

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS
CIÊNCIAS DA SAÚDE**

DEFESA DE TESE

**Estudo comparativo do efeito da Fotobiomodulação Vascular com a Local em
Modelo Experimental de Rinite Alérgica Induzida por Ovoalbumina**

ADRIANA SCHAPOCHNIK

São Paulo, 8 de dezembro 2021

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

ADRIANA SCHAPOCHNIK

**Estudo comparativo do efeito da Fotobiomodulação Vascular com a Local em
Modelo Experimental de Rinite Alérgica Induzida por Ovoalbumina**

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho, como requisito para obtenção do título de Doutor em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dra. Adriana
Lino dos Santos Franco

São Paulo, 08 de dezembro de 2021

Schapochnik, Adriana.

Estudo comparativo do efeito da fotobiomodulação vascular com a local em modelo experimental de rinite alérgica induzida por Ovoalbumina. / Adriana Schapochnik. 2021.

68 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2021.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Adriana Lino dos Santos Franco.

1. Inflamação. 2. Doenças alérgicas. 3. Citocinas. 4. LLLT. 5. Laser de baixa intensidade.

I. Franco, Adriana Lino dos Santos.

II. Título.

CDU 615.831

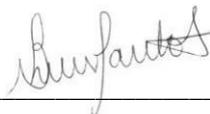
São Paulo, 08 de dezembro de 2021.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Adriana Schapochnik

Título da Tese: “Estudo comparativo do efeito da fotobiomodulação vascular com a local em modelo experimental de rinite alérgica induzida por ovoalbumina”.

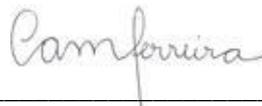
Presidente: PROF^a. DR^a. ADRIANA LINO DOS SANTOS FRANCO



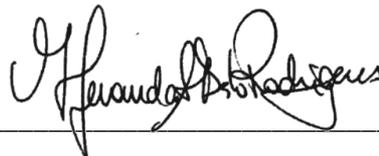
Membro: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS



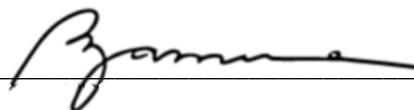
Membro: PROF^a. DR^a. CAROLINE MARCANTÔNIO FERREIRA



Membro: PROF^a. DR^a. MARIA FERNANDA SETÚBAL DESTRO RODRIGUES



Membro: PROF^a. DR^a. STELLA REGINA ZAMUNER



Dedico este trabalho aos meus pais, Osmar (in memoriam) e Lindaura, pela capacidade de transmitir o importante papel do estudo na formação do indivíduo.

Ao Marcelo, meu marido e pai dos meus filhos, meu maior incentivador para a realização dos meus sonhos.

Aos meus filhos, Matheus e Nicolas, que me inspiram a conquistar e enxergar novos horizontes.

As minhas queridas noras Larissa e Emma que trazem alegria e amor a nossa família.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof.^a Dra. Adriana Lino dos Santos Franco, por sua amizade, paciência, conhecimento e inspiração científica transmitidos durante a brilhante orientação deste estudo.

Aos colegas e funcionários do Departamento de Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde, pelo sempre auxílio frente às necessidades e solicitações.

A Universidade Nove de Julho por proporcionar a oportunidade de desenvolvimento deste projeto.

E por fim, a todos os colegas, em especial a Paula Tatiane Alonso (Uninove, Mestranda) e a equipe de Iniciação Científica: Lohana Carvalho Rocha (Uninove, estudante de IC), Gabriel José Cardoso dos Santos (Uninove, estudante de IC) e Aline Pires Cimatti (Uninove, estudante de IC), que auxiliaram para o desenvolvimento deste, foram imprescindíveis para o desenvolvimento e finalização do projeto. Expresso a todos meus sinceros agradecimentos.

*“Talvez você esteja procurando nos galhos aquilo
que só pode ser encontrado nas raízes.”*

Rumi

RESUMO

A Rinite Alérgica (RA) é definida como inflamação e/ou disfunção da mucosa nasal e é um problema de saúde mundial que gera um impacto significativo na qualidade de vida e ônus da assistência médica e a educação ao paciente, baseada em informativos, pode facilitar o controle a prevenção da rinite alérgica. Os sintomas de RA afeta negativamente o paciente e diminui sua produtividade. O objetivo do tratamento da RA é o alívio dos sintomas e incluem irrigação de salina nasal, descongestionantes orais e intranasais, anti-histamínicos orais, corticosteroides intranasais, antagonistas dos receptores de leucotrienos e imunoterapia. No entanto, alguns destes fármacos apresentam efeitos colaterais consideráveis, e em casos mais graves não são eficazes. Assim, a Fotobiomodulação (FBM) emerge como uma terapia coadjuvante, sem efeitos adversos e apresenta bons resultados para diversas doenças com caráter inflamatório, incluindo as do trato respiratório. Tendo em vista que a RA não é apenas um distúrbio localizado no nariz e nas fossas nasais e apresenta componente sistêmico, o presente projeto teve o objetivo de comparar os efeitos da FBM Vascular (FBMV) na Artéria Caudal e Local (FBML) sob a narina com aparelho de LED (*Light Emitting Diode*) sobre o desenvolvimento da RA. Para tanto, ratos Wistar machos adultos foram submetidos ou não a RA por meio de injeções intradérmicas de Ovoalbumina (OVA) acrescida de hidróxido de alumínio como adjuvante dissolvidos em solução salina (do dia 1 ao 13). Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do dia 14 ao 21 através da instilação intranasal diária de OVA. Os ratos tratados com FBMV e FBML foram irradiados com aparelho de LED na artéria caudal e narina durante 3 dias consecutivos imediatamente após a provocação com OVA. Nossos resultados mostraram que o tratamento com FBML, e não a FBMV, reduziu o nível e a expressão gênica de IL-4, aumentou a IL-10 sem alterar IL-5 e IFN-gama e reduziu as citocinas Th2, a qual contribui para melhorar os sintomas de RA. Nesse contexto, o estudo proposto forneceu subsídios para propor alternativa terapêutica eficaz para o tratamento da RA com FBML e não FBMV a qual não evidencia nenhum efeito aditivo que justifique seu uso.

Palavras Chave: Inflamação, Doenças Alérgicas, Citocinas, LLLT, Laser de Baixa Intensidade, LED, Fototerapia, ILIB.

ABSTRACT

Allergic Rhinitis (AR) is defined as inflammation and/or dysfunction of the nasal mucosa and is a global health problem that has a significant impact on quality of life and the burden of medical care. Patient education based on better communication can facilitate the control and prevention of allergic rhinitis. The symptoms of AR negatively affect the patient and decrease their productivity. The goal of AR treatment is symptom relief and includes nasal saline irrigation, oral and intranasal decongestants, oral antihistamines, intranasal corticosteroids, leukotriene receptor antagonists, and immunotherapy. However, some of these drugs have considerable side effects, and in more severe cases they are not effective. Thus, Photobiomodulation (PBM) emerges as an adjuvant therapy, without adverse effects and presents good results for several diseases with an inflammatory character, including those of the respiratory tract. Considering that AR is not just a disorder located in the nose and nasal cavities and has a systemic component, this project aims to compare the effects of Vascular PBM (VPBM) in the caudal and Local artery (LPBM) under the nostril with a device. LED (Light Emitting Diode) on the development of AR. For this purpose, adult male Wistar rats were submitted or not to RA by intradermal injections of Ovalbumin (OVA) plus aluminum hydroxide as an adjuvant dissolved in saline solution (from day 1 to 13). After immunization, nasal challenge was performed from day 14 to 21 through daily intranasal instillation of OVA. Rats treated with VPBM and LPBM were irradiated with LED apparatus in the tail artery and nostril for 3 consecutive days immediately after OVA challenge. Our results showed that treatment with VPBM, reduced the level and gene expression of IL-4, increased IL-10 without altering IL-5 and IFN-gamma, and reduced Th2, a cytokine which contribute to improving the symptoms of AR. In this context, the proposed study provided subsidies to propose an effective therapeutic alternative for the treatment of AR with LPMB and not VPMB which does not show any additive effect that justifies its use.

KeyWords: Allergic Rhinitis, Inflammation, Cytokines, Photobiomodulation, LASER, LED, Phototherapy, ILIB

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A resposta de fase inicial.....	21
Figura 2: A resposta de fase tardia.....	23
Figura 3: Esquema de localização anatômica de vasos em cauda de roedores.....	29
Figura 4: Aparelho Biolambda.....	45
Figura 5: Delineamento experimental.....	46
Figura 6: Degranulação de mastócitos em nasofaringe.....	50
Figura 7: Degranulação de Mastócitos nas Narinas.....	52
Figura 8: Quantificação dos Níveis de Eicosanóides por ELISA.....	54
Figura 9: Níveis de Citocinas determinada por ELISA na Nasofaringe.....	56
Figura 10: Níveis de Expressão Gênica de Citocinas determinadas por RT- PCR na Nasofaringe...	58

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação de Rinite Alérgica.....	19
Quadro 2: Farmacoterapia e Imunoterapia para Rinite Alérgica.....	24
Quadro 3: Artigos com o uso de FBM Intravenosa/ ILIB e FBMV em modelo experimental.....	30
Quadro 4: Artigos com uso de FBM Intravenosa/ ILIB e FBMV em doenças respiratórias.....	36
Quadro 5: Artigos com uso de FBML na RA.....	41
Quadro 6: Parâmetros Dosimétricos.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

B: Basal

BOC: Bronquite Obstrutiva Crônica

C: Celsius

cDNA: DNA complementar

Células B: Linfócito B

CL: quimioluminescência dependente de luminol

Celúlas T: Células Tronco

CXCL1/KC: Ligante de Quimiocina 1/KC

CW: Continuous Wave/ Onda contínua

DNase: Desoxiribonuclease

dNTP: Ditiotreitól

ECP: Proteína Catiônica Eosinofilia

ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*/ Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

EPM: Erro Padrão da Média

EROs: Espécies reativas de Oxigênio

FBM: Fotobiomodulação

FBML: Fotobiomodulação Local

FBMV: Fotobiomodulação Vasculár

FAO: Formas Ativas de Oxigênio

g: grama

G-CSF: Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos

GM-CSF: Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos-Macrófagos

H₁: antihistamine H₁

He- Ne: Hélio Neonio

ICAM-1: Molécula de Adesão Intercelular-1

ID; Intradérmica

IgE: Imunoglobulinas E

IFN- γ : Interferon- gama

IL: Interleucinas

IL-1 β : Interleucina 1 beta

IL-3: Interleucina 3

IL-4- Interleucina4

IL-5: Interleucina 5

IL-6: Interleucina 6

IL-10: Interleucina 10

IL-13: Interleucina 13

IL-17 A: Interleucina 17 A

ILIB: *Intravascular Laser Irradiation of Blood*/ Irradiação Intravascular do Sangue com Laser

IP: Intraperitoneal

J: Joule

J/cm²: Joule por centímetro quadrado

Kg: Quilograma

LAP: Lesão Aguda Pulmonar

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation/ Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação

LBA: Lavado Broncoalveolar

LED: Light Emitting Diode/ Diodo Emissor de Luz

LPS: Lipopolissacarídeo

LTB4: Leucotrieno B4

LTC4: Leucotrieno C4

LTD4: Leucotrieno D4

Ltd: Limitada

LTE4: Leucotrieno e4 LTB4

MBP: Proteína Básica Principal

MCP-4: Proteína Quimiotática de Monócitos-4

Mg: Miligrama

mL: mililitros

mm: milímetro

MHC: Complexo Principal de Histocompatibilidade

mUV/ VIS: luz na faixa do visível, do ultravioleta próximo e do infravermelho

mW: miliwatt

NaCl: Cloreto de Sódio

NF-kappa B: Factor Nuclear kappa B

nm: manometro

OVA: Ovoalbumina

PBS: Tampão fosfato-salino

PCR: proteína C Reativa
pH: Potencial Hidrogeniônico
PG2: Prostaglandina 2
RA: Rinite Alérgica
RANTES: Regulada na Ativação de Células T Normais Expressas e Secretadas
RBL-2H3:mastócito RBL- 2H3
RL: Radicais Livres
RLRPT- Modelo de Dispositivo de Rinoterapia
RNA: Ácido Ribonucleico
RNAm: Ácido Ribonucleico Mensageiro
RNase: Ribonuclease
SDRA: Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SOD: Superóxido Dismutase
TARC: Timo e Ativação
Th: Receptor de Células T
Th1: Células T auxiliares de tipo 1
Th2: T helper tipo 2
TLR4: Receptor do tipo Toll 4
TNF- α : Interferon- alfa
TSLP: Linfopietina Estromal Timica
TXA2: Tromboxano A2
U: unidade
UI: Unidades Internacionais
UV-A: Ultravioleta A
UV-B: Ultravioleta B
VCAM-1: Proteína de adesão celular vascular-1
VEF- Volume Expiratório Forçado
 μ l: milionésima parte do litro
 μ M: micrometro
W/cm²: watts por centímetro quadrado
1 β
 Λ : lambda

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	18
1.1 Caracterização da Rinite Alérgica	18
1.2 Mecanismos da Rinite Alérgica	19
1.3 Terapias Medicamentosas na Rinite Alérgica	23
1.4 Caracterização da Fotobiomodulação	25
1.5 Caracterização da Fotobiomodulação Vascular	26
1.6 Caracterização da Fotobiomodulação Vascular em Estudos Experimentais	28
1.7 Caracterização da Fotobiomodulação Intravenosa/ ILIB e Fotobiomodulação Vascular em Doenças Respiratórias	31
1.8 Caracterização da Fotobiomodulação Local na Rinite Alérgica nos Estudos Experimentais em Estudos Clínicos	38
1.9 Justificativa do Estudo	43
2 OBJETIVOS	43
2.1 Objetivo Geral	43
2.2 Objetivos Específicos	43
3 MATERIAL E MÉTODO	44
3.1 Animais	44
3.2 Grupos de Estudo	44
3.3 Indução da Rinite Alérgica Experimental	44
3.4 Tratamento com Fotobiomodulação Vascular e Local	45
3.5 Delineamento Experimental	46
3.6 Avaliação da Concentração de Citocinas e Eicosanoides no Homogenato da Narina e Nasofaringe	46
3.7 PCR em Tempo Real para Determinação da Expressão de Citocinas em Tecido Nasal e Nasofaringe	47
3.8 Determinação da Degranulação Mastocitária	47
3.9 Análise Estatística	48
4 RESULTADOS	49
4.1 FBML, mas não por FBMV, reduz a Degranulação de Mastócitos na Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica	49

4.2 FBML, mas não por FBMV, reduz a degranulação de Mastócitos na Narina em Modelo Experimental de Rinite Alérgica	51
4.3 FBML, mas não por FBMV, reduz os Níveis de Eicosanóides nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite.....	53
4.4 FBML, mas não por FBMV, reduz os Níveis de Il-4, enquanto aumenta os Níveis de Il-10 nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental De Rinite Alérgica	55
4.5 FBM Local, mas não por PBM Sistêmico, reduz a Expressão Gênica de Il-4, enquanto aumenta a Expressão Gênica de Il-10 nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica	57
5 DISCUSSÃO	59
6 CONCLUSÕES	61
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
Anexo I	68
Anexo II	69

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Caracterização da Rinite Alérgica

A Rinite é amplamente definida como uma inflamação da mucosa de revestimento nasal, mediada por Imunoglobulinas E (IgE), após exposição a alérgenos e com os sintomas a saber: obstrução nasal, rinorreia aquosa, espirros e prurido nasal.¹

A Rinite Alérgica (RA) é um distúrbio comum que afeta 40% da população e as evidências sugerem que a prevalência da doença está aumentando. Hoje, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento, percebemos um perfil de doença diferente em relação às décadas anteriores, com predomínio de doenças alérgicas, autoimunes e inflamatórias crônicas em vez das infecciosas. Parte desse fenômeno se deve à “Hipótese da Higiene”, segundo a qual mudanças nos estilos de vida das pessoas, como na alimentação, consumo de produtos industrializados ricos em conservantes e outros produtos químicos, bem como a redução do contato das crianças. já com os microrganismos, devido a uma melhor higiene e vacinação, acarretou alterações nas características imunológicas dos indivíduos. Segundo alguns autores, o que explicaria a “Hipótese da Higiene” seria um maior predomínio da linhagem Th2 em relação às Th1, onde a alteração da microbiota intestinal pode ser um dos fatores envolvidos. Estudos têm demonstrado que as bactérias presentes na microflora intestinal desempenham um papel no equilíbrio Th1 / Th2 , e sua modulação pode promover o controle de processos infecciosos e imunológicos. Essa modulação pode ser realizada por meio do uso de probióticos, que são suplementos de microrganismos.^{2,3}

Estudos em crianças pequenas mostraram um maior risco de rinite alérgica em pessoas com introdução precoce de alimentos ou fórmula e/ou exposição excessiva ao tabagismo no primeiro ano de vida.⁴

A RA grave tem sido associada a prejuízos significativos na qualidade de vida, como complicações comportamentais que incluem déficits cognitivos, declínio da memória, deficiências no desempenho escolar, falta de atenção, hiperatividade, ansiedade, depressão e alterações no sono, principalmente na infância e na adolescência. Deste modo, a educação do paciente baseada na melhora da comunicação e informação sobre a RA pode melhorar o manejo da rinite alérgica e isso deve se estender a todos os âmbitos educacionais inclusive familiar e educacional, pois a prevenção sempre será o melhor tratamento. Observamos que historicamente, a crença era de que a RA era uma condição apenas das fossas nasais, entretanto, sabe-se que também apresenta um componente sistêmico das vias aéreas envolvendo assim todo o trato respiratório, fato que explica sua íntima associação com asma e dermatite atópica.^{5,6,7,8}

A RA pode ser classificada de acordo com a frequência, demonstrada no Quadro 1, como intermitente ou persistente, com aproximadamente 20% dos casos sendo intermitentes, 40% persistente e 40% com características de ambos e sintomas (espirros, prurido, obstrução nasal e coriza) leves, moderados e graves.⁹

Quadro 1: Classificação de Rinite Alérgica

Rinite Alérgica	Intermitente	Persistente
Frequência	< 4 dias por semana ou < 4 semanas	4 dias por semana ou 4 semanas
Sintomas	Leve: Sono normal Atividades normais Sintomas não incomodam	Moderada-Grave: Sono comprometido Atividades comprometidas Sintomas incomodam

Fonte: Adaptado de Solé D, Sakano E, et al, 2012⁹

A RA é diagnosticada com base na combinação da história de dois ou mais sintomas nasais que são os espirros, prurido, obstrução nasal e coriza e confirmação da suspeição de sensibilização pelo teste IgE específico. O diagnóstico da RA é frequentemente feito clinicamente com base nos sintomas característicos ou ainda pode ser baseado na evidência da sensibilização, medido tanto pela presença de alérgeno específico para IgE no soro ou por testes alérgicos cutâneos positivos. O prurido é o sintoma mais sugestivo da etiologia alérgica e envolve não somente o nariz, como também o palato, a garganta, os olhos e as orelhas.^{10, 11, 12, 13,14}

