e em seguida foram apresentados de dois em dois a andar em cima de um cilindro de 8 cm de diâmetro, posicionado transversalmente a aproximadamente 20 cm do piso do equipamento a rota-rod (Figura 8) 5 dias antes do início dos exercícios e no décimo segundo dia pós exercício em roda de corrida para avaliação da função motora. O tempo ligado e as quedas foram registradas. Todos os camundongos foram submetidos ao cilindro giratório movendo-se inicialmente a 5 rpm aumentando a velocidade gradativamente até atingir a velocidade de 20 rpm durante 300

segundos. O teste do rota-rod avaliou sua capacidade motora, coordenação e senso de equilíbrio antes e depois do experimento. Foi calculada a pontuação média das duas sessões e o tempo máximo de execução foi limitado a 300 segundos. (JANG et al., 2016; KOO; CHO, 2017). Utilizamos a diferença no número de quedas como variável de interesse.

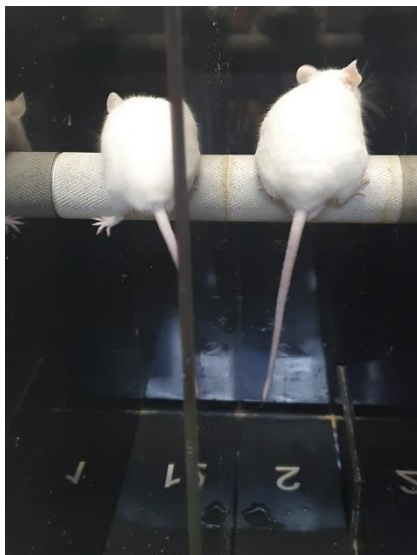


FIGURA 8 - CAMUNDONGOS SENDO AVALIADOS NO TESTE DO ROTAROD EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE QUEDAS.

4.4.4 Teste de Campo Aberto

O teste de campo aberto mede a atividade locomotora espontânea dos camundongos. Os camundongos foram colocados ao centro de uma caixa quadrada de madeira de 52,5 cm x 52,5 cm x 27,5, tendo sua base dividida em 25 quadrantes 10 cm x 10 cm, e foram habituados ao ambiente por 5 minutos. Depois seu movimento livre foi registrado durante 5 minutos. Após cada experimento a caixa foi esterilizada com solução de etanol 70% para limpar o fundo e as paredes, os dados sobre velocidade (m/s) e distância percorrida (m) foram coletados e analisados usando o software ANY-Maze 7.4 (WANG et al., 2022).



5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software STATA. Inicialmente foram realizados testes de homogeneidade e normalidade. O teste de análise de variância unidirecional (ANOVA) foi utilizado, seguido do teste post hoc, para os dados paramétricos, enquanto o teste de Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) seguido do ajuste de comparações múltiplas de Bonferroni, atuou nos dados não paramétricos. Além disso, foi realizada uma análise de regressão multivariada para investigar o efeito do tempo de exercício, sobre a variável dependente, delta_nor. O nível de significância adotado para todos os testes foi de $p \leq 0,05$. Todas as medidas comportamentais foram realizadas 48 horas após a última sessão de treinamento físico para evitar qualquer interpretação incorreta dos dados devidos a efeitos residuais agudos do exercício (LAU et al., 2011).

6. RESULTADOS

Os procedimentos deste estudo foram realizados entre os meses de Setembro a Novembro de 2024, contando com 40 camundongos machos suíço albino com idade entre 8 a 10 meses. Todos os animais completaram o estudo sem nenhuma intercorrência ou óbito.

Com relação às análises estatísticas, a normalidade das variáveis foi avaliada usando o teste de Shapiro-Wilk. Para a variável relacionada a diferença do tempo de exploração no teste de reconhecimento do objeto (delta_nor), o teste indicou um desvio significativo da normalidade ($W = 0,81576$, $p < 0,0001$), sugerindo que essa variável não segue uma distribuição normal. Em contraste, as variáveis diferença no número de quedas, velocidade e distância foram consideradas dentro da normalidade. Especificamente, os resultados do teste de Shapiro-Wilk para essas variáveis foram os seguintes: deltaquedas ($W = 0,98903$, $p = 0,96060$), velocidade ($W = 0,97595$, $p = 0,54231$) e distância ($W = 0,98176$, $p = 0,62840$), todas mostrando ausência de desvios significativos da normalidade.

TABELA 2 REPRESENTAÇÃO DO TESTE DE SHAPIRO-WILK

Deltaquedas	w = 0,98903	p = 0,96060
Velocidade	w = 0,97595	p = 0,54231

Distância	w = 0,98176	p = 0,62840
-----------	-------------	-------------

Devido à não normalidade de delta_nor foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para comparar as médias entre os quatro grupos experimentais. O teste indicou uma diferença significativa em deltanor entre os grupos ($\chi^2(3) = 8,008$, $p = 0,0458$), sugerindo que pelo menos um grupo diferiu significativamente dos outros.

Para investigar mais a fundo as diferenças entre pares específicos de grupos, realizamos comparações pareadas utilizando o teste de Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) para delta_nor. Seguido do ajuste de comparações múltiplas de Bonferroni.

A análise não indicou diferença significativa entre os grupos PBM+E e SHAM+E ($z = -0,681$, $p = 0,4960$), entre PBM+E e PBM+S ($z = 1,701$, $p = 0,0889$), entre PBM+E e SHAM+S ($z = -0,123$, $p = 0,9024$) e entre SHAM+E e SHAM+S ($z = 0,327$, $p = 0,7439$).