1.2 Mecanismos da Rinite Alérgica

A respiração nasal assume um papel protetor das cavidades paranasais, auriculares e das vias aéreas inferiores, não podendo ser separada do restante do trato respiratório, uma vez que sua função primordial é o preparo do ar para que haja melhor aproveitamento deste nos pulmões.¹⁵

Portanto, a estrutura e histologia do nariz é projetada com principal objetivo de umidificar o ar inalado através de uma rede vascular e produzir uma grande quantidade de muco que capta partículas, gases e vapores inalados sejam direcionados pela células ciliadas para a parte posterior da garganta, permitindo que sejam engolidos, desviando-os do trato respiratório inferior, sendo um processo fisiológico normal denominado de gotejamento pós-nasal. Entretanto, algumas destas partículas capturadas podem iniciar à cascata alérgica mediada por IgE que está presente no revestimento dos olhos, nariz e vias aéreas inferiores.¹⁶

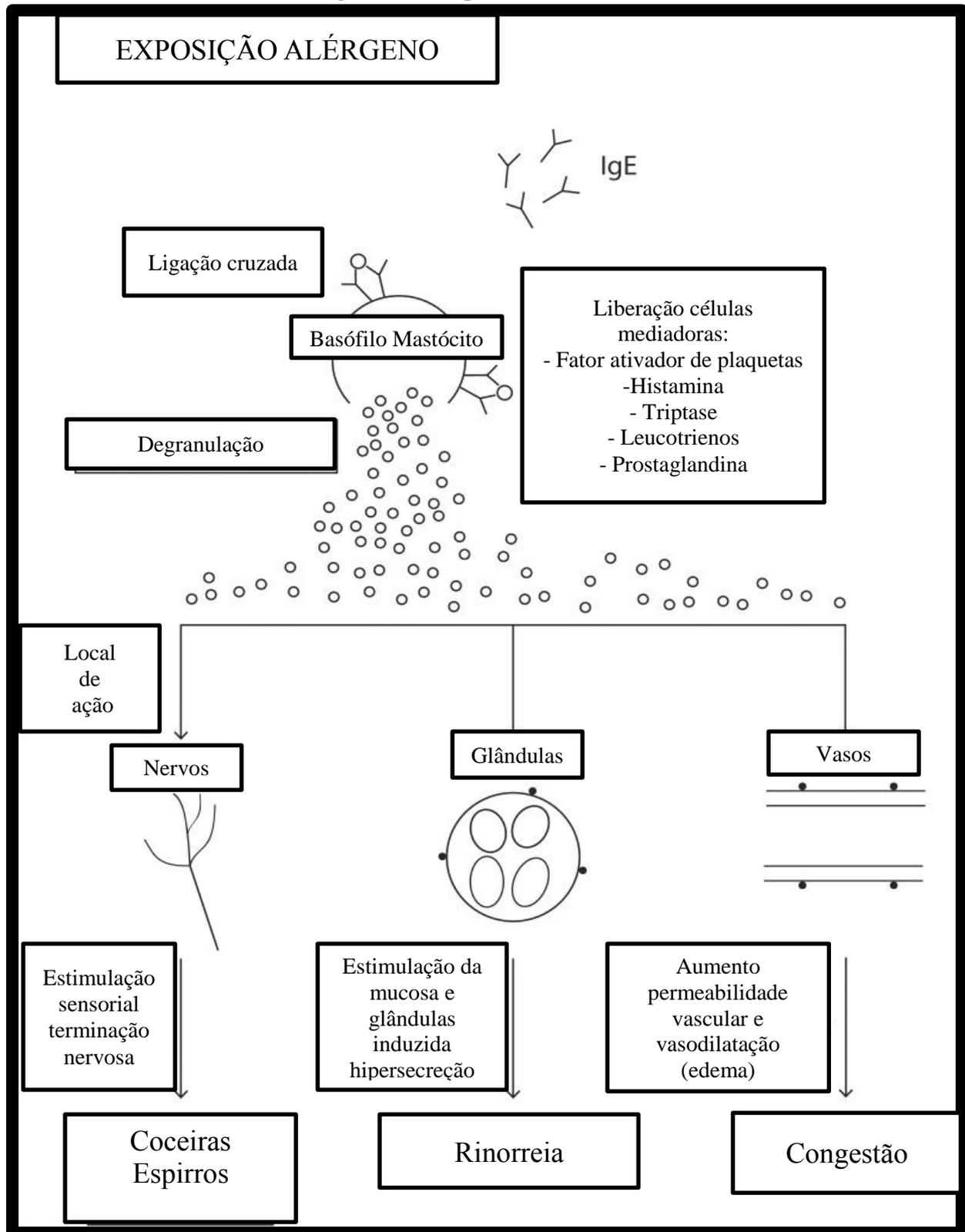
Os alérgenos mais importantes são os pólenes e fungos sazonais, bem como os perenes encontrados em casa, como ácaros da poeira, animais de estimação, baratas, ratos e mofo. A RA, é deflagrada por reações mediadas por produção de anticorpos IgE contra alérgenos inalados e assim inicia a Fase Inicial da mesma com uma série de eventos demonstrados na Figura 1.^{17,18}

Assim, quando uma pessoa é exposta ao alérgeno o qual é sensibilizada, a ligação do alérgeno a IgE na superfície dos mastócitos da mucosa nasal que estimulam as terminações nervosa sensoriais, as glândulas, e os pequenos vasos das mesmas e resulta em sintomas clássicos nasais em minutos, pela liberação de substâncias vasoativas como a histamina, prostaglandina D₂, e cisteinil-leucotrienos (LTC₄, LTD₄ e LTE₄).^{17, 18, 19}

Ainda, outras células inflamatórias como macrófagos e eosinófilos se infiltram no revestimento nasal após exposição ao alérgeno e liberam mediadores como interleucina (IL) IL-3, IL-4, IL-5 e IL-13. Em conjunto todos esses eventos são responsáveis pela dilatação arteriolar, aumento da permeabilidade vascular, prurido, rinorreia, e contração da musculatura lisa no pulmão, caracterizando a fase inicial da RA.^{20, 21, 22}

Os eventos anteriores desencadeiam a expressão do complexo MHC classe II-peptídeo, também responsável pela produção dos altos níveis da IL-3, IL-4, IL-5 e IL-13, na superfície celular onde é reconhecido pelo receptor de células T auxiliares (Th) e outras moléculas coestimuladoras. As células T auxiliares de tipo 1 (Th1) suprimem as respostas imunitárias Th2, liberando IFN- γ , assim o desequilíbrio entre as células Th1 e Th2 desempenham um papel essencial no desenvolvimento e no agravamento da RA, sendo a expansão do fenótipo Th2 um dos fatores desencadeadores dos sintomas típicos de alergia. O agravamento da rinite alérgica é caracterizado pelo desequilíbrio entre as células Th1 e Th2, com predomínio da ativação Th2. Assim, diversos estudos focaram na ativação de células Th2 ou na modulação do equilíbrio Th1 / Th2 para prevenir e tratar RA.²²

Figura 1: A resposta de fase inicial

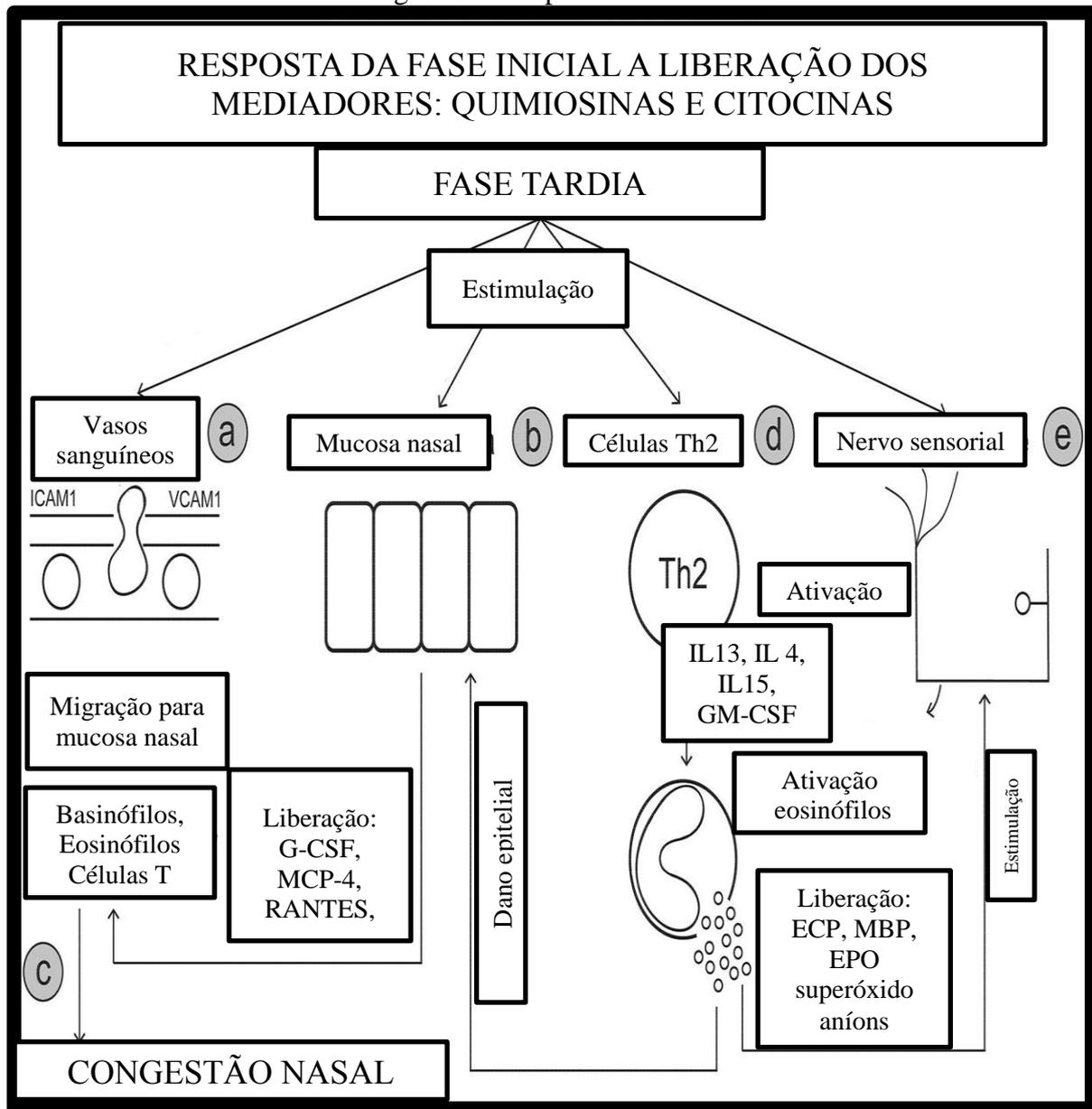
Adaptado Fonte: Watts AM, Cripps AW, West NP, Cox AJ, 2019¹⁸

Mediadores e citocinas liberadas durante a resposta de fase inicial, atuam em vários locais, incluindo vasos sanguíneos nasais, células epiteliais nasais, células T e nervos sensoriais para iniciar os sintomas de uma resposta alérgica e desencadeiam uma resposta inflamatória adicional nas próximas 4-8 horas caracterizada como uma resposta inflamatória de fase tardia, demonstrada na Figura 2, resultando em sintomas recorrentes (geralmente congestão nasal) que frequentemente persistem.^{18, 19}

A resposta de fase tardia tem o envolvimento e presença de células efetoras imunes, incluindo basófilos, células T e eosinófilos, que migram para a mucosa nasal em resposta ao estímulo de fase inicial. A liberação de citocinas e mediadores por estas células efetoras perpetuam ainda mais a resposta alérgica e a manifestação dos sintomas. Segue a descrição de acontecimentos da fase tardia:²⁰

- a) Os mediadores de mastócitos atuam nas moléculas de adesão (por exemplo, ICAM-1 e VCAM-1) nas células endoteliais dos vasos sanguíneos aumentando a permeabilidade vascular permitindo assim que as células efetoras, tais como eosinófilos, células T e basófilos migrem para a mucosa nasal;
- b) As células da mucosa nasal são estimuladas por produtos de mastócitos a secretar moléculas de sinalização celular, que promovem ainda a quimiotaxia das células efetoras para a mucosa nasal;
- c) O edema nasal (congestão) é agravado pelo influxo de células imunes e sua subsequente liberação de mediadores;
- d) A liberação de citocinas pelas células T, ativa e estimula os eosinófilos a liberar mediadores tóxicos; e
- e) Mediadores derivados de eosinófilos danificam o epitélio nasal e deixam as fibras nervosas expostas à histamina e a outros mediadores que promovem a inflamação neurogênica: G-CSF (Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos); MCP-4 (Proteína Quimiotática de Monócitos-4); RANTES (Regulada na Ativação de Células T Normais Expressas e Secretadas); Quimiocina regulada por TARC (Timo e Ativação); TSLP (Linfopoiética Estromal Timica), GM-CSF (Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos-Macrófagos); ECP (Proteína Catiônica Eosinofílica) e MBP (Proteína Básica Principal).

Figura 2: A resposta de fase tardia



Adaptado Fonte: Watts AM, Cripps AW, West NP, Cox AJ, 2019

1.3 Terapias Medicamentosas na Rinite Alérgica

O objetivo do tratamento para a RA é o alívio dos sintomas. Dentre as opções terapêuticas disponíveis incluem medidas de prevenção e afastamento de alérgenos, irrigação salina nasal, anti-histamínicos orais, corticosteroides intranasais, combinação de sprays intranasais de corticosteroides/anti-histamínicos; antagonistas dos receptores de leucotrienos e imunoterapia. Ainda, descongestionantes e corticosteroides orais também podem ser utilizados.^{23, 24, 25, 26}

Embora muitos medicamentos tópicos tenham sido desenvolvidos para tratar a inflamação alérgica, não há um único medicamento disponível para atingir todos os componentes do processo inflamatório.

Descongestionantes nasais e anticolinérgicos aliviam os sintomas específicos da RA, como congestão nasal e rinorreia. Os anti-histamínicos e as cromonas atuam sobre componentes inflamatórios específicos da resposta alérgica, como a modificação da interação da histamina com os receptores de histamina e a prevenção da liberação de histamina e outros mediadores dos mastócitos. Os corticosteroides são a única classe de fármacos que possui uma ampla ação anti-inflamatória e atuam modificando múltiplas vias de transdução de sinal via transativação e transrepressão. Essas ações resultam na regulação negativa de citocinas inflamatórias, quimiocinas, mediadores e moléculas de adesão celular e também impedem a migração de células efetoras inflamatórias para a mucosa nasal, melhorando coletivamente os principais eventos que sustentam os sintomas da RA.^{22, 25, 26}

Além disso, muitos médicos supostamente prescrevem múltiplas terapias para alcançar um alívio mais abrangente dos sintomas, descritos no quadro 2. Nesta base, as pulverizações nasais combinadas foram desenvolvidas para atender às demandas de melhor controle dos sintomas na forma conveniente e econômica de um único jato. Sprays nasais combinados contendo anti-histamínicos e corticosteroides têm sido os mais extensivamente estudados e comercializados.^{27, 28, 29}

Quadro 2: Farmacoterapia e Imunoterapia para Rinite Alérgica

Tipos de sintomas	Opções de tratamentos recomendados
Sintomas episódicos	- Anti-histamínico H ₁ oral ou nasal; - Descongestionante oral ou nasal.
Sintomas leves, sazonais ou perenes	- Glicocorticoide intranasal; - Anti-histamínico H ₁ oral ou nasal; - Leucotrieno- antagonista do receptor.
Sintomas moderados a graves	- Glicocorticoide intranasal; - Glicocorticoide intranasal + Anti-histamínico H ₁ nasal; - Imunoterapia com alérgenos administrada por via subcutânea ou sublingual.

Fonte: Adaptado Javad G, Alireza R, Annegret Q, 2015³⁰

O futuro desenvolvimento de fármacos para tratar os sintomas de RA é desafio pela imensa complexidade da fisiopatologia da doença. A perspectiva de fármacos intranasais pode incluir tratamentos combinados adicionais. O melhor entendimento dos mecanismos da RA e novas terapias combinadas devem, em teoria, cobrir uma gama mais ampla de vias inflamatórias e sintomas sistêmicos. Os alérgicos frequentemente compram medicações sem receita nas farmácias e nem sempre estão satisfeitos com o tratamento que lhes é oferecido. Os médicos e profissionais da saúde em geral devem trabalhar mais na comunicação com os pacientes alérgicos, atentando às suas necessidades, medo de efeitos colaterais de medicações, preocupações quanto aos sintomas de alergia e como estes interferem na qualidade de vida. Nesse sentido, novas terapias são necessárias. A Fotobiomodulação (FBM), emerge como uma terapia em doenças respiratórias, devido a seus efeitos promissores em doenças com caráter inflamatório. Quanto a aplicabilidade da FBM, podemos encontrar os tratamentos locais (pulmão, traqueia, narina e outros) caracterizado como FBM Local (FBML) e os tratamentos sistêmicos aplicados em uma artéria caracterizado como Fotobiomodulação Vascular (FBMV). Sendo a RA uma doença respiratória com sintomas locais e sistêmicos, esse estudo tem como proposta investigar e comparar o papel da FBMV aplicada na artéria caudal (efeitos sistêmicos) e FBML aplicada na narina (efeito local) sob o percurso da RA em estudo experimental, que serão descritas a seguir.

1.4 Caracterização da Fotobiomodulação

A FBM pode ser definida como uma terapia baseada na entrega de fótons, através de fontes ópticas, sobre células ou tecidos biológicos a qual promove efeitos fotofísicos e fotoquímicos. Hoje é apontada como uma ferramenta em diversas modalidades de tratamento na equipe multidisciplinar. É uma terapia não invasiva, amplamente utilizada no controle das mais diversas afecções e em diversas áreas da saúde por profissionais capacitados nas suas áreas de expertise. Seu efeito tanto pode bioestimular como bioinibir dependendo do tecido alvo e dos parâmetros dosimétricos como comprimento de onda, tempo de exposição, potência, irradiância, energia entre outros.³¹

Na FBM encontramos dois tipos de fontes ópticas que são frequentemente utilizadas: *Light Emitting Diode* (LED) e *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (LASER). Dentre os diferentes tipos de luzes que são usadas na FBM, a luz de LED, fonte utilizada nesse estudo, merece atenção já que a emissão de luz é monocromática, não coerente e não colimada e é bem usada na terapia de diversas doenças de caráter inflamatório. A luz de LED tem se mostrado eficiente e possibilitou uma alternativa eficaz a luz LASER, uma vez que pode ser produzida através de múltiplos arranjos em forma de cluster, abrangendo desta forma, áreas maiores e com mais potência. Estudos

mostram que a FBM com luz LED em baixa intensidade atua sobre as células interferindo na sua permeabilidade, atuando nas mitocôndrias, na síntese de ATP e em proteínas como colágeno e elastina. Age ainda como antimicrobiano, anti-inflamatório e antioxidante. As vantagens dos LED é facilidade de uso doméstico, capacidade de irradiar uma grande área de tecido de uma vez, possibilidade de dispositivos vestíveis e custo muito mais baixo por mW.^{32, 33}

Alguns estudos, inclusive do nosso grupo de pesquisas, sugerem que o tratamento com LED em determinadas doenças respiratórias reduziu o influxo de neutrófilos induzido por LPS, diminuiu os níveis de IL-1 β , TNF- α , IL-17 A e aumentou os níveis de IFN-gama no fluido do Lavado Broncoalveolar (LBA). Além disso, o tratamento com LED pode aumentar os níveis de RNAm de IL-10 e IFN-gama, reduzir parcialmente o *burst* oxidativo elevado e contribuir para a menor migração de neutrófilos. Assim esses dados mostram, pela primeira vez, o efeito benéfico do tratamento com LED sobre a SDR (Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo) induzida por sepse. Observa-se redução do infiltrado celular nos pulmões, muco, edema e da resposta contrátil da traqueia após tratamento com LED local. Tais efeitos foram modulados por IL-10, IFN-gama e por mastócitos. Ainda, com o modelo experimental de fibrose pulmonar, alguns estudos realizados recentemente, mostrou que a FBM com LED melhora os parâmetros inflamatórios e fibróticos apresentando-se como uma terapia promissora com baixo custo e ausente de efeitos colaterais. Também foi demonstrado que o tratamento com LED reduziu significativamente o número de células inflamatórias no espaço alveolar, produção de colágeno, espessamento intersticial e elastância pulmonar estática e dinâmica. Além disso, observamos níveis reduzidos de IL-6 e CXCL1/KC liberados por pneumócitos em cultura.^{33,34,35, 36, 37,38}

Apesar de a luz LED, ainda ser pouco estudada quando comparada com o LASER, nosso grupo de estudo, orientado e coordenado pela Prof^a. Dra. Adriana Lino dos Santos Franco no Programa de Pós- Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde na Universidade Nove de Julho, tem obtido resultados promissores, alguns citados acima, nas doenças respiratórias em estudos experimentais com o uso da fonte ótica LED caracterizada com FBM, termo esse utilizado no estudo tanto com entrega no Local (FBML) como também iniciamos pesquisas sobre os efeitos sistêmicos na FBM Vascular (FBMV), que será descrita abaixo e foco desse estudo.

1.5 Caracterização da Fotobiomodulação Vascular

A FBM entregue em uma artéria, com efeitos sistêmicos no organismo, é um recurso utilizado em doenças respiratórias e que pode se apresentar com intervenções Intravenosa ou Transcutânea. Muitas são as terminologias encontradas na literatura para essas terapias, que consiste na aplicação

de luz contínua em região arterial e evidência ser um inovador arsenal terapêutico no tratamento de diversas doenças crônicas, incluindo as respiratórias por sua modulação de processos inflamatórios e estresse oxidativo favorecendo a qualidade de vida dos pacientes. Os estudos iniciais apresentavam a técnica de maneira invasiva, com inserção de um cateter Intravascular em uma artéria e hoje a aplicabilidade pode ser realizada de maneira não invasiva sobre a epiderme. É importante discorrer sobre cada uma delas, original e atual para melhor elucidação do trabalho que tem como objetivo comparar essa modalidade com a aplicação local.

Na sua forma original, a FBM com efeitos sistêmicos no organismo foi chamada de ILIB que significa Irradiação do Sangue Intravascular com Laser traduzido do inglês *Intravascular Laser Irradiation of Blood*. Inicialmente foi realizada com LASER de He-Ne e desenvolvida pelos russos a partir de 1970, a qual mostrou a sua eficácia no tratamento de várias patologias crônicas e agudas. A técnica era realizada introduzindo um cateter intravenoso em um dos membros superiores, geralmente na artéria radial, acoplado a uma fibra óptica que irradiava o sangue com LASER/ He-Ne, no comprimento de onda 630nm (Vermelho), para o tratamento de várias doenças. Aplicados de forma direta e contínua no local com distribuição do sangue irradiado, através da circulação, por todo o organismo. Preconizava-se 10 sessões iniciais, com irradiação de 20-60 minutos e de acordo com a evolução do quadro clínico. Após intervalo de 7 a 10 dias, iniciava-se uma nova série.³⁹

A partir da observação de estudos experimentais com FBM local (em cima do pulmão, traqueia e outros) e também de estudos clínicos tratados com método ILIB, pesquisas sobre o mecanismo envolvido foram intensificadas e evidencia o efeito antioxidante da laserterapia intravenosa com He-Ne, por aumento da produção da enzima Superóxido Dismutase (SOD) fundamental à quebra do mecanismo de formação de Espécies Reativas derivadas do Oxigênio (EROs). A SOD protege os seres aeróbios contra toxicidade do radical superóxido promovendo um efeito neutralizante. Portanto, sugere-se que ILIB é um método que auxilia no cenário de combate ao estresse oxidativo por produzir uma alteração no potencial redox celular. A modulação do estado redox celular pode ativar ou inibir diversas vias de sinalização tais como síntese de ácidos nucleicos, síntese proteica, ativação enzimática e progressão do ciclo celular.^{40, 41,42,43,44, 45}

Porém, o método ILIB apresentava-se limitado devido ser uma terapia invasiva em modelos experimentais e clínicos restringindo sua aplicação. Atualmente a técnica se apresenta modificada, ou seja, método não-invasivo e relativamente simples de irradiação transcutânea no comprimento de onda 630nm (Vermelho) de baixa intensidade na artéria radial. Estudos recentes sugerem que é possível alcançar um efeito semelhante ao da técnica original, sem manipulações intravenosas, portanto não invasivo.^{45, 46, 47,48}

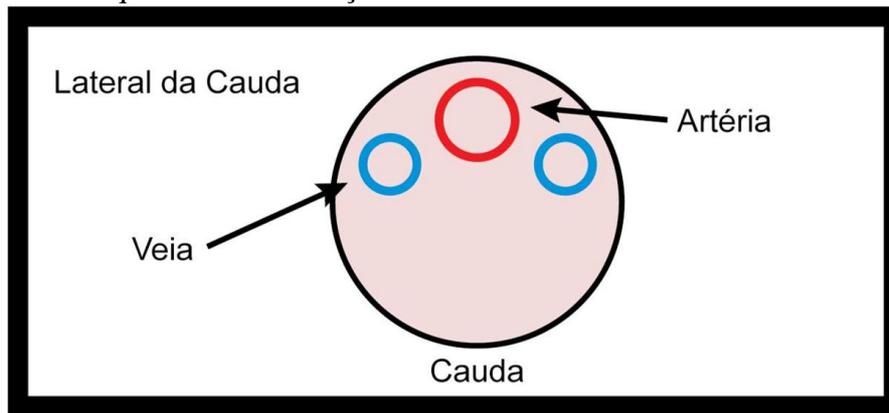
Atualmente, diferentes termos têm sido usados para designar a irradiação de um vaso específico de maneira não invasiva para obter benefícios sistêmicos para o paciente. O termo PBM sistêmico pode sugerir irradiação de corpo inteiro, como usado em protocolos de condicionamento do câncer. No entanto, este não é o caso. Além disso, o termo ILIB também foi aplicado para irradiação intravascular com fontes de laser de baixo nível que são fornecidas através de um cateter. Assim, derivações do termo para acomodar a descrição de procedimentos não invasivos, como ILIB modificado, novo ILIB, ou Fotobiomodulação Sistêmica, têm sido usados, induzindo a interpretações equivocadas. O artigo, publicado pela equipe da Biofotônica Aplicada a Ciências da Saúde da Universidade Nove de Julho, estabeleceu uma nomenclatura mais específica para procedimentos não invasivos que são projetados para irradiar células do sangue e direcionado em um vaso para obter efeitos sistêmicos. A terminologia Fotobiomodulação Vascular (FBMV) parece ser o mais adequado e será adotado nesse estudo para abranger diferentes fontes de luz e diversos sítios anatômicos, ou seja, artérias transmucosas ou transcutâneas, radiais ou sublinguais, etc.⁴⁹

1.6 Caracterização da Fotobiomodulação Vascular em Estudos Experimentais

No decorrer das buscas em bases de dados importantes, encontramos alguns estudos em modelos experimentais nas doenças respiratórias, nenhum em RA, com FBML e FBMV, foco desse estudo, que trouxeram evidências científicas para nortear os experimentos, porém dosimetrias, mensurações e resultados na sua maioria pouco esclarecidos ou mesmo ausentes e citamos apenas os mais relevantes para elaborar esse estudo que será a comparação dos efeitos da FBMV com FBML na RA.

Quanto aos estudos experimentais ILIB e FBMV, no que diz respeito da localização da aplicabilidade da técnica, a artéria caudal de ratos Wistar no terço terminal da cauda de ratos é recomendado para a aplicação, devido ser realizado nesse local a punção de vasos sanguíneos uma vez que, as artérias e veias são mais proeminentes nesta região e diminuem em direção à ponta da cauda. Além dos vasos sanguíneos comumente conhecidos (uma artéria ventral, duas veias laterais), há uma veia dorsal na cauda do rato, considerada adequada para punção e canulação, conforme demonstrado na Figura 3.^{45, 46, 47, 48, 50}

Figura 3: Esquema de localização anatômica de vasos em cauda de roedores



Fonte: STASZYK, C., et al. 2003.⁵⁰

Na literatura os estudos em modelo experimentais com ILIB e FBMV, na sua maioria com a utilização com aparelhos de LASER, porém em doenças variadas. Segue a descrição dos mesmos que são de suma importância para condução, elaboração e modelo desse estudo baseado em evidências científicas e referidos no Quadro 3.

Tsukerman Ia, Iaremenko KV, Ibragimova SG. (1988) relata o efeito da radiação sanguínea intravenosa pelo laser de baixa intensidade no crescimento tumoral em ratos Wistar com linfossarcoma de Pliss foi estudado. Como resultado da radiação sanguínea simples ou dupla do laser com comprimento de onda de 510 e 633 nm, foram demonstradas a inibição do crescimento do tumor e o desaparecimento das metástases.⁴⁶

Salientamos, que um dos estudos orientadores para a elaboração do presente projeto em modelo experimental com FBMV, devido a informações mais robustas sobre os materiais e métodos utilizados, foi realizado por Tomimura et al (2014), cujas análises foram focadas nas ações de curto prazo (apenas três aplicações) sobre a pressão arterial sistêmica em ratos Wistar obesos e velhos. Os resultados indicaram que a intervenção foi capaz de reduzir significativamente os níveis pressóricos revelando proteção cardiovascular. Neste protocolo foram realizadas três aplicações semanais de FBM Sistêmica Transcutânea artéria caudal dos ratos em dias alternados, durante 7 semanas, correspondendo o total de 21 aplicações. No grupo Sham, o mesmo protocolo foi implementado, no entanto, o equipamento foi desligado. O laser de diodo (MMOptics) foi aplicada por via transcutânea na cauda dos ratos, tal como demonstrado nas figuras 1 e 2, com os seguintes parâmetros: comprimento de onda (λ) = 780 nm, densidade de energia = 30 J/cm², potência = 40 mW, irradiância = 1W/cm², tempo de aplicação= 90 segundos.⁴⁵

Destacamos aqui o estudo que foi norteador para esse trabalho, realizado pelo nosso grupo, onde a PBMV é aplicada na Lesão Aguda pulmonar (LAP) com LED no comprimento de onda 660 nm; potência 100 mW; densidade de energia 5 J/cm²; energia total 15 J; tempo 150 s para a gestão

dos parâmetros inflamatórios desta doença. Para tanto, 54 ratos Wistar machos foram submetidos à LAP por injeção de LPS (IP) e tratados ou não com PBMV na artéria caudal na 2h e 6 h após a injeção de LPS. Nossos resultados apontam para os efeitos benéficos do PBMV na LPA induzida por LPS, pois reduziu o número de neutrófilos recrutados para o lavado broncoalveolar, atividade da mieloperoxidase e reduziu as interleucinas (IL) 1 β , IL-6 e IL-17 no pulmão. Mesmo considerando os resultados promissores, destacamos a importância de novos estudos para o entendimento dos mecanismos envolvidos, e principalmente da dosimetria, para que em breve possamos aplicar esse conhecimento na prática clínica na gestão dos parâmetros inflamatórios desta doença.⁴⁸

Segue em forma de quadro os achados científicos acima citados:

Quadro 3: Artigos com o uso de FBM Intravenosa/ ILIB e FBMV em modelo experimental

AUTOR	DOENÇA/ TIPO ESTUDO	TÉCNICA	PARÂMETROS	MENSURAÇÃO	RESULTADOS
Tsukerman Ia, Iarenenko K.V, Ibragimova S.G. (1988)	- Linfossarcoma de Pliss / ratos Wistar - Estudo experimental	- FBM Intravascular (ILIB).	- Comprimento de onda de 510 e 633nm.		- Inibição do crescimento do tumor e o desaparecimento das metástases.
Tominura et al (2014)	- Pressão arterial sistêmica - Estudo experimental	- FBMV	- LASER/ Diodo (MMOptics) - Comprimento de onda: 780nm - Densidade de energia: 30 J/cm ² - Potência: 40 mW - Irradiância: 1W / cm ² - Tempo: aplicação total 90 segundos - 7 semanas (21 aplicações)		- Redução níveis pressóricos.
da Silva JGF et al (2020)	- Lesão Aguda pulmonar (LAP) - Estudo experimental	- FBMV	- LED - Comprimento de onda: 660nm - Potência 100 mW - Densidade de energia: 5 J/cm ² - Energia total: 15 J - Tempo: 150s - Aplicação: 2h e 6 h após a injeção de LPS na artéria caudal	- Lavado bronco alveolar (LBA)	- Reduziu o número de neutrófilos recrutados para o LBA - Reduziu as interleucinas 1 β , IL-6 e IL-17 no pulmão

1.7 Caracterização da Fotobiomodulação Intravenosa/ ILIB e Fotobiomodulação Vascular em Doenças Respiratórias

Na literatura encontramos uma quantidade maior de estudos clínico com FBM, a maioria com aparelhos de LASER, no que se diz respeito a doenças respiratórias com ILIB ou FBMV, lembrem que a terminologia adotada pelos autores pode ser diversas, mas adotamos a FBM, que representa também o aparelho de LED e FBMV para o tratamento sistêmico. Segue a descrição de alguns e a elaboração do Quadro 4 que também auxiliou para condução desse estudo principalmente no que diz respeito a FBMV.

Ivaniuta, Dziublik e Skopichenko (1991) relatou os resultados do tratamento combinado de 100 pacientes com bronquite obstrutiva crônica. A irradiação sanguínea por laser intravascular teve um efeito favorável no curso clínico da doença, parâmetros normalizados de peroxidação lipídica, produziu uma ação estimulante imune e anti-inflamatória acentuada, controlou o sistema de coagulação sanguínea e melhorou as propriedades reológicas do sangue. A irradiação intravascular a laser de sangue incluída no complexo de medidas terapêuticas aumentou a eficiência da terapia em pacientes com bronquite obstrutiva crônica em $12,0 \pm 2,6\%$.⁵¹

Prokopova (1992) estudou o efeito da irradiação sanguínea intravascular com laser de hélio-neon em 20 crianças com pneumonia destrutiva bilateral na dose de $10-30 \text{ J/cm}^2$ para um curso de tratamento sobre índices de hemostasia e propriedades reológicas do sangue. Revelou-se diminuição da viscosidade do sangue, efeito hipocoagulativo da terapia com laser intravascular.⁵²

Marchuk e Kuzmich (1993) inseriu a irradiação intravascular a laser do sangue (ILIB) no complexo de preparação pré-operatória foi empregada em 53 pacientes com doença pulmonar crônica. Após a realização de 5 procedimentos de ILIB em pacientes, observou-se uma normalização mais rápida dos índices de composição morfológica dos gases e estado ácido-base do sangue, status imunológico do organismo, funções da respiração externa em comparação com um grupo controle. A incidência de complicações pós-operatórias reduziu em 4%, a duração da internação foi reduzida em 8,1 dias.⁵³

Mikhailov, Aleksandrova e Gol'dina (1998), em um estudo clínico, observaram que a terapia com LASER de baixa intensidade, aumentou a complacência pulmonar e a eficiência de trocas gasosas em pacientes asmáticos. Apesar de a terapia medicamentosa ainda ser muito usada e necessária, a terapia com ILIB, mostrou-se útil em condições de hipercapnia, hipóxia e disfunção de trocas gasosas.⁵⁴

Ananchenko, Khanin, Gostishcheva (1999) realizou uma avaliação clínico-citológica da eficácia do tratamento combinado de Bronquite Obstrutiva Crônica (BOC) na exacerbação com

aplicação de radiação laser no sangue. O tratamento combinado com o uso de radiação intravenosa e transcutânea de sangue de He-Ne foi administrado a 32 pacientes com BOC, 27 pacientes com BOC tratados sem irradiação sanguínea serviram de controle. A idade média dos pacientes (39 homens e 20 mulheres) foi de $59 \pm 9,5$ anos. Além dos métodos convencionais de exame e controle do efeito do tratamento, foram feitos testes citológicos e bacteriológicos dos esfregaços de precipitado de LBA. O tratamento combinado da BOC com o uso de radiação laser no sangue tem ação anti-inflamatória, promove a normalização do transporte mucociliar, ativação da fagocitose e defesa imunológica, limpeza da árvore brônquica, redução da obstrução (pelo VEF por 1segundo), manejo eficaz das exacerbações. A internação hospitalar diminuiu em 3-4 dias. A irradiação sanguínea tem vantagens como método não invasivo.⁵⁵

Ledin et al (1999) relatou diferentes métodos de uso do laser no pré-operatório e no pós-operatório de abscessos pulmonares crônicos. Durante a preparação pré-operatória os pacientes do grupo, juntamente com o tratamento padrão, receberam a terapia combinada com laser irradiação sanguínea por laser intravenoso (ILIB) por laser He-Ne e transcutânea externa irradiação de laser de Arseneto-Gálio semiconductor. No tratamento pós-operatório com ILIB foram observadas na atividade funcional da Células T e B. O uso do laser suave permitiu melhorar a qualidade e reduzir os prazos da preparação pré-operatória em 1,4 vezes, para nivelar a influência imunossupressora da reduzir o montante das complicações pós-operatórias em 1,8 vezes e direção do pós-operatório período em 1,5 vezes.⁵⁶

Rusakova et al (1999) realizou em 23 adolescentes afetados com tuberculose aguda progressiva receberam o tratamento com ILIB que iniciou 2 a 4 semanas após o início da quimioterapia. A evidência do tratamento foi avaliada por critérios clínicos e laboratoriais obtidos após 1,5 a 2 meses aumentou o efeito terapêutico e estimulou a cicatrização da doença e possibilitou a realização de um curso silencioso de tuberculose com alterações menos pronunciadas nos pulmões.⁵⁷

Gasparyan e Armênia (2003) em seu artigo sobre a irradiação do sangue por LASER Intravenoso e Transcutâneo, a qual citamos devido ser um estudo importante e menciona resultados em doenças inflamatórias as quais doenças respiratórias se enquadram, mencionaram os parâmetros que utilizaram do procedimento da seguinte forma: potência de saída no final do guia de luz inserido em uma veia de 1 até 3mW, exposição 20 - 60 minutos. Os procedimentos foram conduzidos em uma base diária, de três a dez sessões em um curso de terapia. Como resultados, citaram que o LASER tem ações analgésicas, antialérgicas, vasodilatadoras, antiarrítmicas, antibacterianas, anti-inflamatórias, dentre outras. Ainda neste estudo mencionaram o uso da técnica extracorpórea e

especularam que a eficácia da irradiação extracorpórea de sangue He-Ne com 20 mW pode ser igual à irradiação intravenosa de sangue por via LASER He-Ne de 1mW.⁵⁸