Entretanto entre os grupos SHAM+E e PBM+S foi encontrada uma diferença significativa ($z = 2,496$, $p = 0,0125$), indicando que delta_nor foi significativamente maior no SHAM+E em comparação com o PBM+S, o grupo SHAM+E levou mais tempo no reconhecimento do segundo objeto em relação ao grupo PBM+S.

A análise também indicou que entre os grupos PBM+S e SHAM+S também foi encontrada uma diferença significativa ($z = -2,451$, $p = 0,0143$), sugerindo que os valores de delta_nor no grupo PBM+S foram significativamente menores do que SHAM+S, o grupo PBM+S reconheceu mais rápido o segundo objeto comparado ao grupo SHAM+S.

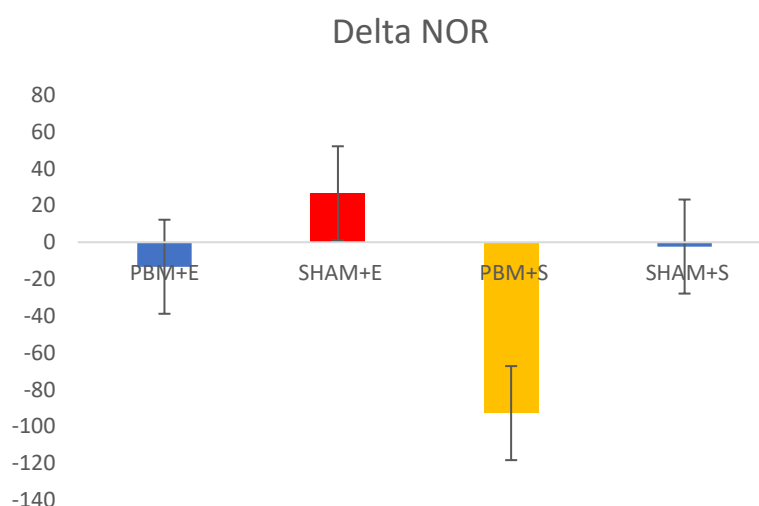


FIGURA 10 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DA MÉDIA DA DIFERENÇA EM SEGUNDOS DO TEMPO GASTO ENTRE O RECONHECIMENTO DE OBJETOS IDÊNTICOS E DISTINTOS.

Uma análise de regressão múltipla foi realizada para avaliar o impacto do grupo tempo roda de corrida sobre delta_nor. O modelo foi estatisticamente significativo ($F(2,36) = 3,27$, $p = 0,0496$), indicando que as variáveis independentes explicam uma porção significativa da variação em delta_nor, inferindo que, quanto mais ativo na roda de corrida maior o impacto no reconhecimento do objeto. No entanto, o valor de R-quadrado foi relativamente baixo (0,1537), sugerindo que outros fatores não incluídos no modelo também podem influenciar delta_nor. Em relação ao grupo, o coeficiente para grupo foi 36,20, indicando que para cada unidade de aumento em grupo, espera-se que delta_nor aumente em 36,2 unidades. No entanto, esse efeito não foi estatisticamente significativo ($p = 0,121$), sugerindo que o grupo não tem um impacto significativo sobre delta_nor neste modelo.

Para o tempo exercício, o coeficiente para tempo exercício foi de 0,035, indicando que, à medida que os dias de exercício aumentam, delta_nor aumenta aproximadamente 0,035 unidades. Esse efeito foi estatisticamente significativo ($p = 0,019$), sugerindo que o tempo exercício é um preditor significativo de delta_nor.

O intercepto foi -203,50, com um valor de p de 0,049, indicando que o valor base de delta_nor tanto no grupo quanto no tempo exercício são zero é significativamente diferente de zero.

Os resultados das análises estatísticas indicam que, embora existam algumas diferenças significativas em delta_nor entre grupos específicos, o poder explicativo geral de grupo nos modelos de regressão é limitado. Tempo exercício emergiu como um preditor significativo de delta_nor, destacando a importância do tempo de exercício na explicação das mudanças nessa variável.

Com relação às variáveis de desempenho motor, a ANOVA para delta_quedas não indicou diferenças significativas entre os grupos ($F(3,36) = 0,10$, $p = 0,9566$). O valor de R-quadrado do modelo foi de 0,0087, indicando que a variabilidade em delta_quedas não foi explicada pelo fator agrupamento grupo.

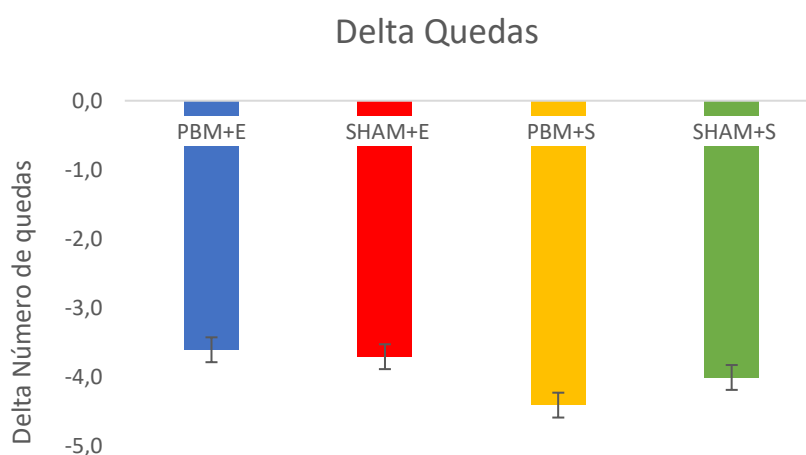


FIGURA 11 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DA MÉDIA DO CÁLCULO DELTA PARA NÚMERO DE QUEDAS, REPRESENTAÇÃO DA DIFERENÇA ENTRE O NÚMERO DE QUEDAS AO FINAL DO EXPERIMENTO COMPARADO AO TESTE ANTES DO EXPERIMENTO