Burduli e Aksenova (2006) tiveram como objetivo avaliar em seu estudo os efeitos da irradiação intravenosa do LASER (ILIB) no sistema hemodinâmico de pacientes com exacerbação de bronquite obstrutiva crônica, e obtiveram como resultados que a administração de terapia medicamentosa com a associação do LASER demonstrou maior eficácia e que a própria irradiação do LASER obteve um efeito positivo ao mudar a hemodinâmica hipercinética para normocinética. A terapia consistiu em 10 procedimentos de 20 minutos cada, porém não explica os parâmetros de maneira clara.⁵⁹

Farkhutdinov (2007) em seu estudo investigou a ação da irradiação sanguínea a laser intravascular (ILBI) na produção de Formas Ativas de Oxigênio (FAO) em pacientes com Asma Brônquica (AB). O estudo incluiu 59 pacientes com AB de 20 a 60 anos (idade média de $40,2 \pm 3,1$ anos). A geração de AOF no sangue total foi registrada com quimioluminescência dependente de luminol (CL). A terapia básica foi administrada a 42 pacientes. O ILBI foi adicionado à terapia básica em 17 pacientes. A CL do sangue total em pacientes com AB dependia da gravidade da inflamação. Os pacientes com AB com CL intenso exposto ao ILBI mantiveram os defeitos de oxidação dos radicais livres e os sintomas da doença. Em baixa intensidade de CL no sangue, o ILBI ativou a geração FAO e aumentou a eficácia do tratamento. Sendo assim o estudo concluiu que o ILBI aumenta a produção de FAO no sangue total de pacientes com AB. O registro de CL pode ser usado para validação da administração de ILBI em pacientes com AB e controle da eficácia da terapia a laser.⁶⁰

Sarycheva et al (2009) analisou a morfometria e a mobilidade eletroforética dos glóbulos vermelhos de pacientes com asma dependente de infecção, comparando antes e após o tratamento os pacientes submetidos à irradiação sanguínea a laser por via intravenosa (ILIB), além da terapia convencional. Os pacientes submetidos ao ILIB apresentaram melhores parâmetros morfofuncionais dos glóbulos vermelhos, restaurando suas formas normais, diminuindo as de transição e aumentando a mobilidade eletroforética para valores normais. Aqueles que receberam terapia medicamentosa tradicional não apresentaram alterações morfofuncionais consideráveis dos eritrócitos. Assim, em pacientes asmáticos, as alterações na morfologia e na função dos glóbulos vermelhos podem sugerir suas alterações estruturais membranosas para cuja correção o ILIB deve ser utilizado.⁶¹

Mikhaylov (2009) nesse artigo de revisão rastreia o desenvolvimento da ILIB, examina os dispositivos e comprimentos de onda usados e categoriza as aplicações clínicas. Com base nos dados disponíveis, podemos concluir que o ILIB melhora as propriedades reológicas do sangue irradiado, estimulando assim as células sanguíneas e teciduais e melhorando o sistema autoimune. O ILIB

oferece alta eficácia, períodos mais curtos de tratamento e maior latência do tratamento inclusive em doenças pulmonares e quando usado em terapia combinada, melhora a eficácia e os resultados de outras terapias.⁶²

Kashankaia e Fedorov (2009) investigaram o uso do LASER na técnica ILIB em pacientes com bronquite obstrutiva crônica. Patologia que é caracterizada por sérios distúrbios no sistema cardiorrespiratório, onde se manifesta um moderado enfisema pulmonar e hipertensão pulmonar associada a um comprometimento da resistência geral. Como resultado do estudo, a aplicação de radiação LASER de baixa intensidade em combinação com outras modalidades terapêuticas acelerou a eliminação dos sintomas clínicos, aumentou a eficácia, promoveu a função de drenagem dos brônquios e facilitou a normalização do estado imunológico do paciente.⁶³

Conceição (2017) relata resultados semelhantes com a utilização da irradiação do LASER He-Ne, porém não elucida os parâmetros, relatando apenas os benefícios da terapia em algumas patologias, como uma compilação dos resultados obtidos em anos de uso da técnica. Descreve o efeito antioxidante através da estimulação da enzima SOD; enzima esta que protege os seres aeróbios contra a reatividade e a toxicidade do radical superóxido, como já descrito anteriormente. Ainda relata a ação do ILIB na asma. Explica que o pulmão é alvo da ação dos RL e que o paciente apresenta como quadro asmático a dispnéia, em virtude do edema, da diminuição da elasticidade e da broncoconstrição. Descreve o edema como resultado da presença de derivados da cascata do ácido aracdônico, sobretudo de prostaglandinas e leucotrienos; a diminuição da elasticidade pela ação do radical livre superóxido, que inibindo a enzima ALFA 1 antitripsina, deixa livre a elastase (enzima que degrada a elastina, responsável pela elasticidade pulmonar) e a broncoconstrição como sendo causada pela liberação de histamina (presente nos mastócitos) e pelo tromboxano que é um derivado da cascata do ácido aracdônico. Explica o mecanismo de ação do ILIB, descrevendo a ocorrência de reações bioquímicas que fornecem energia à enzima SOD, que antagoniza os efeitos do radical livre superóxido e bloqueia a formação de prostaglandinas, sobretudo do tipo PG2. Obtendo através deste mecanismo a regressão do edema, o restabelecimento gradativo da elasticidade pulmonar, a estabilidade do mastócito (inibição da liberação de Histamina) e a reversão da broncoconstrição. Menciona que a realização de uma série de aplicações estabiliza a sintomatologia do quadro por um intervalo de até nove meses com melhora importante da qualidade de vida e ainda relata a possibilidade da suspensão da medicação convencional.⁶⁴

Polyakov, Kornikova e Demikhova (2017) relata que o ILIB aplicado em pacientes com tuberculose pulmonar nos estágios iniciais da quimioterapia e observou que aumenta a eficácia do tratamento, contribuindo com a cessação da excreção bacteriana e redução do tempo de internação por 1,5 a 2,5 meses. A melhora da imunidade é realizada pela melhora da microcirculação sanguínea,

ação vasodilatadora e analgésica, função do transporte de oxigênio no sangue, normalização dos processos metabólicos (proteínas, lipídios, carboidratos, balanço energético intracelular) bem como dos processos regenerativos. ⁶⁵

Recentemente diante da pandemia do COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*), estudos sugerem atuação da FBM tanto Local como a Vascular numa possível atenuação da tempestade de citocinas em vários níveis e redução dos principais metabólitos inflamatórios para tratamento médico em pacientes com COVID-19. A FBM combinada com terapia médica convencional tem o potencial de prevenir a progressão da patologia, minimizando o tempo necessário com ventilação, melhora no processo de cicatrização e menor tempo de recuperação. Vale considerar esse estudo com FBML, realizado por Vetrici et al em 2021 avaliou o efeito do PBML adjuvante na pneumonia COVID-19 e no estado clínico do paciente. Eles apresentaram um ensaio clínico em pequena escala com 10 pacientes randomizados para atendimento médico padrão ou atendimento médico padrão mais PBMT adjuvante. O grupo PBMT recebeu quatro sessões diárias de tratamento de luz infravermelha próxima ao tecido pulmonar por meio de um laser Multiwave Locked System (MLS). Os resultados dos pacientes foram medidos por meio de exames de sangue, radiografias de tórax, oximetria de pulso e ferramentas de pontuação validadas para pneumonia. Os pacientes com PBMT apresentaram melhora nos índices pulmonares em questionário de pneumonia adquirida na comunidade. Os pacientes tratados com FBML apresentaram recuperação rápida, não necessitaram de admissão na UTI ou ventilação mecânica e não relataram sequelas em longo prazo 5 meses após o tratamento. No grupo controle, 60% dos pacientes foram admitidos na UTI para ventilação mecânica. O grupo controle teve uma mortalidade geral de 40%. Em um acompanhamento de 5 meses, 40% do grupo controle apresentou sequelas de longo prazo. ^{66, 67, 68}

Os estudos referidos acima, estão citados no Quadro 3 e 4, supõe-se que a eficácia da irradiação transcutânea seja igual à irradiação intravenosa de sangue em estudos clínicos, os quais podemos ter como base para estudos experimentais, em doenças respiratórias no que se diz respeito a respostas na resolução dos mecanismos inflamatórios e da presença espécies reativas de oxigênio, portanto poderá fornecer subsídios para propor alternativas terapêuticas para o tratamento da RA.

Segue em forma de quadro os achados científicos acima citados:

Quadro 4: Artigos com uso de FBM Intravenosa/ ILIB e FBMV em doenças respiratórias

AUTOR	DOENÇA/ TIPO ESTUDO	TÉCNICA	PARÂMETROS	MENSURAÇÃO	RESULTADOS
Ivaniuta, Dziublik e Skopichenk (1991)	- Bronquite obstrutiva crônica - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB)	- Não visualizado	- Não visualizado	- Normalização - peroxidação lipídica; - Ação estimulante imune e anti-inflamatória; - Controle do sistema de coagulação sanguínea e propriedades reológicas do sangue.
Prokopova et al (1992)	- Pneumonia - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB)	- 10/ 30 J/cm ²	- Propriedades reológicas do sangue	- Diminuição da viscosidade do sangue - Efeito hipocoagulativo
Marchuk, Kuzmich (1993)	- Doenças Pulmonares Supurativas Crônicas - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Normalização dos índices de composição morfológica dos gases e estado ácido-base no sangue; - Redução incidência de complicações pós-operatórias em 4%; - Redução de internação hospitalar em 8,1 dias
Mikhailov, Aleksandro e Gol'dina (1998)	- Asma - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Aumento da complacência pulmonar e a eficiência de trocas gasosas em pacientes asmáticos.
Ananchenko Khanin e Gostischeva (1999)	- Bronquite obstrutiva crônica - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB). - FBM Vascular (FBMV)	- Não visualizado	- Testes citológicos e bacteriológicos dos esfregaços de precipitado de LBA.	- Ação anti-inflamatória; - Normalização do transporte mucociliar; - Ativação da fagocitose e defesa imunológica; - Limpeza da árvore brônquica; - Redução da obstrução (pelo VEF por 1 s); - Manejo eficaz das exacerbações.
Ledin et al (1999)	- Abscessos pulmonares crônicos - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB). - FBM Vascular (FBMV)	- Não visualizado	- Não visualizado	- Atividade funcional da Células T e B; - Reduziu complicações pós-operatórias.
Rusakova et al (1999)	- Tuberculose aguda progressiva - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- 2 a 4 semanas após o início da quimioterapia	- Critérios clínicos e laboratoriais	- Estímulo cicatrização da doença; - Curso silencioso de tuberculose.
Gasparyan e Armênia (2003)	- Doenças inflamatórias - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB): 1 mW - FBM Vascular (FBMV)	- Potência: 1 até 3mW - Exposição 20 - 60 minutos - Diária, de três a dez sessões em um curso de terapia	- Não visualizado	- Ações: analgésicas, antialérgicas, vasodilatadoras, antiarrítmicas, antibacterianas, anti-inflamatórias.

Burduli e Aksenova (2006)	- Bronquite obstrutiva crônica - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- 10 procedimentos de 20 minutos	- Não visualizado	- Maior eficácia da terapia medicamentosa com associação do LASER; - Efeito positivo ao mudar a hemodinâmica hiperkinética para normocinética.
Farkhutdino (2007)	- Asma - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Produção de formas ativas de oxigênio na quimioluminescência dependente de luminol	- Aumento da Produção De Formas Ativas de Oxigênio
Sarycheva et al (2009)	- Asma - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Melhora dos parâmetros morfofuncionais dos glóbulos vermelhos
Mikhaylov (2009)	- Doenças Pulmonares - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Melhora as propriedades reológicas do sangue.
Kashankaia e Fedorov (2009)	- Bronquite obstrutiva crônica - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Acelerou a eliminação: sintomas clínicos, promoveu a função de drenagem dos brônquios e facilitou a normalização do estado imunológico do paciente.
Conceição (2017)	- Asma - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Efeito antioxidante através da estimulação da enzima SOD.
Polyakov, Kornikova e Demikhova (2017)	- Tuberculose pulmonar - Estudo Clínico	- FBM Intravascular (ILIB).	- Não visualizado	- Não visualizado	- Aumento da imunidade devido a melhora da microcirculação sanguínea; - Ação vasodilatadora e analgésica; - Melhora na função do transporte de oxigênio no sangue; - Normalização dos processos metabólicos (proteínas, lipídios, carboidratos, balanço energético intracelular).

Portanto com todas essas observações, quantos aos dos estudos experimentais e clínicos com FBML, ILIB e FBMV em doenças respiratórias entendemos que as duas técnicas sugerem resultados importantes no controle da cascata inflamatória das mesmas, porém não se tem relatos de comparação dos resultados FBML e FBMV e isso despertou nosso interesse. Com todas essas informações relevantes do uso da FBM em doenças respiratórias, o próximo passo foi uma busca específica quanto a aplicação da FBM na RA, doença respiratória com caráter inflamatório e com importantes sintomas locais e queixas sistêmicas, na fase inicial/ aguda e tardia nos pacientes, que será apresentada a seguir.

1.8 Caracterização da Fotobiomodulação Local na Rinite Alérgica em Estudos Experimentais e Clínicos

Após uma busca, em bases de dados importantes, poucos e somente estudos com a FBML foram encontrados na RA e que serão mencionados adiante. Esses estudos são clínicos e utilizam o termo Fototerapia, todos são aplicados intranasal, somente 2 no comprimento de onda 660nm e muitos com o uso de dispositivos no comprimento de onda com combinação de UV-B (5%), UV-A (25%) e luz visível (70%), denominada mUV/ VIS, esses em particular não estão no escopo de nossas pesquisas, porém vale para nortear nossa pesquisa principalmente pelos resultados no que diz respeito a resolução de alguns sintomas da RA.

Sabe-se que na RA e polipose nasal as modalidades de tratamento disponíveis têm sucesso limitado e o presente estudo realizado por Neumam et al (1997) deve como objetivo avaliar o efeito terapêutico da fototerapia com luz vermelha de banda estreita de baixa energia nos sintomas clínicos nasais de rinite alérgica e polipose nasal. O estudo prospectivo randomizado duplo-cego, com 50 pacientes com rinite alérgica e 10 com polipose nasal receberam iluminação intranasal a 660nm por 4,4 minutos três vezes ao dia por 14 dias (dose total de 6 Joules por dia). Vinte e nove pacientes riníticos e um paciente com polipose receberam iluminação simulada equivalente ao placebo. A avaliação foi baseada em escores de sintomas e uma avaliação clínica que incluiu nasoendoscopia rígida e flexível gravada em vídeo antes e depois do tratamento. Após o tratamento, a melhora dos sintomas foi relatada por 72% dos pacientes com rinite alérgica e a melhora objetiva foi demonstrada endoscopicamente em 70% deles, em comparação com 24% e 3%, respectivamente, no grupo de placebo. Essas diferenças foram significativas. Nenhuma melhora foi obtida em nenhum dos pacientes com polipose. A rinite alérgica, se não complicada por pólipos ou sinusite crônica, pode ser efetivamente tratada por iluminação com luz vermelha de banda estreita da mucosa nasal a 660nm, com acentuado alívio dos sintomas clínicos.⁶⁹

Koreck, et al (2004), apresentou um estudo de fototerapia com combinação de UV-B (5%), UV-A (25%) e luz visível (70%) denominada mUV/ VIS, foi eficaz no tratamento da rinite alérgica. O estudo randomizado, duplo-cego, em 49 pacientes com febre do feno, realizado durante a estação da ambrósia. Cada cavidade intranasal foi iluminada 3 vezes por semana durante 3 semanas com mUV/ VIS ou com luz visível de baixa intensidade. Escores de sintomas, células inflamatórias e seus mediadores foram avaliados em lavagens nasais. Os efeitos in vitro da irradiação mU/ VIS em células T e apoptose de eosinófilos e seu efeito inibitório na liberação de mediador de basófilos foram examinados. A rinofototerapia foi bem tolerada e resultou em uma melhora significativa dos sintomas clínicos para espirros ($P < .016$), rinorreia ($P < .007$), coceira nasal ($P < .014$) e pontuação nasal total

($P < .004$). Nenhuma das pontuações melhorou significativamente no grupo de controle. Os escores de obstrução nasal melhoraram ligeiramente após o tratamento com mUV/ VIS e aumentaram significativamente no grupo de controle ($P < 0,017$). Na lavagem nasal, a fototerapia reduziu significativamente o número de eosinófilos e o nível de proteína catiônica eosinófila e IL-5. A irradiação in vitro de células T e eosinófilos com luz mUV/ VIS induziu apoptose dependente da dose. Além disso, a irradiação mUV/ VIS inibiu a liberação de mediador de basófilos RBL-2H3. Esses resultados sugerem que a fototerapia é uma modalidade eficaz no tratamento da rinite alérgica e oferece novas opções para o tratamento de doenças da mucosa imunomediada.⁷⁰

No estudo de Brehmer, et al (2010), foi avaliado os efeitos da fototerapia nasal com UV na RA. Embora a RA não seja uma ameaça à vida, afeta significativamente a qualidade de vida diária do paciente. As três etapas principais no tratamento da doença são evitar alérgenos, tratamento dos sintomas (em particular, anti-histamínicos e corticosteroides tópicos nasais) e imunoterapia específica. Geralmente, não é possível evitar o alérgeno e o alívio dos sintomas costuma ser limitado, apesar da disponibilidade de várias opções farmacológicas. A imunoterapia específica exige um alto nível de cooperação por parte do paciente por pelo menos 3 anos. A fototerapia endonasal com o dispositivo Rhinolight (Rhinolight Ltd, Szeged, Hungria) para o tratamento da rinite alérgica mediada por imunoglobulina E é uma nova opção que utiliza os efeitos imunossupressores da radiação UV. O método direciona uma combinação de UV-B (5%), UV-A (25%) e luz visível (70%) para a cavidade nasal, e sua eficácia foi demonstrada em um estudo duplo-cego controlado por placebo. Os resultados de estudos adicionais foram apresentados em várias conferências médicas e em resumos. Relatos na literatura confirmam que a fototerapia é um tratamento bem estabelecido e bem-sucedido de dermatite atópica e outras doenças de pele.⁷¹

O uso do termo Fototerapia, foi usado por Cingi et al, (2010) na RA rem um estudo randomizado, simples-cego e controlado por placebo apresentou efeito imunossupressor profundo, utilizando a combinação de UV-A (25%), UV-B (5%) e luz visível (70%) e representa uma alternativa terapêutica em pacientes com RA. Setenta e nove pacientes foram randomizados para receber uma combinação de UV-A (25%), UV-B (5%) e luz visível (70%), no grupo de fototerapia, ou luz visível de baixa intensidade, no grupo de controle. A eficácia do tratamento foi avaliada por meio da pontuação total de sintomas nasais antes do tratamento e 1 mês após o final do tratamento. Os escores nasais totais diminuíram em ambos os grupos, mas a diminuição foi altamente significativa no grupo de tratamento ativo quando comparado com o placebo ($p < 0,001$). Este estudo demonstra que a fototerapia pode ser uma modalidade eficaz no tratamento da rinite alérgica, principalmente nos casos em que os fármacos de uso comum são contraindicados e/ou têm eficácia insuficiente.⁷²

Jiang et al, (2018), realizou um estudo que além de ser mais atual e com informações esclarecidas sob parâmetros dosimétricos, mensuração e resultados o efeito da Rinofototerapia (RLRPT), que também pode ser chamada de FBML, com luz vermelha nasal em pacientes com diagnóstico clínico de rinite alérgica e investigou seus efeitos. O dispositivo usado para RLRPT foi o instrumento a laser Transverse Many Channels (Transverse, Ind, Co., Ltd., Taipei, Taiwan). O aparelho é um laser vermelho de Arseneto de Gálio-Alumínio com comprimentos de onda de $660 \pm 10\text{nm}$ como fonte de luz. O laser tem uma potência máxima de 40 mW. O dispositivo consiste em uma caixa de controle e 4 conjuntos de duas sondas nasais emissoras de luz. Antes do tratamento, cada paciente colocou um par de óculos escuros e teve as sondas nasais colocadas suavemente em ambas as narinas. Um botão liga/ desliga na caixa de controle ativou a sonda e o cronômetro foi ajustado para 15 minutos, durante os quais 36J de energia luminosa foi entregue a cada narina. Os indivíduos foram divididos aleatoriamente em 2 grupos, com os pacientes em um grupo recebendo uma sessão de tratamento de Rinofototerapia, seguida por tratamento médico. Os do segundo grupo foram tratados apenas com tratamento médico. Os sintomas de rinite foram avaliados antes e 30 minutos após e 2 dias depois. O desconforto nasal foi medido objetivamente por meio do uso de rinomanometria anterior ativa e rinometria acústica antes e 30 minutos após RLRPT. Todos os sintomas de rinite, incluindo congestão nasal, melhoraram significativamente 30 minutos após um único tratamento RLRPT, mas pioraram novamente, especialmente por espirros, 2 dias depois. A resistência nasal diminuiu ligeiramente 30 minutos após RLRPT. A primeira área de seção transversal mínima não mudou após RLRPT, mas a segunda área de seção transversal mínima com o volume da cavidade nasal entre 2,0 e 5,0 cm da ponta do porta-objetivas diminuiu significativamente. Este estudo mostrou que RLRPL não melhorou objetivamente o desconforto nasal do paciente.⁷³

No estudo de Bae et al, em modelo experimental (ratos) com LASER intranasal de 5mW de potência, no comprimento de onda de 650nm, energia de 4,5J, por 15 minutos diários, num total de 10 dias, reduziu os sintomas alérgicos, como esfregar nariz e espirrar, e suprimiu os níveis séricos de imunoglobulina E total (IgE), IgE específica de OVA e IgG1 (subdivisão de imunoglobulina G tipo 1) específica de OVA. Ainda, reduziu significativamente a infiltração de eosinófilos da mucosa nasal e dos linfonodos, reduziu a expressão de IL-4 e IL-17 em linfonodo cervical e sobrenadante de cultura de esplenócitos, bem como seus níveis de RNA mensageiro na mucosa nasal. No entanto, a expressão de IFN- γ (interferon gama) e IL-6 não foi afetada. Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) e óxido nítrico (NO) em linfonodos e na mucosa nasal, que estavam aumentados no grupo induzido à RA, diferentes do grupo FBM que estavam reduzidos, sugerindo envolvimento de EROS e NO em seu mecanismo.⁷⁴

Um achado interessante, mesmo não sendo o foco da pesquisa e, portanto, não inserido no quadro, foi a pesquisa clínica realizada por Yildirim et al, que teve como objetivo avaliar o efeito da FBM intranasal na flora microbiana nasal em pacientes com RA. Para o tratamento, cada cavidade intranasal foi irradiada 3 vezes por semana, durante 2 semanas, com tempo de aplicação e exposição radiante crescente (iniciou com 2 min a 1,6 J/cm² na primeira sessão, e alcançou 3 min a 2,4 J/cm², na 6ª sessão). A avaliação se deu através de culturas nasais obtidas das narinas e questionário de sinais de sintomas, antes e após tratamento. O estudo apontou que após a FBM intranasal, as pontuações para o total de sintomas nasais diminuíram significativamente, entretanto, a proliferação bacteriana não foi alterada significativamente. Autores concluem que a FBM intranasal não altera a flora microbiana nasal aeróbica, contudo, é uma modalidade eficaz no tratamento dos sintomas de pacientes com RA.⁷⁵

Segue em forma de quadro os achados científicos acima citados:

Quadro 5: Artigos com uso de FBML na RA

AUTOR	DOENÇA/ TIPO ESTUDO	TÉCNICA	PARÂMETROS	MENSURAÇÃO	RESULTADOS
Neumam, et al. (1997)	- RA - Estudo clínico	- FBML Intranasal	- Aparelho Fototerapia - Comprimento de onda: 660 nm - Tempo: 4,4 minutos três vezes ao dia por 14 dias - Dose total: 6J (por dia).	- Escores de sintomas avaliação clínica nasoendoscopia rígida e flexível gravada em vídeo antes e depois do tratamento.	- Melhora dos sintomas foi relatada por 72% dos pacientes com RA demonstrada endoscopicamente - Nenhuma melhora foi observada pacientes com polipose
Koreck, et al. (2004)	- RA - Estudo clínico	- FBML Intranasal	- Aparelho de Fototerapia mUV / VIS (combinação de UV-B /5%, UV-A /25%) e luz visível/ 70%) 3 vezes por semana durante 3 semanas	- Escores de sintomas - Células inflamatórias e mediadores avaliados em lavagens nasais.	-Melhora significativa dos sintomas clínicos: espirros, rinorreia, coceira nasal - Obstrução nasal melhorou ligeiramente após o tratamento - Reduziu significativamente o número de eosinófilos, nível de proteína catiônica eosinófila e IL-5
Brehmer, et al (2010)	- RA - Estudo clínico	- FBML Intranasal	- Aparelho de Fototerapia Dispositivo Rhinolight Ltd (Szeged, Hungria) - Comprimento onda: UV-B (5%), UV-A (25%) e luz visível (70%)	- Não visualizado	
Cingi, et al. (2010)	- RA - Estudo clínico	- FBML Intranasal	- Aparelho de Fototerapia Comprimento de onda: UV-A (25%), UV-B (5%) e luz visível (70%)	- Não visualizado	- Escores nasais totais diminuíram (pontuação total de sintomas nasais antes do tratamento e 1 mês após o final do tratamento)

Jiang 2018	RA - Estudo clínico	- FBML Intranasal	- LASER RLRPT Transverse Many Channels (Transverse, Ind, Co., Ltd., Taipei, Taiwan). - Comprimento de onda: $660 \pm 10\text{nm}$ - Meio ativo: Arseneto de Gálio-Alumínio - Potência: 40 mW.	- Sintomas de rinite: avaliados antes e 30 minutos após e 2 dias depois. - Desconforto nasal medido rinomanometria anterior ativa e rinometria acústica antes e 30 minutos após RLRPT.	- Todos os sintomas de rinite, incluindo congestão nasal, - melhorara significativa todos os sintomas 30 minutos após um único tratamento RLRPT - Piora, especialmente por espirros, 2 dias depois. - Resistência nasal diminuiu ligeiramente 30 minutos após RLRPT.
Bae et al (2019)	RA - Estudo experimental	- FBML Intranasal	- Potência: 5mW - Comprimento de onda: 650nm - Energia de 4,5J - Tempo: 15 minutos diário - Periodicidade: total de 10 dias	- Não visualizado	- Reduziu os sintomas alérgicos (esfregar nariz e espirrar); - Suprimiu os níveis séricos de imunoglobulina E total (IgE); - Reduziu significativamente a infiltração de eosinófilos da mucosa nasal e dos linfonodos; - Reduziu a expressão de IL-4 e IL-17 em linfonodo cervical e sobrenadante de cultura de esplenócitos, bem como seus níveis de RNA mensageiro na mucosa nasal; - Não afetou a expressão de IFN- γ (interferon gama) e IL-6 - Reduziu os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) e óxido nítrico (NO) em linfonodos e na mucosa nasal.

Acima, no Quadro 6, apresentamos artigos com uso de FBML na RA e encontramos estudos clínicos onde a parametrização e resultados estão bem relatados, inclusive são estudos recentes com o uso somente da FBML na RA com aplicabilidade intranasal. Portanto, não encontramos estudos com a FBMV e muito menos comparação entre as técnicas. Nesse contexto, o estudo proposto seguirá uma linha de observação e orientação quanto aos protocolos apresentados na literatura, utilização de parâmetros já utilizados pelo nosso grupo de pesquisa em modelo experimental, mencionadas acima nas doenças respiratórias com FBML e FBMV, e possíveis adaptações poderão ser necessárias no estudo da RA, na fase inicial e tardia, induzida por Ovalbumina. diante dos resultados encontrados na nossa pesquisa. Acreditamos que a reavaliação das pesquisas é algo importante principalmente em estudos com caráter de ineditismo e isso desperta interesse para novos estudos.

1.9 Justificativa do Estudo

Considerando que a RA é uma doença de carácter inflamatório com alteração no equilíbrio de oxidante e antioxidante, que afeta sistematicamente o paciente e que os tratamentos atuais não se apresentam totalmente efetivos faz necessário buscar novos métodos terapêuticos. Vale ressaltar que a educação realizada por equipe multiprofissional em vários âmbitos ao paciente tem carácter preventivo e essa conduta é de extrema importância para sistema público de saúde.

O uso da FBM em doenças respiratórias com carácter inflamatórios, presença de radicais livres e conseqüentemente comprometimentos sistêmicos se mostra eficaz tanto numa abordagem local quanto sistêmica em estudos experimentais e clínicos. Diante desse contexto, foi despertado o interesse pela nossa equipe de pesquisa em estudar o papel do LED na RA e comparar os resultados da aplicação local com a sistêmica. Há muito a ser explorado principalmente com o uso da FBMV usando o a luz de LED, assim este estudo traz um carácter de ineditismo e tem como objetivo elucidar alterações no comportamento dos marcadores inflamatórios e abrir possibilidades para futuros estudos experimentais e possivelmente clínicos com FBM em doenças respiratórias e em específico na RA.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Tendo em vista que a RA é uma importante doença respiratória e que a FBM é uma ferramenta de tratamento promissora, o presente projeto teve como objetivo avaliar o efeito da técnica com aparelho de LED sobre o desenvolvimento da RA em ratos e comparar aos resultados da FBML com a FBMV.

2.2 Objetivos Específicos

- Contagem de células presentes no tecido nasal e nasofaringe.
- Quantificação de mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-3, IL-4, IL-5, IL-13) e anti-inflamatórios (IL-10, IFN- gama) no tecido nasal.
- PCR em tempo real para determinação da expressão de citocinas no tecido nasal e nasofaringe.
- Determinação da degranulação mastocitária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo trata-se de um estudo experimental, aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de julho, protocolada sob o CEUA nº 3542110419- 2018. (ANEXO I)

3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos provenientes do biotério de criação da Universidade Nove de Julho e serão mantidos no biotério de experimentação da mesma Universidade sob condições controladas de umidade (50%-60%), luminosidade (12h claro/12 h escuro) e temperatura (22°C - 25°C).

3.2 Grupos de Estudo

Usamos em nosso estudo 4 grupos experimentais com o objetivo de avaliar o efeito da Fotobiomodulação Vascular e local sobre a RA. Tivemos então os grupos abaixo:

Grupo Basal (B): consistiu de ratos não manipulados.

Grupo RA: consistiu de ratos submetidos a RA.

Grupo FBML: consistiu de ratos submetidos a RA tratados com FBML na narina.

Grupo FBMV: consistiu de ratos submetidos a RA e tratados sistemicamente pela artéria caudal com FBMV.

3.3 Indução da Rinite Alérgica Experimental

Para elaboração desse projeto, uma vasta pesquisa foi realizada no que diz respeito a indução da RA, a qual tivemos um modelo bem estabelecido na literatura por Yang S. et al 2018. Os ratos foram sensibilizados com 7 injeções intradérmica de 0,3 mg de Ovoalbumina (OVA) acrescida de 30 mg de hidróxido de alumínio como adjuvante dissolvidos em 1 ml de solução salina (do dia 1 ao 13). Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do dia 14 ao 21 (Figura5) através da instilação intranasal diária de 50µl de OVA a 2%. Nos animais do grupo controle foram administrados o mesmo volume de solução salina. Os sintomas e sinais de rinite alérgica foram então provocados através da instilação intranasal de 80µl de OVA a 1% por dia durante 3 dias consecutivos (dia 22 ao 24). Dez minutos após a última instilação de OVA, os animais foram anestesiados com 100 mg/kg de cetamina

e 10 mg/kg de Xilasina (Via Intraperitoneal) e eutanasiados pelo dessangramento da artéria aorta abdominal.⁷⁵

3.4 Tratamento com Fotobiomodulação Vascular e Local

Os ratos foram irradiados com LED, no modo operacional contínuo, com FBML na narina e FBMV na artéria caudal, com os mesmos parâmetros dosimétricos durante 3 dias consecutivos imediatamente após a provocação com OVA 1%.

Quadro 7: Parâmetros Dosimétricos

Potência	100 mW
Área do Feixe	2,8 cm ²
Modo	Contínuo (CW)
Comprimento de onda	660±10nm
Energia	15 J
Densidade de Energia	5,35 J/cm ²
Irradiância	33,3 W/cm ²
Tempo de exposição	150''
Irradiação	Pontual na artéria caudal e narina
Números de Tratamentos	3 dias consecutivos/ 1 vez ao dia

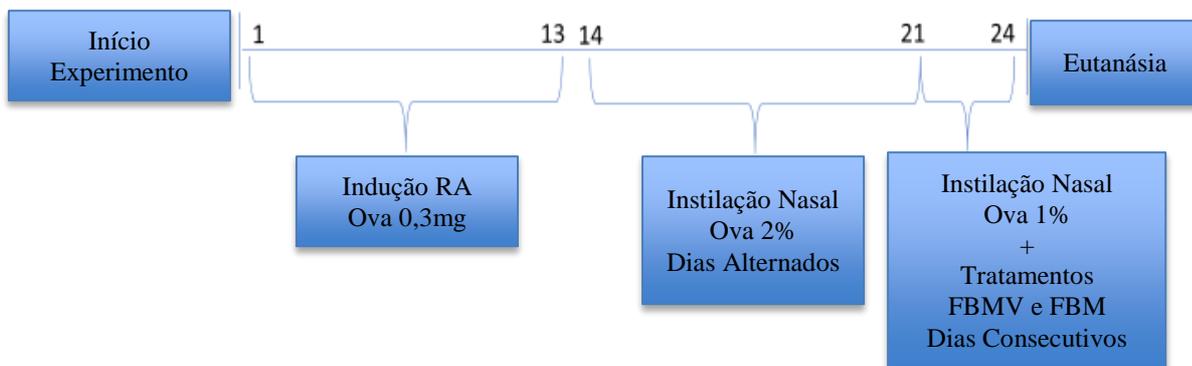
Figura 4: Aparelho de LED marca BioLambda/ S.P.- Br



3.5 Delineamento Experimental

O período total para as experimentações totalizou 24 dias. Do 1º dia ao 13º dia, os ratos foram sensibilizados com 7 injeções Intradérmica de 0,3 mg de Ovoalbumina (OVA) acrescida de 30 mg de hidróxido de alumínio como adjuvante dissolvidos em 1 ml de solução salina em dias alternados. Após a imunização, seguimos para o desafio nasal dividido em duas etapas. A primeira etapa foi no período do 14º dia ao 21º dia com instilação intranasal de 50µl de OVA a 2% em dias alternados uma vez ao dia. A segunda etapa foi no período do 21º dia até o 24º dia, portanto 3 dias com instilação intranasal de 80µl de OVA a 1% diária uma vez ao dia seguidos do tratamento com o aparelho de LED no grupo RA + FBML (narina) e no grupo RA+ FBMV (artéria caudal) consecutivos. Dez minutos após a última instilação de OVA e tratamento, os animais foram anestesiados com 100 mg/kg de Cetamina e 10 mg/kg de Xilasina (ip) e eutanasiados pelo dessangramento da artéria aorta abdominal. ⁷⁶

Figura 5: Delineamento Experimental



3.6 Avaliação da Concentração de Citocinas e Eicosanoides no Homogenato da Narina e Nasofaringe

Os mediadores foram quantificados por ELISA em amostras de tecido nasal. Para tanto, foram utilizados Kits Duo Set disponíveis comercialmente. Os ensaios foram conduzidos de acordo com as normas dos fabricantes. Os tecidos foram coletados e armazenados a -80°C até a análise.

3.7 PCR em Tempo Real para Determinação da Expressão de Citocinas em Tecido Nasal e Nasofaringe

Para realização do PCR em tempo real foram utilizados fragmentos de narina e nasofaringe obtidos dos animais após o delineamento citado acima. Tais fragmentos foram colocados em tubos eppendorfs DNase RNase *free* e mantidos em Trizol até a extração do RNA. Nas amostras foram adicionadas 200 µl de clorofórmio e incubadas por 3 minutos em temperatura ambiente. Esta solução foi centrifugada (12.000g, 15 minutos a 4°C) e o sobrenadante contendo o RNA foi transferido para um novo tubo e adicionado 0,5 ml de isopropanol. Em seguida, esta solução foi incubada por 1 hora e então centrifugada novamente (12.000g, 15 minutos a 4°C). O sobrenadante foi removido cuidadosamente e adicionado 1 ml de etanol 75% e centrifugado (7500g, 5 minutos a 4°C). O sobrenadante foi removido e o pellet ressuscitado em 25 µl de água livre de RNase e DNase. A síntese de cDNA foi feita através de uma reação de transcrição reversa a partir do RNA total purificado. Para cada amostra, foram realizadas soluções contendo 1 µg/ml de RNA total, e 10 µl dessa solução foi adicionada de 1 µl de oligo (dT)₁₂₋₁₈ (50 µM) e 1 µl de água livre de RNase, sendo incubados em seguida por 10 minutos à 70°C. A seguir, foram então adicionados a cada tubo 4 µl de tampão específico para a reação (5X), 1µl de dNTP (10 µM) e 2 µl de DTT (0,1 M) seguindo-se de incubação a 42°C. Foi adicionado 1 µl da enzima SuperScript III (200 U/µl) por tubo, seguindo nova incubação a 42°C por 50 minutos. A reação foi bloqueada por uma incubação por 15 minutos a 70°C. Para a realização do PCR em tempo real foi utilizado o kit Taqman Fast Universal Master Mix, também da Applied Biosystems®. Para tanto, 1µL de cada primer específico para cada citocina e enzima, 4 µL de amostra contendo o cDNA, 5µL de água e juntamente com 10µL de *master mix* Taqman® foram colocados em placas de 96 poços seladas. As placas foram levadas ao termociclador Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System®. Os ensaios foram realizados com primers da taqman para as seguintes moléculas: IL-4 (Rn00561420_m1), IL-5 (Rn01459975_m1), IFN (Rn02395770_g1), IL-10 (Rn00563409_m1) e HPRT (Rn01527838_g1).