A ANOVA para velocidade também não mostrou diferenças significativas entre os grupos ($F(3,36) = 0,29$, $p = 83$), com um R-quadrado de 0,02. Isso sugere que o fator grupo explica apenas uma pequena parte da variabilidade dependente da velocidade.

Da mesma forma, a ANOVA para distância não revelou diferenças significativas entre os grupos ($F(3,36) = 0,24$, $p = 0,87$). O valor de R-quadrado foi 0,01, refletindo um leve poder explicativo da variável de agrupamento sobre velocidade. Não reflete a variável de grupo, tendo pouca variação sobre a variável dependente.

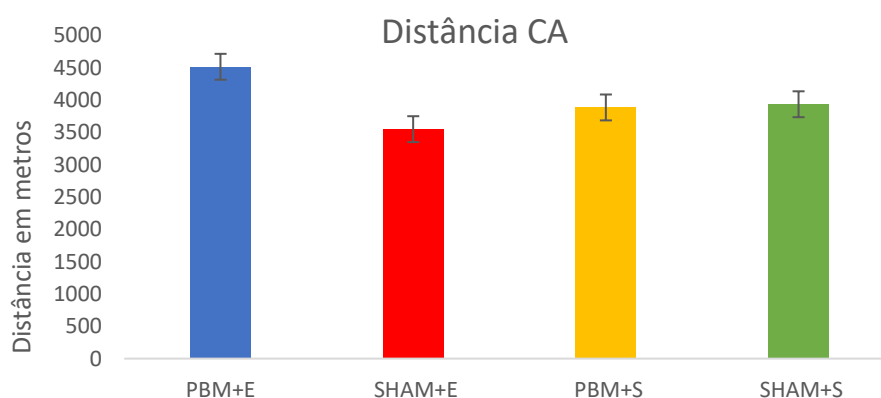


FIGURA 12 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DA MÉDIA DA DISTÂNCIA PERCORRIDA EM METROS NO TESTE DE CAMPO ABERTO

7. DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou demonstrar os efeitos da associação da fotobiomodulação com exercício no desempenho cognitivo e motor em camundongos de meia idade. Nossos resultados mostraram que em camundongos saudáveis de meia idade a fotobiomodulação pode levar a melhora cognitiva quando utilizada individualmente, porém quando associada ao exercício não demonstrou o mesmo desempenho. Com relação ao desempenho motor, nossos resultados não apontaram diferenças significativas entre os grupos.

Os parâmetros da fotobiomodulação utilizados no presente estudo basearam-se nos mais de 50 trabalhos publicados por Cardoso et al, 2021 que estudaram as propriedades anti-inflamatórias e os mecanismos da fotobiomodulação em diferentes modelos animais. Esses estudos, demonstram que a fotobiomodulação apresenta efeitos metabólicos promissores no desenvolvimento neuronal, plasticidade sináptica, aprendizado, memória e que em indivíduos jovens a fotobiomodulação transcraniana melhora as funções cognitivas trazendo benefícios para o cérebro jovem.

De acordo com Oliveira et al., 2024 o comprometimento cognitivo leve (CCL) que precede a demência pode aparecer precocemente, após os 45 anos, devido à neuroinflamação decorrente da perda estrutural e molecular dos substratos essenciais para a formação de sinapses e plasticidade neuronal que ocorre décadas antes do declínio cognitivo grave, portanto o tratamento precoce do CCL pode servir como meio preventivo de doenças neurodegenerativas ao interromper a neuroinflamação e preservar as funções cerebrais e cognitivas. No presente estudo, utilizamos camundongos com idades entre 8 e 10 meses, considerados equivalentes a camundongos de meia-idade. Essa faixa etária corresponde aproximadamente a humanos com idades entre 38 e 47 anos.

Huang et al., 2022 verificaram em sua revisão sistemática com meta-análise o efeito benéfico das variadas intervenções de exercícios no comprometimento cognitivo, entre essas intervenções, avaliaram as características distintas entre o exercício aeróbico e os exercícios de resistência. Constataram que para atrasar a progressão do comprometimento cognitivo, da função motora e da memória os exercícios de resistência possuem resultados mais promissores, pois são capazes de modular citocinas inflamatórias, entre elas as interleucinas (IL) que são expressas e liberadas em resposta às contrações musculares, o aumento da força e massa muscular tem sido associada a menores prejuízos cognitivos, ao reduzir o estresse oxidativo, promover a neurogênese e melhorar a sensibilidade à insulina.

Existe uma correlação positiva entre a frequência e a duração do exercício na melhora da função cognitiva, de acordo com o American College of Sports Medicine (ACSM) e a American Heart Association (AHA) 20 a 30 minutos de caminhada 5 dias por semana resultaram em melhora no desempenho cognitivo em pacientes com Doença de Alzheimer (NELSON et al., 2017)

A intensidade do exercício e o tempo de duração para produzir um efeito benéfico ainda não estão definidas, a maioria das intervenções que tem como público alvo humanos adultos e idosos consistem em volume e intensidade relativamente baixos (FRANCIS et al., 2020).

No estudo atual os camundongos foram exercitados por 10 minutos e durante 10 dias, exibindo um modelo de curta duração e curto prazo, a ineficácia na resposta cognitiva e motora quando associado a fotobiomodulação ou como modalidade única pode estar correlacionada a esse modelo.

Exercícios de maior intensidade e duração podem ser mais eficazes para melhora da memória e da função motora. Francis et al., 2020 utilizaram camundongos como modelo animal para doença de Alzheimer com 14 meses de idade e realizaram exercícios em roda de corrida durante 1, 3, ou 12h durante 4 meses e identificaram melhora da resposta cognitiva e motora. Os autores sugerem que para idade mais avançada como 18 meses idade, idade dos camundongos ao término do estudo o exercício pode não ser tão capaz de fornecer benefícios comportamentais como quando mais jovens, portanto os efeitos do exercício podem ser dependentes da duração, intensidade e idade, corroborando com a importância relatada no presente estudo sobre intervenções precoces para preservar as funções cognitivas prevenindo o comprometimento neurodegenerativo.

Hwang, Castelli, Gonzalez-Lima, 2016 associaram em seu estudo a fotobiomodulação transcraniana e o exercício em indivíduos jovens saudáveis (entre 18 e 30 anos) e não constataram maior aprimoramento cognitivo em comparação com fotobiomodulação ou exercício isoladamente. Os autores afirmam que ambos os tratamentos aumentam a respiração mitocondrial, a oxigenação cerebral e o fator neurotrófico derivado do cérebro. Dessa forma, resultando em efeitos cognitivos semelhantes, uma vez que tratamentos mediados por mecanismos biológicos semelhantes podem resultar em um efeito teto em indivíduos saudáveis. Por outro lado, a combinação de tratamentos mediados por mecanismos biológicos separados e independentes podem resultar em efeitos maiores. Esses resultados também foram observados em nosso estudo, onde o grupo PBM+E não demonstrou diferenças estatísticas no novo teste de reconhecimento do objeto, enquanto o grupo PBM+S apresentou melhor desempenho.

Hwang, Castelli, Gonzalez-Lima, 2016 afirmam que jovens saudáveis estão no pico do desempenho cognitivo e que os tratamentos parecem não melhorar o desempenho, mas protegem contra efeitos de fadiga como durante o teste de tarefa de memória de amostra. Afirmam ainda que os testes podem não refletir um efeito de aprendizagem, mas um efeito de desempenho.

Cardoso et al., 2021 investigaram o desempenho cognitivo, os níveis de citocinas e quimiocinas pró e anti-inflamatórias no cérebro de camundongos jovens (4 meses) e idosos (20 meses), utilizando um laser de diodo no comprimento de onda de 810 nm, potência de 100 mW, durante 30 segundos em cinco pontos transcraniano, durante 28 dias. Entre os vários testes comportamentais realizados o teste do campo aberto foi uma análise em comum com nosso estudo, e assim como no presente trabalho não obtiveram efeitos significativos da fotobiomodulação no desempenho cognitivo.

O teste de reconhecimento de objetos novos objetiva avaliar os efeitos da fotobiomodulação na melhora funcional da memória espontânea ao explorar novos objetos, um trabalho de memória hipocampo-dependente. Lu et al., 2017 infundiram substância A β (beta-amilóide) para indução de doença de Alzheimer em camundongos e utilizaram a fotobiomodulação transcraniana utilizando um diodo no comprimento de onda de 808 nm, em uma densidade de 25mW/cm², para atingir os tecidos do córtex cerebral, durante 2 minutos diariamente, no período de 5 dias. Os animais que receberam a substância A β , tiveram a memória significativamente prejudicada, o déficit e o índice de discriminação melhoraram após tratamento com fotobiomodulação na exploração do novo objeto. Foi observado melhora na aprendizagem a longo prazo e memória de reconhecimento. Por outro lado, o grupo que não recebeu a substância A β , mas recebeu aplicações de fotobiomodulação não demonstraram efeito na cognição dos animais. Nosso estudo, no entanto, demonstrou que animais saudáveis que receberam aplicações diárias de fotobiomodulação transcraniana obtiveram menor tempo para explorar os objetos.

O presente estudo é o primeiro a avaliar se há eficácia da fotobiomodulação transcraniana associada ao exercício em testes comportamentais em animais saudáveis. Estudos prévios identificaram melhora no teste de rotarod, campo aberto e reconhecimento do objeto em animais com alguma patologia induzida. Além disso, fizeram uso de apenas uma modalidade, fotobiomodulação ou exercício e não de ambas. Reinhart et al., 2017 utilizaram modelos de camundongos MPTP tratados com fotobiomodulação no comprimento de onda de 670 nm e 810 nm isolados ou em conjunto. O teste do campo aberto foi utilizado para mensurar

a atividade locomotora dos camundongos. Os autores notaram evidências de neuroproteção e melhorias comportamentais em modelos animais de doença de Parkinson, com o laser no comprimento de onda de 810 nm demonstrando um efeito mais forte no comportamento locomotor enquanto que o laser no comprimento de onda de 670 nm apresentou efeito mais forte na neuroproteção.