3.8 Determinação da Degranulação Mastocitária

Fragmentos de narina foram fixados em 4% de paraformaldeído em tampão fosfato de Sorensen (0,1 M, pH 7,4) a 4 ° C durante 24 horas. A seguir o tecido foi desidratado com solução alcoólica seguido de diafanização por xileno. Os fragmentos foram então embebidos em parafina, seccionados a 5 µm em micrótomo HYRAX M60 e desparafinados. Sequencialmente lâminas (5 mm

de espessura) foram coradas com azul de toluidina para análise de mastócitos. A quantificação foi feita no software Image J.

3.9 Análise Estatística

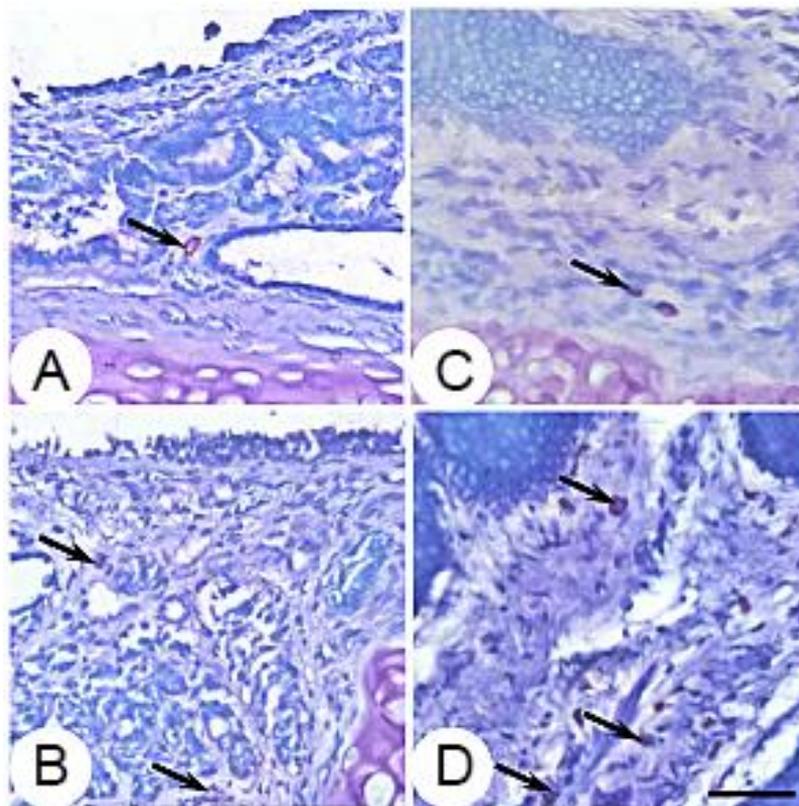
Os dados das amostras foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) seguida de pós-teste Student Newman-Keuls para comparação de todos os pares de colunas. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando GraphPad Software V.2.01, GraphpadInstat-TM (1990-1993). Os resultados foram expressos como média \pm EPM (erro padrão da média). Valores de $\alpha < 0,05$ foram considerados significante.

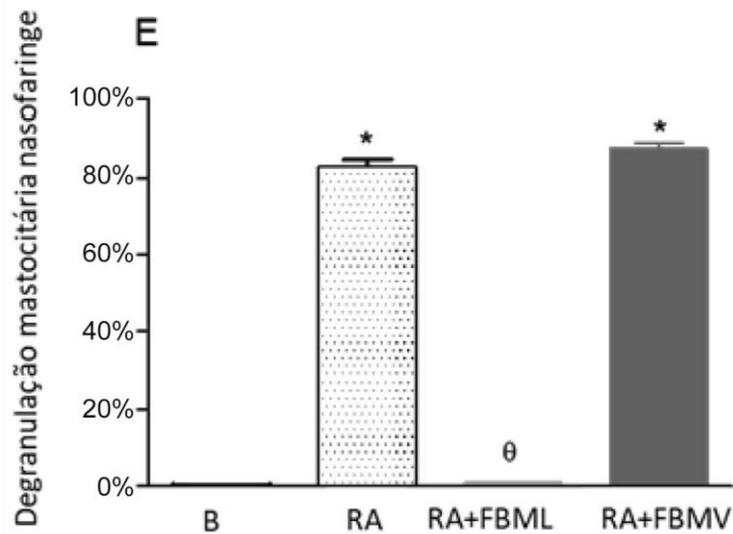
4 RESULTADOS

4.1 FBML, mas não por FBMV, reduz a Degranulação de Mastócitos na Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica

A Figura 6 (Painel A) mostra o grupo basal com mastócitos intactos (seta). No painel B, podemos observar mastócitos degranulados aumentados (seta) após rinite alérgica. Por outro lado, podemos notar a redução da degranulação dos mastócitos (setas) após o FBML (painel C), enquanto o tratamento com FBMV não causou nenhuma alteração (painel D). Cor azul da toluidina. Bar = 50 μ m. No painel E, podemos observar a porcentagem de degranulação dos mastócitos. Nossos resultados mostraram redução da degranulação dos mastócitos no grupo FBML, enquanto não foram observadas diferenças no grupo FBMV em relação ao grupo RA. Além disso, também mostramos aumento da degranulação de mastócitos no RA quando comparado ao grupo Basal (B).

Figura 6: Degranulação de Mastócitos em Nasofaringe.



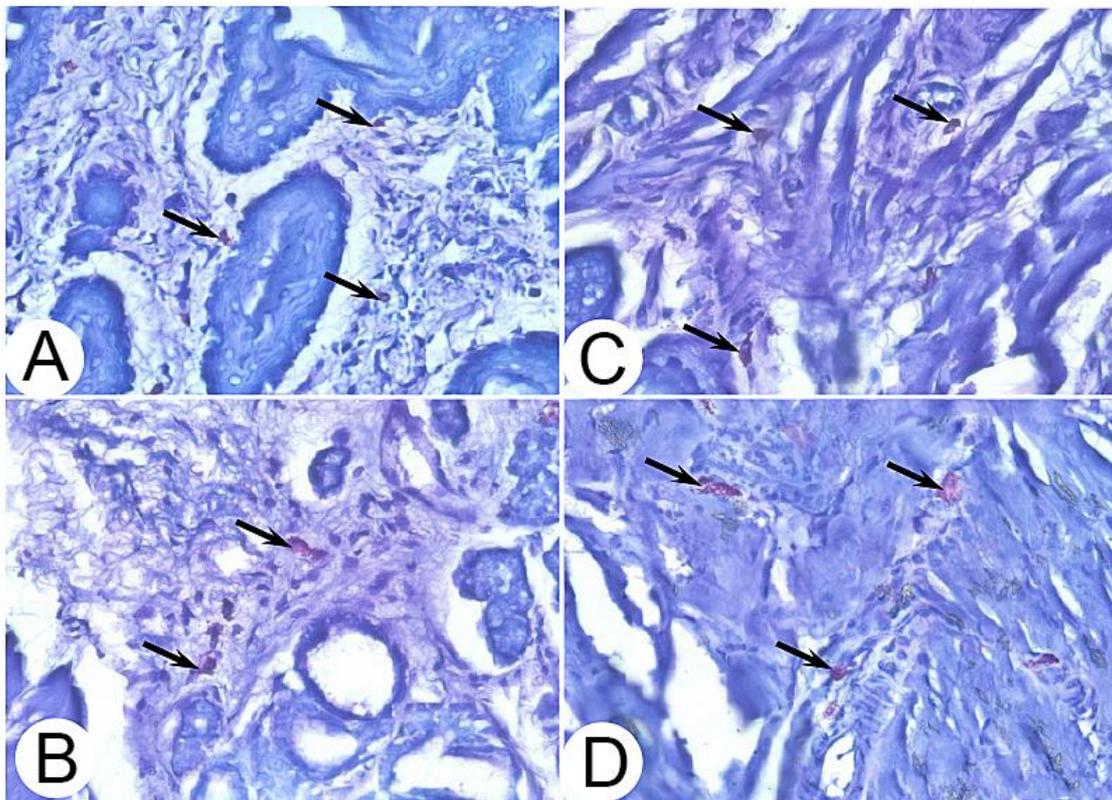


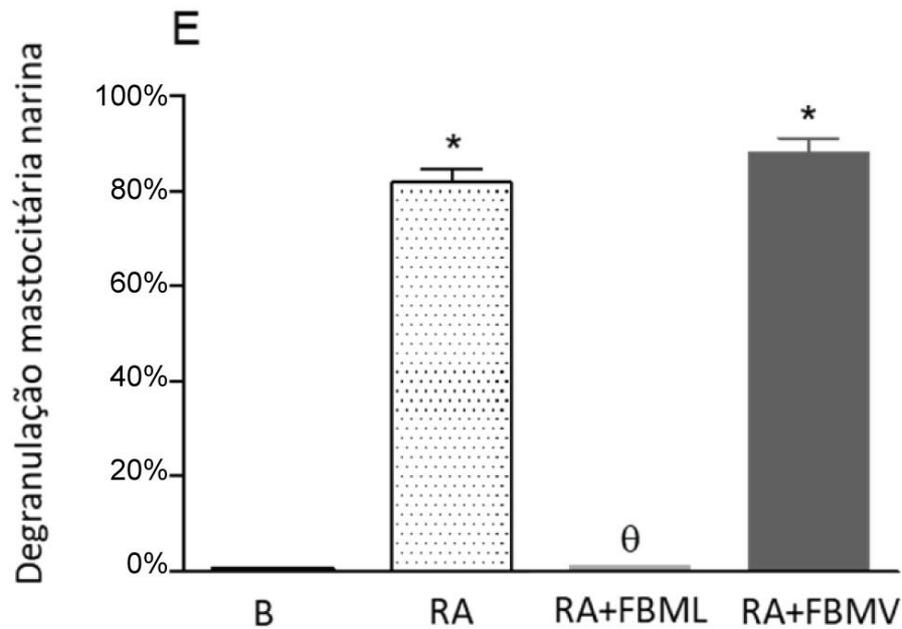
FBM local, mas não por FBM sistêmico, reduz a degranulação de mastócitos na nasofaringe em modelo experimental de rinite alérgica. Os ratos foram sensibilizados ou não com Ovalbumina (OVA) associado ao hidróxido de alumínio dos dias 1 ao 13. Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do 14º ao 21º e os sintomas e sinais de RA foram deflagrados durante 3 dias consecutivos (de 22 a 24). Os tratamentos foram realizados dos dias 22 a 24 com PBM por via local ou sistêmica. Após 10 min do último desafio OVA, a degranulação dos mastócitos foi quantificada. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; $\theta P < 0,05$ em relação ao grupo AR.

4.2 FBML, mas não por FBMV, reduz a Degranulação de Mastócitos na Narina em Modelo Experimental de Rinite Alérgica

A Figura 7 (Painel A) mostra o grupo basal com mastócitos intactos (seta). No painel B, observamos aumento de mastócitos degranulados (seta) após rinite alérgica. Por outro lado, podemos notar a redução da degranulação dos mastócitos (setas) após o FBML (painel C), enquanto o tratamento com FBMV não causou nenhuma alteração (painel D). Cor azul da toluidina. Bar = 50 μ m. No painel E, podemos observar a porcentagem de degranulação dos mastócitos. Nossos resultados mostraram redução da degranulação dos mastócitos no grupo FBML, enquanto não foram observadas diferenças no grupo FBMV em relação ao grupo RA. Além disso, também mostramos aumento da degranulação de mastócitos no RA quando comparado ao grupo B.

Figura 7: Degranulação de Mastócitos nas Narinas.



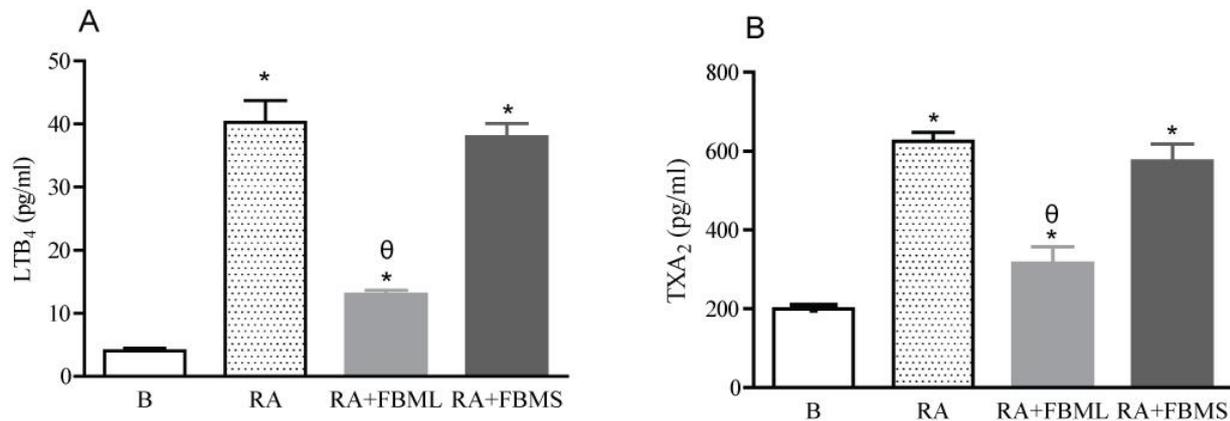


FBM local, mas não por FBM sistêmico, reduz a degranulação de mastócitos na narina em modelo experimental de rinite alérgica. Os ratos foram sensibilizados ou não com Ovalbumina (OVA) associado ao hidróxido de alumínio dos dias 1 ao 13. Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do 14º ao 21º e os sintomas e sinais de RA foram deflagrados durante 3 dias consecutivos (de 22 a 24). Os tratamentos foram realizados dos dias 22 a 24 com PBM por via local ou sistêmica. Após 10 min do último desafio OVA, a degranulação dos mastócitos foi quantificada. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; $\theta P < 0,05$ em relação ao grupo AR.

4.3 A FBML, mas não por FBMV, reduz os Níveis de Eicosanóides nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica

Na Figura 8 (Painéis A e B) podemos observar que o tratamento com FBML reduziu os níveis de LTB₄ e TXA₂ nos homogenatos de nasofaringe em relação aos níveis do grupo RA. Por outro lado, o tratamento com FBMV não alterou os níveis elevados de LTB₄ e TXA₂ nos homogenatos de nasofaringe em relação aos níveis do grupo RA. Também observamos níveis elevados de LTB₄ e TXA₂ nos homogenatos de nasofaringe em relação aos níveis do grupo basal.

Figura 8: Quantificação dos Níveis de Eicosanóides por ELISA.



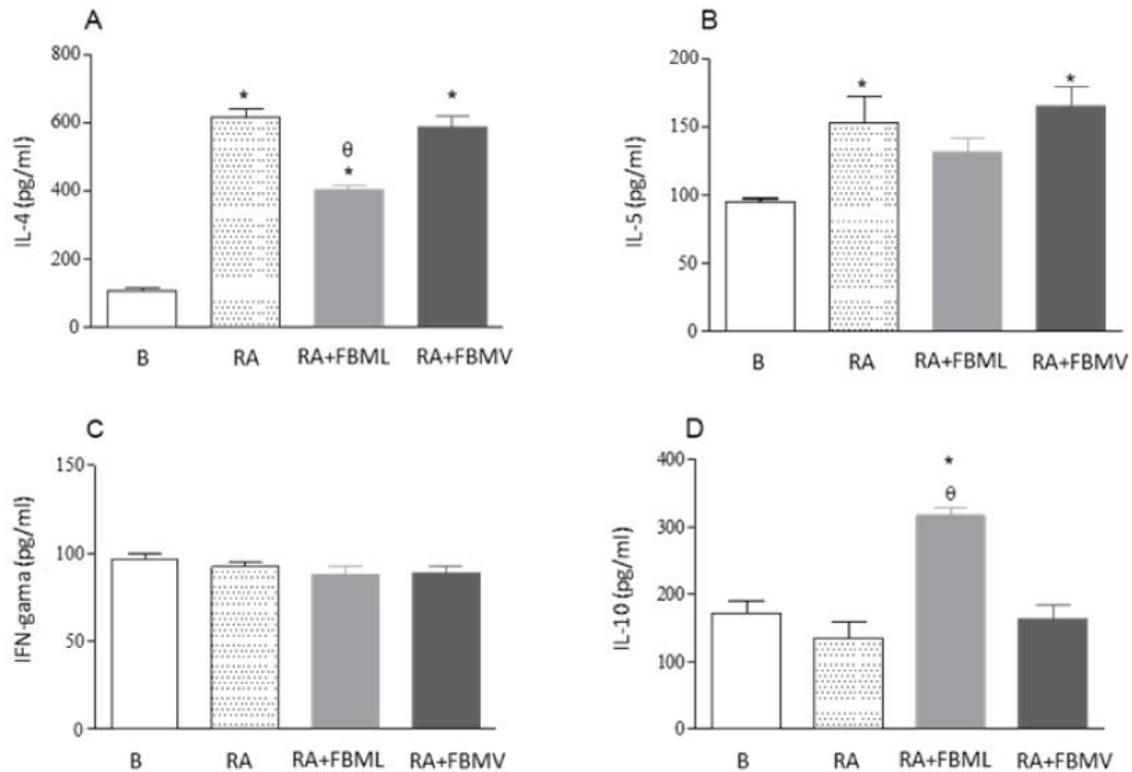
FBM local, mas não por FBM sistêmico, reduz os níveis de Eicosanóides nos homogenatos de nasofaringe em modelo experimental de rinite alérgica. Os ratos foram sensibilizados ou não com Ovalbumina (OVA) associados ao hidróxido de alumínio dos dias 1 a 13. Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do 14º ao 21º e os sintomas e sinais de RA foram deflagrados durante 3 dias consecutivos (de 22 a 24). Os tratamentos foram realizados dos dias 22 a 24 com PBM por via local ou sistêmica. Após 10 min do último desafio OVA, o nível de eicosanóides foi quantificado. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; θ $P < 0,05$ em relação ao grupo AR.

4.4 A FBML, mas não por FBMV, reduz os Níveis de IL-4, enquanto Aumenta os Níveis de IL-10 nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica

A Figura 9 (Painel A) mostra que o tratamento com FBML reduziu os níveis de IL-4 nos homogenatos de nasofaringe em relação aos níveis do grupo RA. Por outro lado, o tratamento com FBMV não alterou os níveis elevados de IL-4 nos homogenatos de nasofaringe em relação aos níveis do grupo RA. Observamos também níveis elevados de IL-4 em relação aos níveis do grupo basal.

No painel B, observamos níveis elevados de IL-5 nos grupos RA e FBMV quando comparados ao grupo B. Além disso, mostramos que ambos os tratamentos, FBML e FBMV, não reverteram os níveis elevados de IL-5 após a rinite alérgica. Podemos observar também no painel C que não foram encontradas diferenças entre os grupos de estudo. No painel D, mostramos que o tratamento com FBML elevou os níveis de IL-10 nos homogenatos de nasofaringe quando comparados aos grupos RA e B. Não foram encontradas diferenças entre os grupos FBMV e RA.

Figura 9: Níveis de Citocinas determinadas por ELISA na Nasofaringe.