Duarte et al., 2018 utilizaram modelos animais que receberam um desmielinizante chamado cuprizona e aplicaram a fotobiomodulação transcraniana em uma densidade de energia de $36\text{J}/\text{cm}^2$ com potência média de 50 mW, modo contínuo e energia de pulso de 1J, irradiando no alvo $1,78\text{ W}/\text{cm}^2$ em um único ponto equidistante entre os olhos e os ouvidos dos camundongos, durante 20 s num total de 6 sessões. O teste do rota-rod foi utilizado para avaliar a coordenação motora dos grupos estudados. Antes da indução da desmielinização todos os animais apresentaram latências e número de quedas semelhantes. Após a exposição à cuprizona o grupo que apenas recebeu o desmielinizante apresentou maior número de quedas do cilindro em relação ao grupo controle que recebeu aplicações de laser transcraniano. Portanto, mais estudos são necessários para avaliar a eficácia ou ineficácia da associação das técnicas uma vez que o presente trabalho não constatou diferenças estatísticas entre os grupos avaliados com as terapias combinadas, mas sim quando utilizadas separadamente.

Limitações

Nosso estudo apresenta limitações, relacionadas a dificuldade na mensuração da penetração da luz aplicada em nosso protocolo. Salehpour et al., 2018 realizaram medições de transmissão de luz da fotobiomodulação necessárias para atingir os tecidos cerebrais em camundongos, constataram que a transmissão de luz no comprimento de onda de 660 nm através do crânio não tricotomizado considerando o tecido do couro cabeludo que consiste em uma espessura de amostra de $0,85 \pm 0,09\text{ mm}$ foi de $15,67\% \pm 0,87\%$ quando um feixe de luz foi focado na região do bregma. Esses fatores revelam que a fluência inicial na superfície do couro cabeludo foi de $99,9\text{J}/\text{cm}^2$ mas apenas $16\text{J}/\text{cm}^2$ atingiram a superfície cortical. Reinhart et al., 2017 revelaram uma redução de 65% da intensidade da luz para cada milímetro de tecido cerebral. Nosso estudo visava a realização do protocolo estipulado por Salehpour para observar a transmissão de luz no comprimento de onda de 808 nm em um piloto mas em virtude dos prazos para execução do cronograma não foi possível realizar essa análise, optando-se portanto a seguir os protocolos de trabalhos já publicados.

Sugerimos que trabalhos posteriores investiguem a penetração da luz através dos tecidos da cabeça do animal afim de fornecer uma dosagem ideal de fótons (J/cm^2), além de estipular o tempo de irradiação, a fluência e a entrega da fluência ideal os tecidos-alvos, dados necessários para aumentar a probabilidade de resultados positivos nas pesquisas e fornecer uma dose de radiação suficiente para áreas de interesse.

As enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e a glutationala peroxidase (GPx) são pioneiras no sistema de defesa antioxidante contra as espécies reativas de oxigênio (ROS) e durante danos oxidativos, possuem papel essencial nas funções cognitivas. Maiores quantidades de SOD e GPx estão relacionadas a melhora do desempenho cognitivo e motor (MEYNAGHIZADEH-ZARGAR et al., 2020). O presente estudo visava realizar a análise molecular dessas enzimas a fim de elucidar os mecanismos de ação envolvidos na cognição, no entanto não foi possível realizar essas análises, para tanto o cérebro dos camundongos foi removido, congelado e armazenado para análise molecular futura.

8. CONCLUSÃO

A fotobiomodulação transcraniana pode levar a melhora cognitiva quando utilizada individualmente, porém quando associada ao exercício não demonstrou o mesmo desempenho, sendo necessário mais estudos para verificar se a associação das técnicas em indivíduos saudáveis é realmente eficaz ou não. Vemos este estudo como um primeiro passo em direção a futuras investigações da sua eficácia no tratamento e prevenção de condições que comprometam a função motora e cognitiva.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASKALSKY P, IOSIFESCU DV. **Transcranial Photobiomodulation For The Management Of Depression: Current Perspectives.** *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2019 Nov 22;15:3255-3272. doi: 10.2147/NDT.S188906. PMID: 31819453; PMCID: PMC6878920.

BOSE A, BEAL MF. **Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease.** *J Neurochem.* 2016 Oct;139 Suppl 1:216-231. doi: 10.1111/jnc.13731. Epub 2016 Aug 21. PMID: 27546335.

CANNON JR, GREENAMYRE JT. **Neurotoxic in vivo models of Parkinson's disease recent advances.** *Prog Brain Res.* 2010;184:17-33. doi:10.1016/S0079-6123(10)84002-6

BURNS R. S., LEWITT P. A., EBERT M. H., PAKKENBERG H. and KOPIN I. J.(1985) **The clinical syndrome of striatal dopamine deficiency.Parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)**. N. Engl. J. Med. 312, 1418–1421.

CANNON JR, GREENAMYRE JT. **Neurotoxic in vivo models of Parkinson's disease recent advances**. *Prog Brain Res*. 2010;184:17-33. doi:10.1016/S0079-6123(10)84002-6

CARDOSO FDS, DE SOUZA OLIVEIRA TAVARES C, ARAUJO BHS, MANSUR F, LOPES-MARTNS RÁB, GOMES DA SILVA S. **Improved Spatial Memory And Neuroinflammatory Profile Changes in Aged Rats Submitted to Photobiomodulation Therapy**. *Cell Mol Neurobiol*. 2022 Aug;42(6):1875-1886. doi: 10.1007/s10571-021-01069-4. Epub 2021 Mar 11. PMID: 33704604.

CECYN MN, ABRAHAO KP. **Where do you measure the Bregma for rodent stereotaxic surgery?** *IBRO Neurosci Rep*. 2023 Jul 28;15:143-148. doi: 10.1016/j.ibneur.2023.07.003. PMID: 38204571; PMCID: PMC10776314.

CHAIEB L, ANTAL A, MASURAT F, PAULUS W. **Neuroplastic effects of transcranial near-infrared stimulation (tNIRS) on the motor cortex**. *Front Behav Neurosci*. 2015 Jun 2;9:147. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00147. PMID: 26082699; PMCID: PMC4451368.

CHANG J, REN Y, WANG R, LI C, WANG Y, CHU X. **Transcranial Low-Level Laser Therapy for Depression and Alzheimer’s Disease**. *Neuropsychiatry*. London. v.8 n.2 p.477–483. 2018.

CHATURVEDI RK, BEAL MF. **Mitochondrial approaches for neuroprotection**. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Dec;1147:395-412. doi: 10.1196/annals.1427.027. PMID: 19076459; PMCID: PMC2605644.

DOS SANTOS CARDOSO F, DOS SANTOS JCC, GONZALEZ-LIMA F, ARAÚJO BHS, LOPES-MARTINS RÁB, GOMES DA SILVA S. **Effects of Chronic Photobiomodulation with Transcranial Near-Infrared Laser on Brain Metabolomics of Young and Aged Rats**.

Mol Neurobiol. 2021 May;58(5):2256-2268. doi: 10.1007/s12035-020-02247-z. Epub 2021 Jan 8. PMID: 33417219.

DUARTE KCN, SOARES TT, MAGRI AMP, GARCIA LA, LE SUEUR-MALUF L, RENNO ACM, MONTEIRO DE CASTRO G. **Low-level laser therapy modulates demyelination in mice.** J Photochem Photobiol B. 2018 Dec;189:55-65. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.09.024. Epub 2018 Oct 3. PMID: 30312921.

EL MASSRIN, JOHNSTONE DM, PEOPLES CL, et al. **The effect of different doses of near infrared light on dopaminergic cell survival and gliosis in MPTP-treated mice.** *Int J Neurosci.* 2016;126(1):76-87. doi:10.3109/00207454.2014.994063

FANG X, HAN D, CHENG Q, ZHANG P, ZHAO C, MIN J, WANG F. **Association of Levels of Physical Activity With Risk of Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-analysis.** JAMA Netw Open. 2018 Sep 7;1(5):e182421. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.2421. PMID: 30646166; PMCID: PMC6324511.

FERREIRA AFF, BINDA KH, REAL CC. **The effects of treadmill exercise in animal models of Parkinson's disease: A systematic review.** *Neurosci Biobehav Rev.* 2021 Dec;131:1056-1075. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.10.019. Epub 2021 Oct 21. PMID: 34688727.

FOO ASC, SOONG TW, YEO TT, LIM KL. **Mitochondrial Dysfunction and Parkinson's Disease-Near-Infrared Photobiomodulation as a Potential Therapeutic Strategy.** *Front Aging Neurosci.* 2020 Apr 3;12:89. doi: 10.3389/fnagi.2020.00089. PMID: 32308618; PMCID: PMC7145956.

FRANCIS N, ROBISON LS, POPESCU DL, MICHAELLOS M, HATFIELD J, XU F, ZHU X, DAVIS J, ANDERSON ME, ANDERSON BJ, VAN NOSTRAND WE, ROBINSON JK. **Voluntary Wheel Running Reduces Amyloid- β 2 and Rescues Behavior in Aged Tg2576 Mouse Model of Alzheimer's Disease.** *J Alzheimers Dis.* 2020;73(1):359-374. doi: 10.3233/JAD-190810. PMID: 31796673; PMCID: PMC11686454.

GAN L, JOHNSON JA. **Oxidative damage and the Nrf2-ARE pathway in neurodegenerative diseases.** *Biochim Biophys Acta.* 2014 Aug;1842(8):1208-18. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.12.011. Epub 2013 Dec 29. PMID: 24382478.

GARCIA PC, REAL CC, BRITTO LR. **The Impact of Short and Long-Term Exercise on the Expression of Arc and AMPARs During Evolution of the 6-Hydroxy-Dopamine Animal Model of Parkinson's Disease.** *J Mol Neurosci.* 2017;61(4):542-552. doi:10.1007/s12031-017-0896-y

HAMBLIN MR. **Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation.** *Photochem Photobiol.* 2018;94(2):199-212. doi:10.1111/php.12864

HUANG YY, GUPTA A, VECCHIO D, de ARCE VJ, HUANG SF, XUAN W, HAMBLIN MR. **Transcranial low level laser (light) therapy for traumatic brain injury.** *J Biophotonics.* 2012 Nov;5(11-12):827-37. doi: 10.1002/jbio.201200077. Epub 2012 Jul 17. PMID: 22807422; PMCID: PMC5379852.

HUANG X, ZHAO X, LI B, CAI Y, ZHANG S, WAN Q, YU F. **Comparative efficacy of various exercise interventions on cognitive function in patients with mild cognitive impairment or dementia: A systematic review and network meta-analysis.** *J Sport Health Sci.* 2022 Mar;11(2):212-223. doi: 10.1016/j.jshs.2021.05.003. Epub 2021 May 16. PMID: 34004389; PMCID: PMC9068743.

HWANG J, CASTELLI DM, GONZALEZ-LIMA F. **Cognitive enhancement by transcranial laser stimulation and acute aerobic exercise.** *Lasers Med Sci.* 2016 Aug;31(6):1151-60. doi: 10.1007/s10103-016-1962-3. Epub 2016 May 25. PMID: 27220529.

JAGDEO JR, ADAMS LE, BRODY NI, SIEGEL DM. **Transcranial red and near infrared light transmission in a cadaveric model.** *PLoS One.* 2012;7(10):e47460. doi: 10.1371/journal.pone.0047460. Epub 2012 Oct 15. PMID: 23077622; PMCID: PMC3471828.

JANG Y, KOO JH, KWON I, et al. **Neuroprotective effects of endurance exercise against neuroinflammation in MPTP-induced Parkinson's disease mice.** *Brain Res.* 2017;1655:186-193. doi:10.1016/j.brainres.2016.10.029

KOO JH, CHO JY. **Treadmill Exercise Attenuates α -Synuclein Levels by Promoting Mitochondrial Function and Autophagy Possibly via SIRT1 in the Chronic MPTP/P-Induced Mouse Model of Parkinson's Disease** [published correction appears in *Neurotox Res.* 2017 Jul 24;:]. *Neurotox Res.* 2017;32(3):473-486. doi:10.1007/s12640-017-9770-5

LANGSTON J. W., BALLARD P., TETRUD J. W. and IRWIN I. (1983) **Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis.** *Science* 219, 979–980.

LAU YS, PATKI G, DAS-PANJA K, LE WD, AHMAD SO. **Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration.** *Eur J Neurosci.* 2011 Apr;33(7):1264-74. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07626.x. Epub 2011 Mar 7. PMID: 21375602; PMCID: PMC3079264.

LAVER, K., DYER, S., WHITEHEAD, C., CLEMSON, L., & CROTTY, M. **Interventions to delay functional decline in people with dementia: a systematic review of systematic reviews.** 2016 *BMJ open*, 6(4), e010767.

LONGO MGF, TAN CO, CHAN ST, WELT J, AVESTA A, RATAI E, MERCALDO ND, YENDIKI A, NAMATI J, CHICO-CALERO I, PARRY BA, DRAKE L, ANDERSON R, RAUCH T, DIAZ-ARRASTIA R, LEV M, LEE J, HAMBLIN M, VAKOC B, GUPTA R. **Effect of Transcranial Low-Level Light Therapy vs Sham Therapy Among Patients With Moderate Traumatic Brain Injury: A Randomized Clinical Trial.** *JAMA Netw Open.* 2020 Sep 1;3(9):e2017337. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.17337. PMID: 32926117; PMCID: PMC7490644.

LU Y, WANG R, DONG Y, TUCKER D, ZHAO N, AHMED ME, ZHU L, LIU TC, COHEN RM, ZHANG Q. **Low-level laser therapy for beta amyloid toxicity in rat hippocampus.**

Neurobiol Aging. 2017 Jan;49:165-182. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.10.003. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27815990; PMCID: PMC5458630.

LUEPTOW LM. **Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice.** *J Vis Exp.* 2017 Aug 30;(126):55718. doi: 10.3791/55718. PMID: 28892027; PMCID: PMC5614391.

MANSK L, M,Z **Formação de múltiplas memórias hipocampo-dependentes: o aprendizado como interferência** Dissertação (Mestrado em Fisiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 90. 2020.

MCGEE C, LIEBERT A, BICKNELL B, et al. **A Randomized Placebo-Controlled Study of a Transcranial Photobiomodulation Helmet in Parkinson's Disease: Post-Hoc Analysis of Motor Outcomes.** *J Clin Med.* 2023;12(8):2846. Published 2023 Apr 13. doi:10.3390/jcm12082846

MERCHANT, R.A., MORLEY, J.E. & IZQUIERDO, M. **Exercise, Aging and Frailty: Guidelines for Increasing Function.** *J Nutr Health Aging* **25**, 405–409 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12603-021-1590-x>

MEYNAGHIZADEH-ZARGAR R, SADIGH-ETEGHAD S, MOHADDES G, SALEHPOUR F, RASTA SH. **Effects of transcranial photobiomodulation and methylene blue on biochemical and behavioral profiles in mice stress model.** *Lasers Med Sci.* 2020 Apr;35(3):573-584. doi: 10.1007/s10103-019-02851-z. Epub 2019 Aug 1. PMID: 31372913.

NELSON, M.E.; REJESKI, W.J.; BLAIR, S.N.; DUNCAN, P.W.; JUDGE, J.O.; KING, A.C.; MACERA, C.A.; CASTANEDA-SCEPPA, C. **Physical activity and public health in older adults: Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association.** *Med. Sci. Sports Exerc.* **2007**, 39, 1435–1445.

DE OLIVEIRA BH, LINS EF, KUNDE NF, SALGADO ASI, MARTINS LM, BOBINSKI F, VIEIRA WF, CASSANO P, QUIALHEIRO A, MARTINS DF. **Transcranial**

photobiomodulation increases cognition and serum BDNF levels in adults over 50 years: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Photochem Photobiol B.* 2024 Nov;260:113041. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2024.113041. Epub 2024 Oct 5. PMID: 39423445.

OUESLATI A, LOVISA B, PERRIN J, et al. **Photobiomodulation Suppresses Alpha-Synuclein-Induced Toxicity in an AAV-Based Rat Genetic Model of Parkinson's Disease.** *PLoS One.* 2015;10(10):e0140880. Published 2015 Oct 20. doi:10.1371/journal.pone.0140880

PALASZ E, NIEWIADOMSKI W, GASIOROWSKA A, MIETELSKA-POROWSKA A, NIEWIADOMSKA G. **Neuroplasticity and Neuroprotective Effect of Treadmill Training in the Chronic Mouse Model of Parkinson's Disease.** *Neural Plast.* 2019 Apr 3;2019:8215017. doi: 10.1155/2019/8215017. PMID: 31073303; PMCID: PMC6470436.

REINHART F, MASSRI NE, TORRES N, CHABROL C, MOLET J, JOHNSTONE DM, STONE J, BENABID AL, MITROFANIS J, MORO C. **The behavioural and neuroprotective outcomes when 670nm and 810nm near infrared light are applied together in MPTP-treated mice.** *Neurosci Res.* 2017 Apr;117:42-47. doi: 10.1016/j.neures.2016.11.006. Epub 2016 Nov 18. PMID: 27871905.

RODRIGUES CP, JACINTO JL, ROVERATTI MC, MERLO JK, SOARES-CALDEIRA LF, SILVA RIBEIRO A, NUNES JP, JUNIOR EO, AGUIAR AF. **Effects of Photobiomodulation/Laser Therapy Combined With Resistance Training on Quadriceps Hypertrophy and Strength, and Postural Balance in Older Women: A Randomized, Triple-Blinded, Placebo-Controlled Study.** *J Geriatr Phys Ther.* 2022 Jul-Sep 01;45(3):125-133. doi: 10.1519/JPT.0000000000000313. Epub 2021 May 28. PMID: 34054079.

SALEHPOUR F, DE TABOADA L, CASSANO P, KAMARI F, MAHMOUDI J, AHMADI-KANDJANI S, RASTA SH, SADIGH-ETEGHAD S. **A Protocol for Transcranial Photobiomodulation Therapy in Mice.** *J Vis Exp.* 2018 Nov 18;(141). doi: 10.3791/59076. PMID: 30507909.

SALEHPOUR F, MAHMOUDI J, KAMARI F, SADIGH-ETEGHAD S, RASTA SH, HAMBLIN MR. **Brain Photobiomodulation Therapy: a Narrative Review**. *Mol Neurobiol*. 2018 Aug;55(8):6601-6636. doi: 10.1007/s12035-017-0852-4. Epub 2018 Jan 11. PMID: 29327206; PMCID: PMC6041198.

TEDFORD CE, DELAPP S, JACQUES S, ANDERS J. **Quantitative analysis of transcranial and intraparenchymal light penetration in human cadaver brain tissue**. *Lasers Surg Med*. 2015 Apr;47(4):312-22. doi: 10.1002/lsm.22343. Epub 2015 Mar 13. Erratum in: *Lasers Surg Med*. 2015 Jul;47(5):466. doi: 10.1002/lsm.22377. PMID: 25772014.

THUNSHELLE C, HAMBLIN MR. **Transcranial Low-Level Laser (Light) Therapy for Brain Injury**. *Photomed Laser Surg*. 2016 Dec;34(12):587-598. doi: 10.1089/pho.2015.4051. PMID: 28001759; PMCID: PMC5180077.

XUAN W, VATANSEVER F, HUANG L, HAMBLIN MR. **Transcranial low-level laser therapy enhances learning, memory, and neuroprogenitor cells after traumatic brain injury in mice**. *J Biomed Opt*. 2014;19(10):108003. doi: 10.1117/1.JBO.19.10.108003. PMID: 25292167; PMCID: PMC4189010.

WANG X, WANG Y, CHEN J, LI J, LIU Y, CHEN W. **Aerobic exercise improves motor function and striatal MSNs-Erk/MAPK signaling in mice with 6-OHDA-induced Parkinson's disease**. *Exp Brain Res*. 2022;240(6):1713-1725. doi:10.1007/s00221-022-06360-4

WU Q, XUANW, ANDO T, XU T, HUANG L, HUANG YY, DAI T, DHITAL S, SHARMA SK, WHALEN MJ, HAMBLIN MR. **Low-level laser therapy for closed-head traumatic brain injury in mice: effect of different wavelengths**. *Lasers Surg Med*. 2012 Mar;44(3):218-26. doi: 10.1002/lsm.22003. Epub 2012 Jan 24. PMID: 22275301; PMCID: PMC3397203.

YU Q, HEROLD F, BECKER B, KLUGAH-BROWN B, ZHANG Y, PERREY S, VERONESE N, MÜLLER NG, KRAMER AF, ZOU L. **Cognitive benefits of exercise interventions: an fMRI activation likelihood estimation meta-analysis**. *Brain Struct Funct*.

2021 Apr;226(3):601-619. doi: 10.1007/s00429-021-02247-2. Epub 2021 Mar 6. PMID: 33675397.

ZHOU W, BARKOW JC, FREED CR. **Running wheel exercise reduces α -synuclein aggregation and improves motor and cognitive function in a transgenic mouse model of Parkinson's disease.** *PLoS One*. 2017;12(12):e0190160. Published 2017 Dec 22. doi:10.1371/journal.pone.0190160