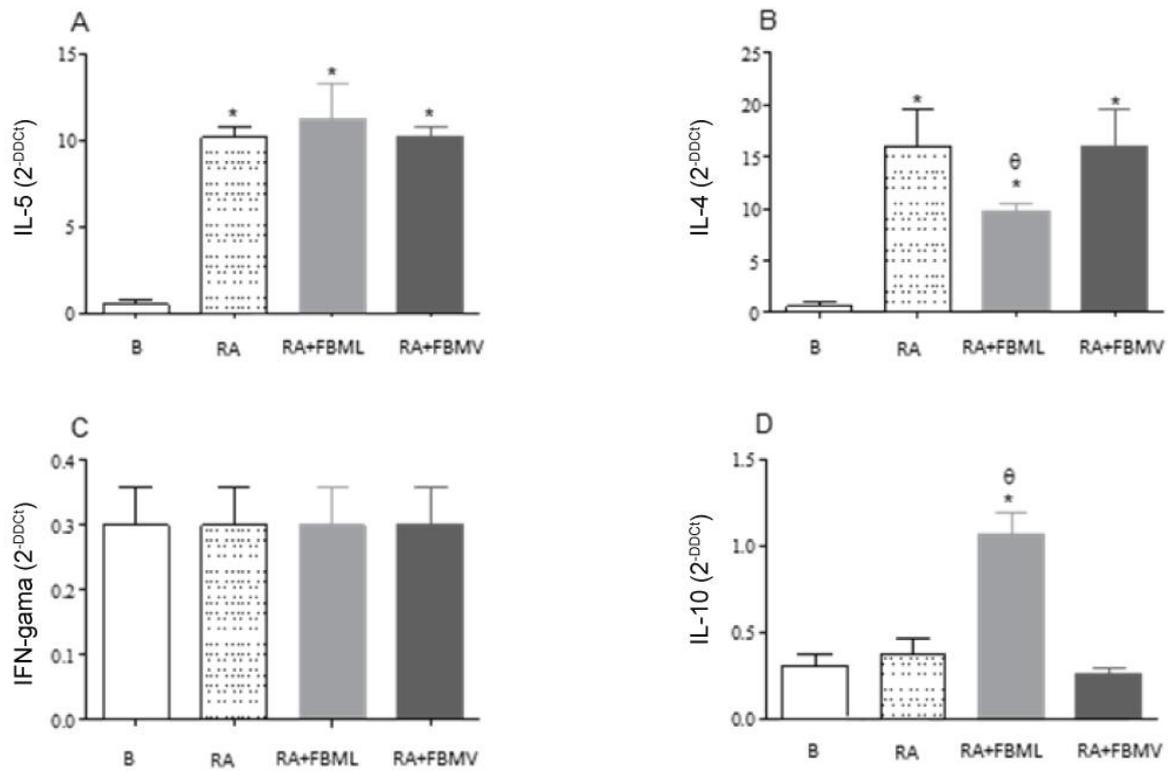


FBM local, mas não por FBM Vascular, reduz os níveis de IL-4, enquanto aumenta os níveis de IL-10 nos homogenatos de nasofaringe em modelo experimental de rinite alérgica. Os ratos foram sensibilizados ou não com Ovalbumina (OVA) associado ao hidróxido de alumínio dos dias 1 a 13. Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do 14º ao 21º e os sintomas e sinais de RA foram deflagrados durante 3 dias consecutivos (de 22 a 24). Os tratamentos foram realizados dos dias 22 a 24 com PBM por via local ou sistêmica. Após 10 min do último desafio OVA, o nível de citocinas foi quantificado. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; θ $P < 0,05$ em relação ao grupo AR.

4.5 FBM Local, mas não por FBM Sistêmico, Reduz a Expressão Gênica de IL-4, enquanto aumenta a Expressão Gênica de IL-10 nos Homogenatos de Nasofaringe em Modelo Experimental de Rinite Alérgica

A Figura 10 (Painel A) mostra que os grupos RA, FBML e FBMV aumentaram a expressão gênica de IL-5 no tecido da nasofaringe em relação ao grupo B. Ambos os tratamentos não alteraram a expressão gênica de IL-5. No painel B, observamos elevada expressão gênica de IL-4 no grupo RA quando comparado ao grupo basal. Também mostramos que o tratamento com FBML reduziu a expressão gênica da IL-4, enquanto o tratamento com FBMV não alterou a expressão gênica dessa citocina no tecido da nasofaringe quando comparado ao grupo RA. Podemos observar também no painel C que não foram encontradas diferenças entre os grupos de estudo. No painel D, mostramos que o tratamento com FBML elevou a expressão gênica de IL-10 nos homogenatos de nasofaringe quando comparados aos grupos RA e B. Não foram encontradas diferenças entre os grupos FBMV.

Figura 10: Níveis de Expressão Gênica de Citocinas determinadas por RT-PCR na Nasofaringe.



FBM local, mas não por FBM sistêmico, reduz a expressão gênica de IL-4, enquanto aumenta a expressão gênica de IL-10 nos homogenatos de nasofaringe em modelo experimental de rinite alérgica. Os ratos foram sensibilizados ou não com Ovalbumina (OVA) associado ao hidróxido de alumínio dos dias 1 a 13. Após a imunização, o desafio nasal foi realizado do 14^o ao 21^o e os sintomas e sinais de RA foram deflagrados durante 3 dias consecutivos (de 22 a 24). Os tratamentos foram realizados dos dias 22 a 24 com PBM por via local ou sistêmica. Após 10 min do último desafio OVA, a expressão gênica de citocinas foi quantificada. Os dados representam a média \pm SEM de 6 animais. * P < 0,05 em relação ao grupo B; θ P < 0,05 em relação ao grupo AR.

5 DISCUSSÃO

Vários estudos têm investigado a FBM para tratar doenças inflamatórias pulmonares usando modelos animais, bem como humanos. No entanto, em todos esses estudos, a luz foi usada localmente, diretamente no trato respiratório na pele. Recentemente, estudamos os efeitos da FBMV e nossos resultados mostraram efeitos benéficos na lesão pulmonar aguda induzida por LPS. Assim, decidimos investigar os efeitos da FBMV, foco principal desse estudo, e comparar com os efeitos da FBML no curso de RA.^{36, 37, 38,34, 48}

A AR é uma importante doença inflamatória crônica da mucosa nasal resultante do contato com alérgenos. É caracterizada por sintomas de rinorreia, espirros, pruridos, obstrução nasal, déficit de atenção, comprometimento da aprendizagem e compromete diretamente a qualidade de vida dos pacientes. Portanto a RA tem impacto na vida diária dos pacientes. Os alérgicos frequentemente se automedicam e nem sempre estão satisfeitos com o tratamento. Os profissionais da saúde em geral devem trabalhar mais na comunicação com os pacientes alérgicos, às suas necessidades, medo de efeitos colaterais de medicações, preocupações quanto aos sintomas de alergia e como estes interferem na qualidade de vida e se atentar na prevenção e educação. Esta doença pode estar associada a condições coexistentes, incluindo asma, sinusite, otite média, entre outras.^{4, 8, 20}

O modelo experimental utilizado nessa pesquisa é bem estabelecido na literatura e reproduz a fisiologia da RA induzida por OVA intradérmica e por instilação nasal. Quanto a fonte óptica utilizada para FBM eleita para esse estudo e também por todos realizados pelo nosso grupo foi o LED. Estudos clínicos mostraram efeitos benéficos da Fototerapia, apenas um destaca sendo LASER o aparelho utilizado no tratamento da RA e a maioria são com aparelhos UV-B (5%), UV-A (25%) e luz visível (70%), denominada mUV/ VIS, nenhum com LED. Independente disso a literatura sugere-se que as fontes óticas, apesar das diferenças físicas, produzem efeitos biológicos semelhantes e são caracterizadas como FBM.^{32, 69,70,71,72,73,74, 76}

A RA, durante a resposta de fase inicial, atua em vários locais que incluem vasos sanguíneos nasais, células epiteliais nasais, células T e nervos sensoriais para iniciar os sintomas de uma resposta alérgica e desencadeiam uma resposta inflamatória adicional nas próximas 4-8 horas caracterizada como uma resposta inflamatória de fase tardia resultando em sintomas recorrentes (geralmente congestão nasal) que frequentemente persistem. Sendo a mucosa do trato respiratório rica em mastócitos, vasos sanguíneos, glândulas mucosas, nervos e células inflamatórias, como macrófagos, células dendríticas, linfócitos e outras células do sistema imunológico, essas estruturas colaboram para a imunidade nasal. Reconhecendo o importante papel dos mastócitos no desenvolvimento da RA, avaliamos a degranulação dos mastócitos na narina e nasofaringe, estruturas alvo a serem

investigadas principalmente na fase inicial/ aguda. Mediadores e citocinas liberadas durante a resposta de fase inicial/ aguda, atuam em vários locais, incluindo vasos sanguíneos nasais, células epiteliais nasais, células T e nervos sensoriais para iniciar os sintomas de uma resposta alérgica e desencadeiam uma resposta inflamatória adicional nas próximas 4-8 horas caracterizada como uma resposta inflamatória de fase tardia, demonstrada na Figura 2, resultando em sintomas recorrentes (geralmente congestão nasal) que frequentemente persistem.^{18,19}

Está bem estabelecido que em indivíduos sensibilizados, a interação de IgE com antígenos nos receptores para a região Fc presente na superfície dos mastócitos resulta na liberação de vários mediadores inflamatórios incluindo histamina, leucotrienos, quimiocinas e citocinas. Esses mediadores modulam a vasodilatação, migração celular, produção de muco e edema.^{18,19,20,21,22}

Nossos resultados mostraram que o FBML, mas não o FBMV, foi eficaz na redução da degranulação dos mastócitos tanto na narina como nasofaringe. Esses dados foram surpreendentes, já que recentemente nós mostramos efeitos promissores do tratamento com FBMV em modelo experimental de LPA. Neste estudo anterior, nossos resultados apontaram para os efeitos benéficos do FBMV sobre a LPA induzida por LPS, pois reduziu o número de neutrófilos recrutados para o lavado broncoalveolar, atividade da mieloperoxidase e interleucinas (IL) 1 β , IL-6 e IL-17 no pulmão. No entanto, é importante considerar que os mecanismos de indução de RA e LPA são totalmente diferentes. Portanto, os efeitos do tratamento sistêmico com FBMV não foram reproduzidos.

Por outro lado, corroborando com nossos estudos anteriores, a FBML reduziu a degranulação dos mastócitos. Neste estudo, nós mostramos que o tratamento com FBML em camundongos asmáticos reduziu a infiltração de células pulmonares, produção de muco, edema e resposta contrátil traqueal modulada por IL-10, IFN-gama e mastócitos. Ainda assim, a semelhança da resposta desencadeadora entre asma e RA é destacada.³⁶

Sequencialmente, comparamos o efeito de FBML e FBMV nos níveis de liberação de eicosanóides. Após a degranulação dos mastócitos, vários mediadores são liberados, incluindo histaminas, leucotrienos (LTB), tromboxanos (TX) e prostaglandinas (PG), que atuam nos vasos sanguíneos causando congestão nasal.^{34,48}

Nossos dados mostraram níveis reduzidos de LTB₄ e TXA₂ após o tratamento com FBML. Essa redução pode estar associada à redução da degranulação dos mastócitos. No entanto, FBMV não causou nenhum efeito nos níveis de eicosanóides.

A rinite alérgica é caracterizada por uma típica resposta imune T helper 2 (Th₂), envolvendo uma complexa cascata de mediadores moleculares, como as interleucinas IL-4, IL-5 e IL-13, que induzem a ativação de linfócitos B, diferenciação no plasma células, produção de IgE específica para

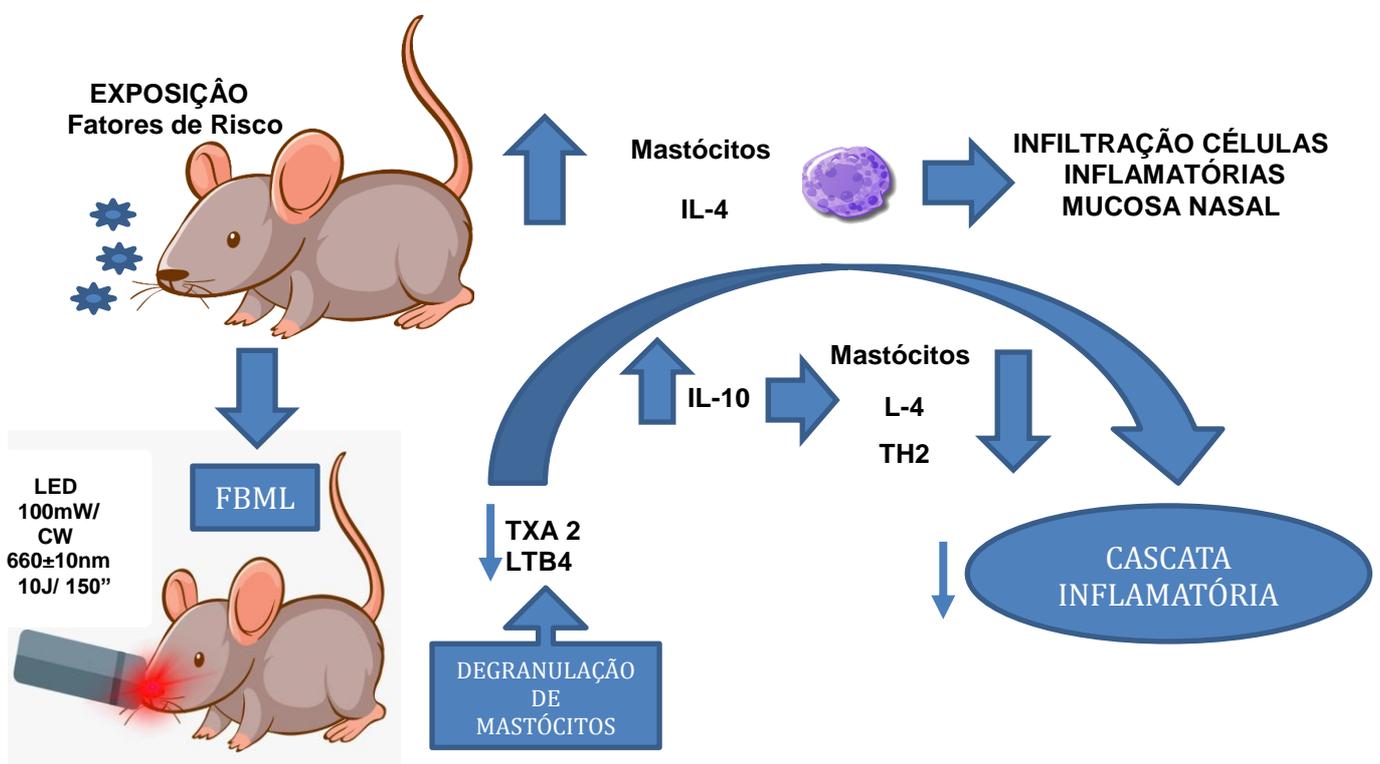
o alérgeno, recrutamento e ativação de eosinófilos para o sítio inflamatório do tecido. Assim, quantificamos o nível e também a expressão gênica de IL-4, IL-5, IFN-gama e IL-10.¹³

Nossos resultados mostraram que o tratamento com FBML reduziu o nível e a expressão gênica de IL-4, aumentou a IL-10 sem alterar IL-5 e IFN-gama. É importante mencionar o papel do equilíbrio Th1 / Th2 no desenvolvimento de RA. A célula T helper 2 produz IL-4, IL-5, IL10, IL13, que estimulam as células a participarem da reação alérgica, como células B secretoras de IgE, mastócitos e eosinófilos, enquanto interleucina 12 (IL-12) e IFN- γ são citocinas características da resposta imune tipo 1. Mostramos que a FBML reduziu as citocinas Th2, contribuindo para melhorar os sintomas de RA.^{34,36, 37, 48}

Assim, o tratamento com FBML neste modelo está se mostrando mais eficaz que o tratamento com FBMV, principalmente ao que se refere a fase inicial/aguda diante dos resultados encontrados.

6 CONCLUSÕES

Nossos dados mostraram que o tratamento local com FBML foi mais eficaz que o FBMV para melhorar parâmetros importantes na RA. Assim, o tratamento FBML aponta para uma terapia promissora para o controle dessa patologia. Destacamos o tratamento é indolor, fácil aplicabilidade e não se tem relatado efeitos colaterais até o momento na literatura. Ainda, ressaltamos que embora a abordagem da FBMV tenha resultados promissores em outros estudos, neste estudo não alterou de forma significativa os biomarcadores da RA e sugerimos rever os parâmetros dosimétricos.



7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Consenso Rinite–iv-v2.indd- [acesso em 10 de junho de 2019]. Disponível em: www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/consenso_rinite_9_-27-11-2017_Final.pdf.
- 2- Morais MB, Jacob CM. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. *J Pediatr (Rio J)* (2006) **82**: S189–97. doi: 10.2223 / JPED.1559
- 3- Klein Jan A, Willart M, Van Nimwegen M, et al. Vias aéreas unidas: as células efectoras Th2 circulantes em um modelo de rinite alérgica são responsáveis por promover a inflamação das vias aéreas inferiores. *Alergia Clínica e Experimental*. 2010; 40 (3): 494-504.
- 4- Roditi RE, Shin JJ. The Influence of Age on the Relationship Between Allergic Rhinitis and Otitis Media. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018; 18:68.
- 5- Feng B, Jin H, Xiang H, et al. Associação de rinite alérgica pediátrica com as classificações de transtorno de déficit de atenção / hiperatividade. *Revista Americana de Rinologia e Alergia*. 2017; 31(3): 161-167.
- 6- Strom MA, Silverberg JI. Associações de atividade física e comportamento sedentário com doença atópica em crianças dos Estados Unidos. *O Jornal de Pediatria*. 2016; 174: 247–253.
- 7- Akhouri S, House SA. Allergic Rhinitis. [Updated 2019 Mar 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019. [acesso em 10 de fevereiro de 2019]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538186/>
- 8- Rosário CS, Murrieta- Aguttes M, Filho NAR. Rinite alérgica na visão do paciente. *Arq Asma Alerg Immunol*. 2019; 3(1):25-28
- 9- Solé D, Sakano E, et al. III Consenso Brasileiro sobre Rinites. *Braz J Otorhinolaryng*. 2012; 75:6.
- 10- Zhu R, Wang J, Wu Y, Yang Y, Huang N, Yang Y, et al. The Allergic Rhinitis Control Test Questionnaire Is Valuable in Guiding Step-Down Pharmacotherapy Treatment of Allergic Rhinitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019; 272-278.
- 11- Hellings PW, Fokkens WJ, Bachert C, Akdis CA, Bieber T, Agache I, et al. Positioning the Principles of Precision Medicine in Care Pathways for Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis - an EUFOREA-ARIA-EPOSAIRWAYS ICP statement. *Allergy*. 2017; 72(9):1297-130.
- 12- Wheatley LM, TOGIAS A. Clinical practice: allergic rhinitis. *N Engl J Med*. 2015; 372(5): 456–463.
- 13- Baroody FM, Naclerio RM. Immunology of the Upper Airway and Pathophysiology and Treatment of Allergic Rhinitis. In: RICHARDSON, M. A. et al. (Ed.). *Cummings otolaryngology and head and neck surgery*. Fifth Edit ed. [s.l.]: Mosby. 2010; 597–623.

- 14- Sakano E, Sarinho ESC, Cruz AA, Pastorino AC, Tamashiro E, Kuschnir F, et al. IV Consenso Brasileiro sobre Rinite - Atualização em Rinite Alérgica. *Braz. j. otorhinolaryngol.* 2018; 84: 3-14.
- 15- Di Francesco RC. Respirador bucal: a visão do otorrinolaringologista. *J Bras Ortodon Ortop Facial.* 1999; 4: 241-247.
- 16- Hasan AK, Timothy DR. Allergic Rhinitis. Primary Care: Clinics in Office Practice. 2016; 43: 465-475.
- 17- Rapieiko P. Treatment strategy of allergic rhinitis in the face of modern world threats. *Otolaryngol Pol.* 2018 Apr 30;72(2):1-12. doi: 10.5604/01.3001.0011.8057.
- 18- Watts AM, Cripps AW, West NP, Cox AJ. Modulation of Allergic Inflammation in the Nasal Mucosa of Allergic Rhinitis Sufferers With Topical Pharmaceutical Agents *Front Pharmacol.* 2019; 10: 294.
- 19- Perić A, Mirković ČŠ, Vojvodić D. Clara cell protein 16 release from the nasal mucosa in allergic rhinitis, chronic rhinosinusitis, and exposure to air pollutants. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2018; 69: 215-219.
- 20- Bernstein DI, Schwartz G, Jonathan A, Bernstein MD. Allergic Rhinitis Mechanisms and Treatment. *Immunol Allergy Clin.* 2016; 36: 261-278.
- 21- Okano M, Satoskar AR, Abe M, et al. Produção de citocinas Th2 por interleucina-4 independente por linfócitos nasais e eosinofilia nasal em rinite alérgica murina. *Alergia.* 2000; 55 (8): 723-731.
- 22- Jianjun Ren, Yu Zhao, Shi Huang, Dan Lv, Fengling Yang, Lin Lou, et al. Immunomodulatory effect of Bifidobacterium breve on experimental allergic rhinitis in BALB/c mice. *Experimental and therapeutic medicine.* 2018; 16: 3996-4004.
- 23- Roger A, Campillo AE, Torres MC, et al. Redução do trabalho / desempenho acadêmico e qualidade de vida em pacientes com rinite alérgica e impacto da imunoterapia com alérgenos. *Alergia, Asma e Imunologia Clínica.* 2016; 12 (1): 40.
- 24- Hougee S. et al. Oral treatment with probiotics reduces allergic symptoms in ovalbumin-sensitized mice: a bacterial strain comparative study. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 151:107–117
- 25- Speth MM, Hoehle LP, Phillips KM, Caradonna DS, Gray ST, Sedaghat AR. Treatment history and association between allergic rhinitis symptoms and quality of life. *Irish Journal of Medical Science.* 2018; 188(2):703-710.
- 26- Kimihiro Okubo, Yuichi Kurono, Keiichi Ichimura, Tadao Enomoto, Yoshitaka Okamoto, Hideyuki Kawauchi, et al. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2017. *Allergology International* 2017; 66: 205-219.

- 27- Demoly P, Allaert FA, Lecasble M. ERASM, um estudo fármaco epidemiológico sobre o manejo da rinite alérgica intermitente em todos os dias na prática médica geral na França. *Alergia*. 2002; 57: 546-554.
- 28- Canonica GW, Bousquet J, Mullol J, Scadding GK, Virchow JC. A survey of the burden of allergic rhinitis in Europe. *Allergy*. 2007;62 (Suppl 85):17-25.
- 29- Schatz M. A survey of the burden of allergic rhinitis in the USA. *Allergy*. 2007; 62 (Suppl. 85): 9-16.
- 30- Javad G, Alireza R, Annegret Q. Review Article Vitamin D Deficiency and Allergic Rhinitis in Children: A Narrative Review *Pediatr. J Pediatr Rev*. 2015; 3(2): e2623.
- 31- Fernandes KPS, Ferrari RAM, França CM, organizadores. *Biofotônica: conceitos e aplicações*. São Paulo: Universidade Nove de Julho - UNINOVE, 2017.
- 32- Dall MA, Dall A, Nicolau RA, De Lima CJ, Munin E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci*. 2009; 24(6): 909-16.
- 33- Heiskanen V, Hamblin MR. Photobiomodulation: lasers vs. light emitting diodes? *Photochem Photobiol Sci*. 2018 Aug 8;17(8):1003-1017. doi: 10.1039/c8pp90049c. Erratum in: *Photochem Photobiol Sci*. 2018 Oct 31;18(1):259-259. PMID: 30044464; PMCID: PMC6091542
- 34- da-Palma-Cruz, Marlon., Lino-dos-Santos-Franco, Adriana., et al. A fotobiomodulação modula a resolução da inflamação durante a lesão pulmonar aguda induzida por sepse. *Lasers em Ciências Médicas* 2018; 34: 191: 199
- 35- Dall GF, Ohly NE, Ballantyne JA, Brenkel IJ. The influence of pre-operative factors on the length of in-patient stay following primary total hip replacement for osteoarthritis: multivariate analysis of 2302 patients. *J Bone Joint Surg Br*. 2009; 91: 434-40.
- 36- Siqueira VPC, Evangelista MIS, Dos Santos A, Marcos RL, Ligeiro-de-Oliveira AP, Pavani C, et al. Light-Emitting Diode treatment ameliorates allergic lung inflammation in experimental model of asthma induced by ovalbumin. *J Biophotonics*. 2017; 10(12):1683-93.
- 37- Costa SG, Barioni ÉD, Ignacio A, Albuquerque J, Câmara NOS, Pavani C, et al. Beneficial effects of Red Light-Emitting Diode treatment in experimental model of acute lung injury induced by sepsis. *Sci Rep*. 2017; 7(1):12670.
- 38- Brochetti RA, Leal MP, Rodrigues R, Da Palma RK, De Oliveira LVF, Horliana ACRT, et al. Photobiomodulation therapy improves both inflammatory and fibrotic parameters in experimental model of lung fibrosis in mice. *Lasers Med Sci*. 2017; 32(8):1825-34.
- 39- Mikhaylov VA. The use of Intravenous Laser Blood Irradiation (ILBI) at 630-640 nm to prevent vascular diseases and to increase life expectancy. *Laser Therapy*. 2015; 24 (1): 15-26.
- 40- Gasparyan L. Laser Irradiation of the blood. *Laser Partner - Clinixperience - All Volumes*. 2003:1-4.

- 41- Weber, M. H., TH Fuganger- May, and T. Wolf. The intravenous Laser Blood Irradiation. Introduction of a New Therapy. *German Journal of Acupuncture and Related Techniques* 50.3 (2007): 12-23
- 42- Chen AC-H, Arany PR, Huang YY, Tomkinson EM, Saleem T, Yull FE, et al. Low-Level Laser Therapy activates NF- κ B via generation of reactive oxygen species in mouse blasts. *PloS One*. 2011; 6(7): e.22453.
- 43- Lavi R, Shainberg A, Friedmann H, Shneyvays V, Rickover O, Eichler M, et al. Low energy visible light induces reactive oxygen species generation and stimulates an increase of intracellular calcium concentration in cardiac cell. *J Biol Chem*. 2003; 278 (42): 40917-22.
- 44- Zhang J, Xing D, Gao X. Low-power laser irradiation activates Src tyrosine kinase through reactive oxygen species-mediated signaling pathway. *J Cell Physiol*. 2008; 217 (2): 518-28.
- 45- Tomimura S, Silva BPA, Sanches IC, Canal M, Consolim- Colombo F, Conti FF, De Angelis K, Chavantes MC. Hemodinâmica Efeito da terapia com laser em ratos espontaneamente hipertensos. *Arq Bras Cardiol*. 2014; 103 (2): 161-164.
- 46- Tsukerman I, Iaremenko KV, Ibragimova SG. Effects of intravascular laser irradiation of blood on growth and metastasis of lymphosarcoma in rats. *Biull Eksp Biol Med*. 1988;106(10):472-473.
- 47- Timoshenko TE, Dvoretzki DP. The effect of low-intensity red and infrared laser radiation on the rat arterial and deoxygenated blood. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2010;96(10):998-1004
- 48- da Silva JGF, Dos Santos SS, de Almeida P, Marcos RL, Lino-Dos-Santos-Franco A. Efeito da fotobiomodulação sistêmica no curso de lesão pulmonar aguda em ratos. *LASERS Med Sci*. 2020 Ago 19. doi: 10.1007/s10103-020-03119-7.
- 49- Fernandes KPS, Ferrari RM, Bussadori SK, Franca CM. Vascular Photobiomodulation. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2021 Mar;39(3):143-144. doi: 10.1089/photob.2020.4965. Epub 2021 Feb 12. PMID: 33577376.
- 50- STASZYK, C., et al. Blood vessels of the rat tail: a histological re-examination with respect to blood vessel puncture methods. *Laboratory Animals*. 2003; v. 3, n. 2, p. 121–25
- 51- Ivaniuta OM, Dziublik AI, Skopichenko VN Problemy Tuberkuleza, Optimal effectiveness of complex treatment of patients with chronic obstructive bronchitis by intravascular laser irradiation of blood. 31 Dec 1991, (5-6):21-24
- 52- Prokopova, LV, Losev, AA e Ursol, Iu.I. (1992). Efeito da laserterapia intravascular nas propriedades reológicas do sangue em crianças com pneumonia destrutiva bilateral, *Klin. Khir.*, 6, pp. 7–9.
- 53- Marchuk, IK e Kuzmich, VN (1993). Irradiação laser intravascular do sangue no tratamento combinado de doenças pulmonares supurativas crônicas, *Klin. Khir.*, 6, pp. 9–10.

- 54- MIKHAILOV V.A.; ALEKSANDROVA. O.; GOL'DINA, E.M. The immunomodulating action of low-energy laser radiation in the treatment of bronchial asthma. *VoprKurortolFizioter Lech FizKult.*, v. 4, p. 23-5, 1998.
- 55- Ananchenko VG, Khanin AG, Gostishcheva OV. Cytological parameters of bronchoalveolar lavage in patients with chronic obstructive bronchitis exposed to laser radiation of blood. *Therapeutic archive.* 1999; 71 (11): 65-67.
- 56- Ledin A, Dobkin V, Sadov A, Galichev K, Rzeutsky V. Soft-laser use in the preoperative preparation and postoperative treatment of patients with chronic lung abscesses. *Proc. SPIE.* v.3829, p.2-5, 1999.
- 57- Rusakova L.I, et al. Intravenous laser irradiation of blood in the complex treatment for acute and progressive tuberculosis in adolescents. *Proceedings of SPIE*, v.4422, p.102-105, 2001
- 58- GASPARYAN L.; ARMÊNIA J. Laser Irradiation of the blood. *Laser Partner - Clinixperience - All Volumes*, p. 1-4, 2003.
- 59- BURDULI N.M. E.; AKSENOVA I.Z. The effects of intravenous laser irradiation of blood on the system hemodynamics of patients with chronic obstructive bronchitis exacerbation. *Klin Med (MosK)*, v. 84, n. 3, p. 37-9, 2006. (Russian)
- 60- Farkhutdinov, UR (2007). Irradiação intravascular do sangue por laser no tratamento de pacientes com asma brônquica, *Ter Arkh.*, 79 (3), pp. 44–48.
- 61- Sarycheva, TG, Tsybzhitova, EB, Popova, OV e Aleksandrov, OV (2009). Morfometria e mobilidade eletroforética de glóbulos vermelhos de pacientes com asma na irradiação com laser de sangue por via intravenosa, *Klin. Lab. Diagn.*, 3, pp. 13-14.
- 62- Mikhaylov V. Development and clinical applications of intravenous laser blood irradiation (ILBI). *Laser Therapy.* v.18, p.69–83, 2009.
- 63- KASHANKAIA E.P.; FEDOROV A.A. Low-intensity laser radiation in the combined treatment of patients with chronic obstructive bronchitis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* , v. 2, p. 19-22, mar/apr, 2009. (Russian)
- 64- CONCEIÇÃO E. LED-terapia e LASER-terapia He-Ne intravenosa e cutânea tipo ILIB. *Associação Brasileira de Medicina Complementar. Conceitos e princípios de Medicina Complementar, Medicina Alternativa e Medicina Unificada*, dez, 2017.
- 65- Polyakov AA, Kornilova ZH, Demikhova OV. The use of plasmapheresis and intravenous laser blood irradiation in treatment of patients with newly diagnosed tuberculosis at the late stages of hiv infection (references review). *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* v.25, n.4, p.655-68, 2017.
- 66- DOMÍNGUEZ A.; VELÁSQUEZ S.A.; DAVID M.A. Can Transdermal Photobiomodulation Help Us at the Time of COVID-19? *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2020; 38(5): 258-259. doi: 10.1089/photob.2020.4870. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32330404.

- 67- Mokmeli S, Vetrici M. Low-level laser therapy as a modality to attenuate multilevel cytokine storm, improve recovery, and reduce ventilator use in COVID-19. *Can J Respir Ther.* 2020; 56: 25-31. Published July 23, 2020. doi: 10.29390 / cjrt-2020-015
- 68- Vetrici MA, Mokmeli S, Bohm AR, Monici M, Sigman SA. Evaluation of Adjunctive Photobiomodulation (PBMT) for COVID-19 Pneumonia via Clinical Status and Pulmonary Severity Indices in a Preliminary Trial. *J Inflamm Res.* 2021 Mar 19; 14:965-979. doi: 10.2147/JIR.S301625. PMID: 33776469; PMCID: PMC7989376.
- 69- Neuman I, Finkelstein Y. Narrow-band red light phototherapy in perennial allergic rhinitis and nasal polyposis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997 Apr;78(4):399-406. doi: 10.1016/S1081-1206(10)63202-4. PMID: 9109708.
- 70- Koreck AI, Csoma Z, Bodai L, Ignacz F, Kenderessy AS, Kadocsa E, Szabo G, Bor Z, Erdei A, Szony B, Homey B, Dobozy A, Kemeny L. Rhinophototherapy: a new therapeutic tool for the management of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Mar;115(3):541-7. doi: 10.1016/j.jaci.2004.11.005. PMID: 15753902.
- 71- Brehmer D. Endonasal phototherapy with Rhinolight for the treatment of allergic rhinitis. *Expert Rev Med Devices.* 2010 Jan;7(1):21-6. doi: 10.1586/erd.09.56. PMID: 20021238.
- 72- Cingi C, Cakli H, Yaz A, Songu M, Bal C. Phototherapy for allergic rhinitis: a prospective, randomized, single-blind, placebo-controlled study. *Ther Adv Respir Dis.* 2010 Aug;4(4):209-13. doi: 10.1177/1753465810374610. Epub 2010 Jun 29. PMID: 20587541.
- 73- Jiang RS, Wang JJ. Effect of Red Light Rhinophototherapy on Nasal Patency in Patients with Allergic Rhinitis. *Int J Otolaryngol.* 2018 Dec 17; 2018:6270614. doi: 10.1155/2018/6270614. PMID: 30647740; PMCID: PMC6311790.
- 74- BAE J.S. et al. Effects of Low-Level Laser Irradiation in a Mouse Model of Allergic Rhinitis. *Lasers Surg Med.* 2020 Apr;52(4):347-357. doi: 10.1002/lsm.23141. Epub 2019 Jul 23. PMID: 31338850.
- 75- YILDIRIM Y.S., APUHAN T., KOÇOĞLU E. Effects of intranasal phototherapy on nasal microbial flora in patients with allergic rhinitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2013; 12(3): 281-6. PMID: 23893813.
- 76- Yang S, Wu J, Zhang Q, Li X, Liu D, Zeng B, et al. Allergic rhinitis in Rats Is Associated with an Inflammatory Response of the Hippocampus. *Behav Neurol.* 2018; 8750464.

ANEXO I



Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da irradiação local e sistêmica com fotobiomodulação em modelo experimental de rinite alérgica induzida por ovoalbumina", protocolada sob o CEUA nº 3542110419 (ID 000151), sob a responsabilidade de **Adriana Lino dos Santos Franco** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 21/05/2019.

We certify that the proposal "Evaluation of local and systemic irradiation with photobiomodulation in an experimental model of allergic rhinitis induced by ovalbumin", utilizing 108 Heterogenic rats (108 males), protocol number CEUA 3542110419 (ID 000151), under the responsibility of **Adriana Lino dos Santos Franco** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Nove de Julho University (CEUA/UNINOVE) in the meeting of 05/21/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2019 a 05/2022

Área: Biofotônica Aplicada Às Ciências da Saúde

Origem: Biotério - Unidade Vergueiro

Espécie: Ratos heterogênicos

sexo: Machos

idade: 2 a 3 meses

N: 108

Linhagem: Wistar

Peso: 160 a 180 g

Local do experimento: Laboratório de Pesquisa da Universidade Nove de Julho -Vergueiro

São Paulo, 03 de junho de 2019

Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho

Profa. Dra. Stella Regina Zamuner
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho

ANEXO II

> *Lasers Med Sci.* 2021 Nov 3. doi: 10.1007/s10103-021-03456-1. Online ahead of print.

Local (but not systemic) photobiomodulation treatment reduces mast cell degranulation, eicosanoids, and Th2 cytokines in an experimental model of allergic rhinitis

Adriana Schapochnik ¹, Simone Klein ¹, Robson Brochetti ¹, Paula Tatiane Alonso ¹, Amílcar Sabino Damazo ², Maria Fernanda de Souza Setubal Destro ¹, Michael R Hamblin ³, Adriana Lino-Dos-Santos-Franco ⁴

Affiliations + expand

PMID: 34731332 DOI: 10.1007/s10103-021-03456-1

Abstract

Allergic rhinitis (AR) is an inflammatory disorder of the nasal mucosa, and is a worldwide health problem with a significant impact on the quality of life. The main goal of AR treatment is to relieve symptoms. However, standard treatments have considerable side effects or are not effective. Photobiomodulation (PBM) therapy has emerged as an alternative treatment. Here, we evaluated the effects of transcutaneous systemic (tail) or local (skin over nostrils) PBM using a 660-nm light-emitting diode (LED) array. Adult rats were assigned into 4 groups: basal, as non-manipulated animals; Sham, as rats sensitized with 7 intradermal injections of ovalbumin (OVA) plus alum followed by intranasal instillation with OVA (2%) daily for 7 days; and the LPBM and SPBM groups, in which the animals were treated with PBM (local or systemic) immediately after the last instillation of OVA (1%) daily for 3 days. Our results showed that local PBM treatment reduced mast cell degranulation in the nasopharynx and nostrils; levels of leukotriene B₄, thromboxane A₂, and interleukin 4 (IL-4) in the nasopharynx; and gene expression of IL-4. Moreover, we showed higher levels and gene expression of IL-10 after local PBM treatment. Systemic PBM treatment did not change any of the evaluated parameters. In conclusion, our data showed that local (but not systemic) treatment with PBM could improve parameters related to AR in an animal model, and should be tested clinically.

Keywords: Allergic rhinitis; Eicosanoids; Interleukins; Light-emitting diode; Local photobiomodulation; Mast cells.

© 2021. The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature.