

Universidade Nove de Julho

Departamento de Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde

Paula Tatiane Alonso

**Papel da Fotobiomodulação Vascular por luz de diodo vermelha em Modelo
Experimental de Asma Induzida por Ovoalbumina**

São Paulo, 2021

Alonso, Paula Tatiane.

Papel da fotobiomodulação vascular por luz de diodo vermelha em modelo experimental de asma induzida por ovoalbumina. / Paula Tatiane Alonso. 2021.

48 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2021.

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

1. Inflamação pulmonar. 2. Asma. 3. Doenças alérgicas. 4. Citocina. 5. LED. 6. LASER. 7. Fotobiomodulação. 8. IL1B. 9. Mastócitos. 10. Fotobiomodulação Vascular. 11. Fotobiomodulação sistêmica transcutânea.

I. Franco, Adriana Lino dos Santos. II. Título.

CDU 615.831

Alonso, Paula Tatiane.

Papel da fotobiomodulação vascular por luz de diodo vermelha em modelo experimental de asma induzida por ovoalbumina. / Paula Tatiane Alonso. 2021.

48 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2021.

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

1. Inflamação pulmonar. 2. Asma. 3. Doenças alérgicas. 4. Citocina. 5. LED. 6. LASER. 7. Fotobiomodulação. 8. ILIB. 9. Mastócitos. 10. Fotobiomodulação Vascular. 11. Fotobiomodulação sistêmica transcutânea.

I. Franco, Adriana Lino dos Santos. II. Título.

CDU 615.831

São Paulo, 06 de agosto de 2021.

TERMO DE APROVAÇÃO

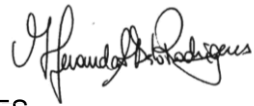
Aluno (a): Paula Tatiane Alonso

Título da Dissertação: “Papel da fotobiomodulação vascular por luz de diodo vermelha em modelo experimental de asma induzida por ovoalbumina”.

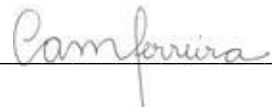
Presidente: PROF^a. DR^a. ADRIANA LINO DOS SANTOS FRANCO



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



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



AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela bênção de chegar forte até este momento.

Agradeço à Universidade Nove de Julho, coordenação do departamento de Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde, professores e corpo administrativo pelas oportunidades e grandes momentos de troca no período deste curso. Gratidão eterna à minha orientadora, professora Dra. Adriana Lino dos Santos Franco pela extrema organização, compreensão e aceitação da minha pessoa no grupo em um momento tão difícil que foi a perda do meu orientador Prof. Dr.

Paulo de Tarso Camillo de Carvalho, cuja dedicação foi maravilhosa.

Agradeço ao meu esposo Rafael, pelo amor incondicional e por acreditar nos meus sonhos todos os dias.

Aos meus pais e irmãos por serem minha base pessoal.

Agradeço à Adriana Schapochnik, que trabalhou fortemente ao meu lado na concretização deste trabalho, demonstrando amizade durante todo o processo.

Quero agradecer também aos colegas do grupo, pelo suporte durante minha jornada.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

ANOVA (análise de variância)

°C (Graus Celsius)

CDNAs (DNA com o seu correspondente alvo)

CEUA (Comitê de tica da Universidade Nove de Julho)

cm² (centímetro quadrado)

COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentao Animal)

COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*)

Cw (Contínuo)

CXCL1/KC (Quimiocina tipo CXCL1/KC)

ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - Ensaio de Imunoabsoro Enzimática)

EROs Espécies Reativas do Oxignio

EPM (Erro padrão da média)

FBM (Fotobiomodulao)

FBMV (Fotobiomodulao Vascular)

h (Hora)

IFN- γ (Interferon gama)

IgE (Imunoglobulina do tipo E)

IL-1 β (Interleucina 1 beta)

IL-4 (Interleucina 4)

IL-5 (Interleucina 5)

IL -6 (Interleucina 6)

IL-10 (Interleucina 10)

IL-17 (Interleucina 17)

ILIB (*Intravascular Laser Irradiation of Blood*- Irradiação Intravascular do sangue com LASER)

J/cm² (Joules por centímetro quadrado)

J (Joules)

L (Litro)

LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*- Amplificação da Luz por Emissão Estimulada por Radiação)

LBA (Lavado Broncoalveolar)

LBI (LASER de baixa intensidade)

LED (*Light Emitting Diode* – Diodo emissor de luz)

LPS (Lipopolissacarídeo)

MCh (Methacholina)

mg (miligrama)

mm (milímetro)

MPO (Mieloperoxidase)

mW (Miliwatts)

mW /cm² (Miliwatts por centímetro quadrado)

NaCl (Cloreto de Sódio)

nm (nanometro)

OVA (Ovalbumina)

PA (Plasmaférese)

PBS (*Phosphate buffered saline*)

PH (potencial hidrogeniônico)

RNA_m (*Ribonucleic Acid*- ácido ribonucleico mensageiro)

Rpm (Rotações por minuto)

RT-PCR (Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase)

SDS (Sequence Detection Software)

SDRA (Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo)

Spo2 (Saturação de oxigênio)

SUS (Sistema Único de Saúde)

TGF β (Transforming Growth Factor beta- Fator de Crescimento Transformador beta)

Th0 (Linfócito T helper 0)

Th2 (Linfócito T helper 2)

Th2 (CD4 Th2) (Linfócito T helper 2 tipo CD4)

TNF- α (*Tumor Necrosis Factor alpha*-Fator de Necrose Tumoral alfa)

ULIB (ILIB comprimento de onda Ultra Violeta)

USA (*United States of America*- Estados Unidos da América)

x (vezes)

μ g (micrograma)

μ m (micrometro)

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Definição do controle da asma	6
Quadro 2: Parâmetros dosimétricos do tratamento com FBMV	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho experimental.....	19
Figura 2: O papel da Fotobiomodulação Vascular (FBMV) sobre o número de células migradas para o LBA nos ratos asmáticos.....	24
Figura 3: Fotobiomodulação Vascular reduziu a degranulação de mastócitos.....	25
Figura 4: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) na degranulação de mastócitos nos ratos asmáticos.. ..	25
Figura 5: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) nos títulos de anticorpos anti- ovalbumina nos ratos asmáticos	26
Figura 6: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) na resposta de contração traqueal à metacolina (MCh) nos ratos asmáticos.....	27
Figura 7: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) nos níveis de IL-10 no fluido do LBA nos ratos asmáticos.....	28
Figura 8: O tratamento FBMV não alterou a expressão gênica de citocinas no pulmão nos ratos asmáticos.....	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 ASMA.....	1
1.2 FISIOPATOLOGIA E DESENVOLVIMENTO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA ASMA	2
1.3 TRATAMENTO DA ASMA	5
1.4 FOTOBIMODULAÇÃO.....	8
1.5 FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR	9
1.5.1 Fotobiomodulação Vascular nas doenças respiratórias.....	11
1.5.2 Fotobiomodulação Vascular na Asma	14
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 ASPECTOS ÉTICOS	18
3.2 ANIMAIS	19
3.3 GRUPOS DE ESTUDO	19
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	19
3.5 INDUÇÃO DA ASMA EXPERIMENTAL.....	20
3.6 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR (FBMV).....	20
3.7 ANÁLISE DA INFLAMAÇÃO PULMONAR	21
3.8 DEGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS.....	21
3.9 AVALIAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-OVALBUMINA.....	22
3.10 ANÁLISE DE RESPOSTA DE CONTRAÇÃO TRAQUEAL	22
3.11 ANÁLISE DOS NÍVEIS E EXPRESSÃO GÊNICA DAS CITOCINAS	22
3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23

4 RESULTADOS	23
4.1 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR REDUZIU A MIGRAÇÃO CELULAR PARA O LBA	23
4.2 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR REDUZIU A DEGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS.....	24
4.3 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-OVALBUMINA.....	26
4.4 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU A RESPOSTA DE CONTRAÇÃO TRAQUEAL À METHACHOLINA (Mch).....	26
4.5 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR AUMENTOU OS NÍVEIS DE IL-10 NO FLUIDO LBA.....	27
4.6 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU A EXPRESSÃO GÊNICA DAS CITOCINAS NO PULMÃO	28
5 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO.....	32
7 REFERÊNCIAS.....	33
ANEXO 1: PROTOCOLO APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EXPERIMENTAL.....	47
ANEXO 2: ARTIGO PUBLICADO EM 2021 (LASER IN MEDICAL SCIENCE)	48

Resumo

A asma é uma doença inflamatória crônica caracterizada por episódios recorrentes e reversíveis de chiado, dispneia, rigidez torácica e tosse. Seu tratamento inclui vários medicamentos com alto custo e efeitos colaterais consideráveis. A Fotobiomodulação (FBM) surge como um tratamento alternativo com resultados positivos locais ou sistematicamente. Avaliamos o efeito da Fotobiomodulação Vascular (FBMV) por LED (*Light Emitting Diode*) no desenvolvimento da asma. Ratos adultos foram sensibilizados e desafiados ou não com ovalbumina (OVA) para indução de asma e irradiados ou não com FBMV na artéria caudal (Potência: 100mW; Comprimento de onda: $660 \pm 10\text{nm}$; Energia Total: 15 J; Feixe de saída: $2,8 \text{ cm}^2$; Exposição Radiante: $5,35 \text{ J/cm}^2$; Irradiância: $33,3 \text{ mW/cm}^2$; Tempo total: 150 segundos). Investigamos a migração celular para o espaço alveolar e pulmão, resposta de contração traqueal, liberação e expressão gênica de citocinas, degranulação mastocitária e títulos de anticorpos anti-ovalbumina. Nossos resultados mostraram que a FBMV reduziu a migração celular e a degranulação mastocitária sem alteração da resposta de contração traqueal e os títulos de anticorpos anti-ovalbumina. A FBMV aumentou os níveis de interleucina 10 (IL-10) no fluído do lavado broncoalveolar sem alterar a expressão gênica de citocinas no tecido pulmonar. Assim, a FBMV reduziu a inflamação pulmonar alterando mastócitos e IL-10. Considerando que este estudo é pioneiro no uso de luz de diodo vermelha (LED) sistemicamente para o tratamento da asma, os dados são interessantes e instigam investigações futuras, principalmente na busca dos mecanismos envolvidos e dosimetria.

Palavras chave: Inflamação pulmonar; Asma; Doenças alérgicas; Citocina; LED; LASER; Fotobiomodulação; ILIB; Mastócitos; Fotobiomodulação Vascular, Fotobiomodulação sistêmica transcutânea

Abstract

Asthma is a chronic inflammatory disease characterized by recurrent and reversible episodes of wheezing, dyspnea, chest stiffness, and cough. Its treatment includes several drugs, high cost, and considerable side effects. Photobiomodulation (PBM) emerges as an alternative treatment, showing good results, and it can be applied locally or systemically. We evaluated the effect of Vascular Photobiomodulation (VPBM) by Light Emitting Diode (LED) in the course of asthma. Adult rats were sensitized and challenged or not with ovalbumin (OVA) plus alum for induction of asthma and irradiated or not with VPBM in the caudal artery (Power: 100mW; Wavelength 660 ± 10 nm; Total radiant emission 15 J; Spot Size: $2,8 \text{ cm}^2$; Energy density at aperture: $5,35 \text{ J/cm}^2$; Irradiance: $33,3 \text{ mW/cm}^2$; Total time: 150 s). Our investigations prioritized the cell migration into the alveolar space and lung, tracheal responsiveness, release and gene expression of cytokines, mast cell degranulation, and anaphylactic antibodies. Our results showed that VPBM reduced the cell migration and mast cell degranulation without altering the tracheal responsiveness and ovalbumin antibody titers. The VPBM increased the levels of interleukin 10 (IL-10) in the bronchoalveolar lavage fluid without altering the gene expression of cytokines in the lung tissue. Thus, the VPBM reduced lung inflammation by altering mast cells degranulation and IL-10 level. Considering that this study is a pioneer in the used of Light Emitting Diode (LED) by the systemic route to treat asthma, the data are interesting and instigate future investigations, mainly in relation to the mechanisms involved and in dosimetry.

Keywords: Acute lung inflammation; Asthma; Allergic Diseases; Cytokine; LED; LASER; Photobiomodulation; ILIB; Mast cells; Vascular Photobiomodulation; Transcutaneous systemic photobiomodulation

1 INTRODUÇÃO

1.1 ASMA

Definida como uma inflamação crônica das vias aéreas, a asma pode ser caracterizada pelo aumento do número de células inflamatórias no espaço alveolar, produção de muco, edema, reatividade exacerbada do músculo liso das vias aéreas culminando em episódios recorrentes e reversíveis de sibilância, dispneia, rigidez torácica e tosse.¹⁻⁵ Durante o processo inflamatório da asma mecanismos associados ao reparo e restauração da estrutura e função pulmonar são desencadeados. Admite-se que esta resposta seja protetora e benéfica. No entanto, devido ao processo inflamatório contínuo e recorrente, ocorrem lesões teciduais com subsequentes modificações no aparelho respiratório, resultando em reparo tecidual inadequado denominado de remodelamento das vias aéreas.^{4,5}

Evidências científicas mostram que a maioria dos pacientes asmáticos possuem uma reação diretamente proporcional: à medida que aumentam a inflamação das vias aéreas, os sintomas aumentam e, à medida que a inflamação das vias aéreas diminui, os sintomas diminuem.^{2,3,6}

A asma representa uma importante patologia que atinge mais de 334 milhões de pessoas mundialmente e com altas taxas de morbidade e mortalidade, e este número pode ser uma subestimação. A doença pode causar ataques ou crises agudas, que resultam em internações.⁷⁻

¹¹Tal patologia representa uma doença importante que vitimiza cerca de um em cada três da população mundial e quase 2,5 milhões de pacientes morrem anualmente como resultado da exacerbação grave.^{2,3}

No Brasil é considerada quarta causa de hospitalizações pelo Sistema Único de Saúde (SUS) com estimativa de aproximadamente 20 milhões de asmáticos. Ainda, suas implicações socioeconômicas são consideráveis, acarretando altos custos com internações, medicamentos e absenteísmo.^{11,12} Observa-se também uma acentuada diminuição na qualidade de vida e morte prematura.^{8, 10, 11}

A asma não controlada onera o sistema de saúde e também as próprias famílias, especialmente nos casos graves, que pode corresponder a mais de um quarto da renda dos usuários do SUS (Sistema Único de Saúde). Pesquisa nacional relata que apenas 12,3% dos pacientes asmáticos possuem a doença bem controlada.^{6,13,14}

Com relação ao desencadeamento da asma é multifatorial, ocorrendo por inúmeros fatores, os quais podemos destacar os causais, os predisponentes e os de contribuição.^{15,16} Os fatores causais referem-se à exposição a alérgenos ambientais, como fungos, polens e ácaros, já os predisponentes relacionam-se a uma condição específica em que o indivíduo produz quantidades exageradas de imunoglobulinas do tipo E (IgE), característico de respostas antialérgicas.^{17,18} Em associação a estes fatores, podemos citar os de contribuição como a fumaça do cigarro, poluição atmosférica, frio, determinados medicamentos, infecções virais (como vírus respiratórios) alterações hormonais entre outros. Assim, fica evidente que a asma é uma doença heterogênea e complexa, uma vez que depende da interação entre fatores ambientais e a susceptibilidade individual.^{19,20}

1.2 FISIOPATOLOGIA E DESENVOLVIMENTO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA ASMA

Avaliando as características fisiopatológicas da asma é possível distinguir duas fases denominadas de imediata (ressensibilização) e tardia (processo inflamatório).⁵

O início asma está relacionado com o processo de sensibilização, ou seja, exposição a um alérgeno, que pode desencadear broncoconstrição, aumento da permeabilidade vascular, produção de muco e de edema.^{5,21} Tais efeitos são deflagrados quando um indivíduo entra em contato com os fatores de risco associados à sensibilização. Estes, unidos, trazem resposta do linfócito Th2 (CD4 Th2) que então gera diferenciação do linfócito B em células plasmáticas produtoras de IgE. A IgE por si só é muito relevante para mastócitos no pulmão asmático. Está bem estabelecida a participação das células Th2 no desenvolvimento da inflamação característica da asma e da hiperreatividade brônquica.²²

A IgE por sua vez, liga-se aos receptores Fc dos mastócitos sensibilizando-os. Assim, o mastócito se degranulará liberando uma variedade de mediadores inflamatórios tais quais aminas vasoativas como histamina, serotonina, além de proteases, lipídios bioativos, espécies reativas de oxigênio (EROs), leucotrienos, heparina, citocinas (como TNF α , IL-4, IL-5, IL-13, prostaglandinas D₂) entre outros.²³ É importante ressaltar que o desenvolvimento da sensibilização do mastócito é dependente da produção de IgE por linfócitos B.²³⁻²⁵

A ativação de mastócitos pelo antígeno IgE ativa várias vias de sinalização intracelular que levam à secreção de mediadores em ondas com alto poder e efeito biológico.^{26,27} Após

estímulo mediado pelo antígeno IgE, a primeira onda de mediadores de mastócitos (advindos de grânulos pré-formados) são liberados aproximadamente 5 minutos após o contato com o antígeno. Na segunda onda, mediadores lipídicos recém-formados, gerados a partir do ácido araquidônico, são deflagrados. ²⁸ Na sequência, horas após o contato com o antígeno são secretadas citocinas e quimiocinas, que requerem a transcrição e síntese do gene. ²²

Sobre a presença de IgE específica no soro é uma característica chave na asma alérgica, por estar relacionada ao aumento do risco de asma e hiperresponsividade das vias aéreas. ^{29,30}

O IgE além de angariar mastócitos com o já citado, recruta e aciona eosinófilos. ³¹

Estudos trazem que moléculas individuais de IgE variam em sua capacidade de induzir a produção e a sobrevivência de citocinas. Curiosamente, a atividade citocinérgica da IgE monomérica é aumentada na presença de citocinas como a IL-4. Assim, a capacidade da IgE monomérica de promover a sobrevivência dos mastócitos pode ser significativa no pulmão asmático. ²²

Sobre os mastócitos, são considerados “atores-chave” na resposta asmática por secretarem uma infinidade de seus mediadores com efeitos pró-inflamatórios e constritivos das vias aéreas. Estes mediadores são responsáveis por muitos dos efeitos fisiológicos observados na fase aguda das reações alérgicas. Autores trazem que o acúmulo de mastócitos em locais específicos do pulmão alérgico é relevante para o fenótipo, e interferem na gravidade e progressão da asma. ²²

Os mediadores de mastócitos já citados, por uma cascata de acontecimentos, resultam na instigação de células endoteliais, musculares lisas, epiteliais, imunológicas, neurônios induzindo assim o influxo de células inflamatórias e mudanças na função pulmonar. ³²

Dentre os mediadores, está o TNF- α (*Tumor Necrosis Factor alpha*-Fator de Necrose Tumoral alfa), principalmente produzido pelos macrófagos, contudo também por monócitos, células dendríticas, células B, neutrófilos, eosinófilos, células estruturais (ou seja, fibroblastos, células epiteliais e células musculares lisas) e mastócitos. É uma citocina bastante associada à inflamação, com influência na hiperresponsividade brônquica, aumento de muco, estimulação da transmembrana basal eosinofílica e indução na produção de fibroblastos. (33, 34) Outro papel do TNF- α na asma é a sua associação aos leucotrienos (degranulados pelos mastócitos), cuja união acarreta hiperplasia das células da mucosa, com alta produção de muco, gerando

tamponamento da via respiratória, dificultando a expiração.

Além disso, por sua relevância

para a asma em geral, o TNF- α possui várias propriedades que podem ser relevantes para asma refratária grave, incluindo recrutamento de neutrófilos, indução de resistência a glicocorticóides, proliferação de miócitos e estimulação de fibroblastos crescimento e maturação em miofibroblastos pela promoção da expressão de TGF β (Transforming Growth Factor beta- Fator de Crescimento Transformador beta). Portanto, na asma refratária grave, além de promover inflamação das vias aéreas, o TNF- α pode desempenhar um papel central na remodelação das vias aéreas.³⁶ Pode ser um quimioatraente para neutrófilos e eosinófilos, aumentar o efeito citotóxico dos eosinófilos nas células endoteliais, está envolvido na ativação de células T e aumento na expressão epitelial de moléculas de adesão, como a molécula de adesão intercelular e a molécula de adesão de células vasculares. Assim, tem uma relação diretamente proporcional entre sua maior produção e recrutamento eosinofílico.

Os eosinófilos também são células chave na asma, pois participam da parte estrutural tecidual da asma. Quando acionados recrutam proteínas eosinofílicas e neurotoxinas que causam danos e perda do epitélio brônquico, cujo resultado é a hiperreatividade brônquica decorrente da exposição das fibras C aos compostos irritantes e proliferação e ativação de células de reparação (fibroblastos).³⁷⁻³⁹ Seus fatores inflamatórios atuam na contratilidade do músculo liso das vias aéreas e inibem seu relaxamento. Os eosinófilos são elementos-chave na perpetuação a longo prazo inflamatório da asma.⁴⁰

Portanto, na fase tardia da asma, entre outras características, há intenso infiltrado de células inflamatórias pulmonares, além dos eosinófilos (como neutrófilos, mastócitos, linfócitos, fibroblastos) o qual atua no microambiente pulmonar e determina lesão epitelial, ativação de nervos sensoriais, secreção de muco, hiperreatividade brônquica e remodelamento. A associação dos eosinófilos com neutrófilos gera ainda mais inflamação, causando ainda mais edema. Este resultado inflamatório, se não resolvido, é cíclico.³⁷⁻³⁹

Quanto ao remodelamento, caracterizado pelo pela maior deposição de colágeno nas vias aéreas, envolve fibrose subepitelial, hipertrofia e hiperplasia da célula muscular lisa, inflamação das vias aéreas, perda da integridade da cartilagem, além de angiogênese, espessamento da membrana basal reticularis, hiperplasia das células calciformes epiteliais e também deposição de proteínas na matriz extracelular.⁴¹⁻⁴² Ainda, células epiteliais liberam diversos mediadores, entre eles fatores de crescimento, os quais podem contribuir para o remodelamento na asma.⁴³

As alterações causadas na musculatura lisa das vias aéreas ocasionadas pelo remodelamento acarretam em redução da capacidade de relaxamento das vias aéreas, aumento da produção de citocinas e matriz extracelular. Nesse contexto, durante o remodelamento

observado na asma, as células musculares lisas desempenham importante papel com função imune efetora por meio de sua proliferação, liberação de citocinas, modulação de moléculas de adesão e interação com diversas células inflamatórias.⁴⁴

Uma grande importância vem sendo dada às subpopulações de linfócitos T e aos diversos padrões de secreção de citocinas que modulam a resposta de imunidade na asma.

45

Como já citado os mastócitos e seus mediadores têm sido implicados na patogênese da asma e alergia há décadas. Muitos mediadores produzidos após a ativação dos mastócitos podem ser avaliados no LBA (lavado broncoalveolar) e em outros fluídos de pacientes asmáticos²²

Dentre os mediadores citados está a interleucina 4 (IL-4), uma citocina fundamental na polarização de Th0 para Th2 (pois as células T se ligam a IL-4), promoção na produção de outras citocinas. É também um fator de proliferação de linfócitos B e sua diferenciação em plasmócitos para de produção de anticorpos e de mudança de classe para IgE. Está inserida num conjunto entre outras citocinas que promovem a superexpressão de células caliciformes, aumento da secreção de muco e hiperresponsividade das vias aéreas. A mesma, ainda, induz a secreção de IL -5 e eotaxinas, contribuindo para o recrutamento de eosinófilos para os tecidos.

²⁰ Possui função fibrogênica que estimula remodelação adicional das vias aéreas por meio da ativação de fibroblastos.^{40,46}

A citocina IL -5 (interleucina 5) é produzida por linfócitos Th2 e mastócitos e atua sobre eosinófilos, linfócitos B e basófilos, mediando efeitos relevantes para a fisiopatologia da asma.

(46) Ainda, tem um importante papel sobre os eosinófilos, modulando sua produção, diferenciação, recrutamento, ativação e sobrevivência.^{40,46}

Segundo a literatura, a citocina IL-10 (interleucina 10) tem função de inibir resposta inflamatória. Sua produção/ação defeituosa está ligada ao desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas, inclusive níveis mais baixos de IL-10 são observados em pacientes asmáticos. Além disso, a IL-10 inativa neutrófilos, eosinófilos e mastócitos no pulmão. Assim, a IL-10 está envolvida na inflamação pulmonar e na asma eosinofílica e neutrofílica.⁴⁷⁻⁴⁹

1.3 TRATAMENTO DA ASMA

Sobre o conceito de controle da asma, pode ser classificado em: controle das limitações clínicas atuais (como sintomas mínimos durante o dia, ausência de sintomas à noite, menor

necessidade de medicação de resgate e nenhuma limitação ao exercício físico) e redução de riscos futuros (exacerbações, perda progressiva e acelerada da função pulmonar e efeitos adversos do tratamento). Portanto, com estes parâmetros, a asma pode ser classificada como controlada, parcialmente controlada ou não controlada. O grau de controle é normalmente avaliado considerando as últimas 4 semanas.⁶

O Quadro 1 define a classificação do controle da asma:

Instrumento / itens	Asma controlada	Asma parcialmente controlada	Asma não controlada
GINA 1			
Sintomas diurnos > 2 vezes por semana	Nenhum	1-2 itens	3-4 itens
Despertares noturnos devido à asma			
Medicação de resgate > 2 vezes por semana			
Limitação de atividades devido à asma			
ACQ-7 25) ^a		Pontuação	
Número de despertares noturnos	≤ 0,75	0,75 a <1,5	> 1,5
Intensidade dos sintomas			
Limitação de atividades devido à asma			
Intensidade de dispneia			
Chiado (por quanto tempo)			
Medicação de resgate			
Pré-broncodilatador FEV ₁			
ACT 26			
Limitação de atividades devido à asma	≥ 20	15-19	≤ 15
Dispneia			
Despertares noturnos devido à asma			
Medicação de resgate			
Autoavaliação do controle da asma			

GINA: Iniciativa Global para Asma; ACQ-7: Questionário de Controle da Asma com 7 itens - 0-7 pontos por item; ACT: Teste de Controle da Asma - 0-5 pontos por item. ^a O ACQ pode ser usado sem espirometria, neste caso, é referido como ACQ-6. Se usado sem espirometria ou medicação de resgate, é denominado ACQ-5.

Quadro 1: Definição do controle da asma (6)

Ainda que o conceito de controle da asma expresse o grau das manifestações relacionadas ao tratamento, a gravidade refere-se à quantidade de medicamentos necessários

para o controle, refletindo uma característica da doença que pode mudar lentamente com o tempo.¹²

Uma vez que a asma é uma doença multifatorial, seu tratamento é difícil e muitas vezes não eficaz. Dentre os tratamentos medicamentosos estão incluídos agonistas adrenérgicos beta-2, broncodilatadores, estabilizadores de mastócitos, antagonistas de leucotriênos, corticóides, vacina, imunoterapia, entre outros.

6, 50-52

Porém, alguns fármacos apresentam altos custos e efeitos colaterais significativos. Nesse contexto, novas terapias são necessárias não apenas para reduzir a inflamação, mas também o desconforto respiratório.

6, 50

Apesar dos avanços do manejo farmacológico da asma, o nível de controle da doença permanece baixo, com alta morbidade, independentemente do país estudado.⁶

Muitos fatores influenciam negativamente na resposta ao tratamento como o diagnóstico incorreto, falta de adesão, uso de medicamentos que podem diminuir a resposta ao tratamento (anti-inflamatórios não esteroidais e betabloqueadores), exposição à fatores alérgenos ambientais (contendo por exemplo, poeira ou fumaça), exposição profissional, tabagismo.¹²

No caso dos corticóides, cujo uso na asma é amplo, sua segurança é também discutível, sobretudo em crianças. Estudos mostram que seu uso prolongado pode trazer efeitos adversos interferindo no desenvolvimento estaturoponderal, problemas oculares, efeitos sobre densidade mineral óssea, função adrenal e alteração de comportamento.^{2,3} Além disso, alguns pacientes são resistentes ao tratamento com tal medicamento. A dificuldade envolvida na adesão do paciente ao manejo farmacológico e estímulos que desencadeiam a asma são barreiras comuns ao sucesso do domínio da asma.^{53,54} Como já citado a maioria dos pacientes asmáticos possuem uma reação diretamente proporcional: à medida que aumentam a inflamação das vias aéreas, os sintomas aumentam e, à medida que a inflamação das vias aéreas diminui, os sintomas diminuem. Seguindo esta lógica, para a grande maioria dos asmáticos, o tratamento pode ser guiado pelos sintomas, relacionado ao aumento ou queda da dose do medicamento anti-inflamatório para atingir e manter o controle da doença.⁶

Nesse contexto, novas terapias são necessárias não apenas para reduzir a inflamação, mas também o incômodo nos sintomas.

1.4 FOTOBIMODULAÇÃO

A Fotobiomodulação (FBM) emerge como uma importante ferramenta de tratamento coadjuvante, com bons resultados para diversas doenças com caráter inflamatório, incluindo doenças no trato respiratório. ⁵⁵⁻⁶²

É definida como uma terapia baseada nos efeitos das fontes de luz LED (*Light Emitting Diode* – Diodo emissor de luz) e LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*- Amplificação da Luz por Emissão Estimulada por Radiação) sobre células e tecidos. Hoje é apontada como uma ferramenta em diversas modalidades de tratamento na equipe multidisciplinar e no controle das mais diferentes afecções e em distintas áreas da saúde. Amplamente utilizada na Rússia para o tratamento de doenças dos sistemas músculo-esquelético, nervoso, cardiovascular, doenças do ouvido, nariz e garganta, após lesões e cirurgia, na dermatologia e cosmetologia, na obstetrícia e ginecologia, urologia e andrologia, pneumologia, ou seja, em quase todas as áreas da medicina clínica moderna. ⁶³

Seu efeito tanto pode bioestimular como bioinibir dependendo do tecido alvo, da sua condição e dos seguintes parâmetros dosimétricos: Comprimento de onda (nm), Tempo de exposição (s), Potência (mW), Irradiância (W/cm²), Energia (J), Exposição Radiante (J/cm²). ⁶⁴ Apresentada cientificamente como método auxiliar no cenário de combate ao estresse oxidativo, pois produz uma alteração no potencial global redox celular, ou seja, na regulação das vias de sinalização celular como síntese de ácidos nucleicos, síntese proteica, ativação enzimática e progressão do ciclo celular. ⁶⁵⁻⁶⁸ Assim, FBM parece exercer efeitos pluripotentes com relação à modulação da inflamação e imunidade. ⁶⁹

A mesma tem sido usada experimentalmente pelo nosso grupo e também por outros para tratamento de diversas doenças pulmonares incluindo asma, fibrose pulmonar, Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), rinite e no COVID-19.

Recentemente mostramos resultados promissores com uso ^{55-58,70, 72-89} de LED aplicado localmente em modelo experimental de asma. A irradiação local do LED sobre o aparelho respiratório reduziu o infiltrado celular nos pulmões, produção de muco, edema e da resposta contrátil da traquéia. Tais efeitos foram modulados por IL-10, IFN- γ e por mastócitos. Além disso, o tratamento com LED local também aumentou os níveis de RNAm de IL-10 e IFN- γ , reduziu parcialmente o burst oxidativo elevado e aumentou a expressão de anexina V contribuindo para a menor migração de neutrófilos. Assim, esses dados mostraram, pela primeira vez, o efeito benéfico do tratamento com LED local sobre a asma induzida por ovalbumina. ⁵⁵

Em outro estudo usando modelo experimental de SDRA (Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo) induzida por LPS (Lipopolissacarídeo) mostramos que o tratamento com LED através da FBMV reduziu o influxo de neutrófilos migrados para os pulmões, níveis de IL-1 β , IL-6, IL-17 no fluido do lavado broncoalveolar (LBA) e atividade de MPO (Mieloperoxidase).⁹⁰

Usando um modelo experimental de fibrose pulmonar, nosso grupo mostrou que a FBM com LED localmente melhora os parâmetros inflamatórios e fibróticos apresentando-se como uma terapia promissora com baixo custo e ausente de efeitos colaterais. Nesse estudo 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.⁵⁸

Recentemente diante da pandemia do COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*), estudos sugerem atuação da FBM 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.⁷⁸⁻⁸⁹

Ainda sobre efeitos da FBM, atua na redução da inflamação sem prejudicar a função em lesões pulmonares agudas e considerada uma abordagem terapêutica promissora para patologias como a doença pulmonar obstrutiva crônica entre outras.⁷¹

Acredita-se que com a FBM haja uma modulação relacionada à atividade de macrófagos, neutrófilos e linfócitos que atuarão na inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias e bloqueio na infiltração destas células de defesa para que não penetrem na lesão.

⁹¹ Outro mecanismo estaria relacionado aos glóbulos vermelhos e suas concentrações durante a irradiação com LASER de baixa intensidade pelo aumento da saturação de oxigênio (Spo₂) e captação de oxihemoglobina com impacto positivo no sistema de defesa e respiratório.⁹²

1.5 FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR

Além da aplicação local da FBM nas doenças respiratórias a literatura científica também apresenta uma outra modalidade para entrega dos fótons que acontece de através da técnica de Irradiação de sangue com LASER Intravascular, conhecida por sua sigla ILIB (*Intravascular*

Laser Irradiation of Blood- Irradiação Intravascular do sangue com LASER) ou Fotobiomodulação Vascular (FBMV) que sugere promoção de efeitos sistêmicos no mecanismo de defesa anti-inflamatório e antioxidante como método de ajuda no cenário de doenças respiratórias, que também apresentam estresse oxidativo. ⁹³⁻⁹⁷

Em sua origem, o ILIB apresentava-se de forma invasiva, o que limitava sua aplicação. Neste sentido, estudos recentes sugeriram efeito semelhante à técnica original, todavia, de forma modificada, ou seja, como método não-invasivo. O método é baseado em uma permeabilidade relativamente alta da pele e tecidos hipodérmicos para a radiação do comprimento de onda 635nm (espectro vermelho) e com uso da fonte de luz LASER ou LED. Dessa maneira caracteriza-se o modelo atual da FBM Vascular (FBMV).

O ILIB pode ser utilizado de acordo com seus comprimentos de ⁹⁵⁻¹⁰⁰ onda e ação almejada como 635nm (espectro vermelho, com efeito positivo no sistema imunológico e fornecimento trófico de tecido), 525nm (espectro verde, para o aumento máximo do fornecimento trófico de tecido), 365 nm ou 405 nm, espectro UV (ou seja, Ultra Violeta, chamado de ULIB, para correção de distúrbios imunológicos como resultado de doença ou lesão). ⁹⁹

Já o ILIB não invasivo (FBMV) é realizado sobre grandes vasos sanguíneos (artérias), por emissores do comprimento de onda vermelho (635 nm) ou infravermelho (890-904 nm). ^{63,94}

Com relação aos efeitos fotoquímicos, há presença de biomoléculas sensíveis à certos comprimentos de onda. A absorção dos fótons pelas mesmas pode gerar alterações em suas atividades como estímulo ou inibição de enzimas, reações fotoquímicas que podem alterar processos fisiológicos. ^{101,102}

Autores citam ainda a terapia a LASER intracavitária (endonasal e endoauricular) com fornecimento de energia de luz LASER na área afetada, localizada em uma cavidade natural, por meio de um guia de luz especial (fibra óptica). ⁶³

Consideramos que o sistema vascular tem importantes funções reguladoras, incluindo a transferência de oxigênio para os tecidos, entrega de nutrientes, drenagem de fluídos e toxinas, além de exercer importante papel no sistema imunológico pela ativação e mobilização de células imunocompetentes para os vários órgãos. ^{103,104}

Acreditamos que o efeito da FBMV nas células imunocompetentes presentes no sistema vascular pode alterar a atividade das mesmas, a fim de melhorar a resposta pulmonar. Reputamos que ações nas células circulantes antes mesmo de atingirem os pulmões podem

representar uma importante estratégia de tratamento.

A FBMV apresenta-se nas bases científicas como terapia nas mais diversas patologias.¹⁰³⁻¹⁰⁵ Pesquisa com ratos espontaneamente hipertensos mostrou que a FBMV com LASER aplicada na cauda foi capaz de produzir alterações hemodinâmicas refletindo em significativa redução dos níveis pressóricos.¹⁰⁶

Outro estudo demonstrou que a terapia com FBMV foi eficaz na redução da dor e na melhoria da qualidade de vida em pacientes com neuropatia diabética.¹⁰⁷

Autores descrevem o ILIB por via intravenosa destacando seu efeito anti-inflamatório, vasodilatador, redutor da agregação plaquetária e consequente interferência na oxigenação.¹⁰⁸ Dessa forma, a FBMV abre possibilidades de apoio aos tratamentos para diversas patologias pulmonares crônicas, cujos tratamentos farmacológicos não são satisfatórios.

Sobre a busca em bases de dados científicos sobre a FBMV, especificamente dados de ensaios clínicos, há grande dificuldade pela falta de padronização e presença de diversas nomenclaturas como Fotobiomodulação Sistêmica, ILIB Modificado, Irradiação Transcutânea a LASER modificada, Irradiação de Sangue Não Invasiva, Tratamento Sistêmico com Fotobiomodulação, LASER Intradérmico no Sangue Modificado, Fotobiomodulação Transdérmica, entre outras. Ainda, há o problema de as publicações serem apresentadas na língua estrangeira russa (ou chinesa), materiais e métodos incompletos, sem clareza, muitas vezes apenas no formato de resumo cujos resultados descritos sobre os efeitos da FBMV chamam a atenção e sobre a resolução de processos inflamatórios e estresse oxidativo nas doenças, incluindo as respiratórias.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Ainda, vale ressaltar que nosso trabalho utiliza a fonte de luz LED na FBMV, o que torna mais ausente o número de referências e nos leva à busca de dados científicos com LASER, em sua grande maioria, para respaldar nossa pesquisa.

Diante da literatura científica disponível em bases de dados como Pubmed, Scielo, Google Scholar seguem algumas colocações importantes para a realização desse estudo.

1.5.1 Fotobiomodulação Vascular nas doenças respiratórias

Dentre estes achados, com relação às doenças respiratórias, autores relataram resultados do ILIB combinado com outras terapias em 100 pacientes com bronquite obstrutiva crônica. O ILIB trouxe efeito favorável na normalização dos parâmetros de peroxidação lipídica, regulação imunológica e anti-inflamatória, controle do sistema de coagulação sanguínea e melhoria as

propriedades reológicas do sangue. O ILIB incluído no complexo de medidas terapêuticas teve acréscimo na eficiência no tratamento em pacientes com bronquite obstrutiva crônica em 12,0% ($\pm 2,6$).⁹⁷

Outro achado científico trouxe o efeito do ILIB em crianças com pneumonia destrutiva bilateral. Revelou-se diminuição da viscosidade sanguínea, assim efeito hipocoagulativo da laserterapia intravascular.⁹⁸

Estudo inseriu o ILIB no complexo de preparação pré-operatória em pacientes com doença pulmonar crônica. Após a realização de 5 procedimentos em grupo tratado com ILIB, observou-se rápida normalização dos índices de composição morfológica dos gases, estado ácido-base do sangue, estado imunológico do organismo e funções de respiração externa em comparação com um grupo controle. A incidência de complicações pós-operatórias diminuiu 4% e houve queda no tempo de internação.¹¹²

Grupo de pesquisadores relatou um efeito bacteriostático do ILIB no crescimento de tuberculose e ainda, sem efeitos colaterais. Como resultado após 10-12 sessões houve redução na infiltração e também destruição da bacilose. Concluíram que o maior efeito ocorreu na tuberculose infiltrativa.¹¹³

Sobre as propriedades reológicas do sangue em pacientes com pneumonia aguda, pesquisa utilizou irradiação do fascículo vascular com LASER, durante 40 minutos. Os resultados demonstraram efeitos imediatos como redução na viscosidade sanguínea, incremento nas propriedades visco elásticas e resistência osmótica dos eritrócitos.¹¹⁴

Em outro grupo de autores, avaliaram a eficácia do tratamento com ILIB em pacientes com bronquite obstrutiva crônica em exacerbação. O tratamento ocorreu em dois grupos, ambos com bronquite obstrutiva crônica, sendo um tratado com ILIB, e o grupo controle sem ILIB. Além dos métodos convencionais de exame e controle do efeito do tratamento, foram realizados testes citológicos e bacteriológicos. O tratamento da bronquite obstrutiva crônica com ILIB promoveu ação anti-inflamatória, normalização do transporte mucociliar, ativação da fagocitose e defesa imunológica, limpeza da árvore brônquica e redução da obstrução. A internação diminuiu em 3-4 dias.¹¹⁵

Outra pesquisa relata diferentes métodos de uso do LASER nos períodos pré-operatório e pós-operatório de abscessos pulmonares crônicos. Durante o pré-operatório, pacientes do grupo, juntamente com o tratamento padrão, receberam terapia ILIB e FBMV. Durante o

tratamento pós-operatório com ILIB, mudanças notáveis foram observadas na função atividade das células T e B. O uso do LASER no complexo do tratamento cirúrgico de pacientes com quadro de abscessos pulmonares crônicos permitiu alcançar melhora da qualidade e encurtamento dos prazos pré-operatório como preparação para nivelar a influência imunossupressora da cirurgia, para reduzir a quantidade de as complicações e duração do pós-período pós-operatório. ¹¹⁶

Observou-se o tratamento com ILIB de 2 a 4 semanas após o início da quimioterapia em adolescentes com tuberculose aguda progressiva. A avaliação se deu por critérios laboratoriais e clínicos obtidos após 1,5 a 2 meses, e observou melhora na cicatrização possibilitando o curso da tuberculose com menos alterações pulmonares. ¹¹⁷

Trabalho avaliou efeitos do ILIB no sistema hemodinâmico de pacientes com exacerbação de bronquite obstrutiva crônica. A terapia consistiu em 10 procedimentos de 20 minutos cada, contudo não explica claramente os parâmetros. Como resultados observaram que a administração da terapia medicamentosa com a associação ao LASER demonstrou maior eficácia. Ainda, o próprio ILIB teve um efeito positivo ao mudar a cinética hemodinâmica. ¹¹⁸

Em artigo de revisão, concluiu-se que o ILIB melhora as propriedades reológicas do sangue irradiado, estimula células sanguíneas e teciduais e melhora sistema autoimune. Ainda, a terapia oferece alta performance, períodos de tratamento mais curtos e maior latência de tratamento, mesmo em doenças pulmonares. Quando utilizado como terapia combinada apresenta melhora na eficácia e nos resultados de outras terapias. ¹¹⁹

Estudo sobre ILIB mostrou eficácia do tratamento em pacientes com bronquite obstrutiva crônica. Entre as ações da irradiação sanguínea (combinada com outras terapias), os autores mencionaram a redução dos sintomas clínicos, melhora na drenagem dos brônquios e imunologia normalizada. ¹²⁰

Trabalho elucidou ações do ILIB em pacientes com pneumonia adquirida na comunidade. O tratamento se deu por ILIB com 405nm, durante 7 dias. Avaliou-se a atividade funcional dos neutrófilos. Os resultados demonstraram melhora significativa no grupo de pacientes que recebeu os tratamentos de ILIB, cujo efeito promove sensivelmente a normalização da atividade bactericida dos neutrófilos. ¹²¹

Ainda sobre doenças respiratórias, pesquisa relatou uso do ILIB em pacientes com tuberculose pulmonar nos estágios iniciais da quimioterapia. Observou que a técnica aumenta

a eficácia do tratamento, contribui para a cessação bacteriana, além de reduzir o tempo de internação hospitalar. A ação se apresenta na melhoria da microcirculação sanguínea, vasodilatação, ação analgésica, função do transporte de oxigênio no sangue, normalização dos processos metabólicos (proteínas, lipídios, carboidratos, equilíbrio energético intracelular) bem como processos regenerativos. ¹²²

1.5.2 Fotobiomodulação Vascular na Asma

Tratando-se de achados agora especificamente sobre asma, autores adicionaram ILIB ao tratamento convencional para asma bacteriana. A resposta clínica foi a cessação dos ataques de asfixia que permitiu a descontinuação ou redução da administração de glicocorticoides, queda na duração das exacerbações e estímulo do sistema antioxidante sanguíneo. ¹²³

Em estudo com asma brônquica infecciosa alérgica, pacientes foram expostos ao ILIB e grupo controle recebeu quimioterapia. No grupo tratado com ILIB, a contagem e proliferação de linfócitos, a concentração de imunoglobulinas e houve inibição da atividade do metabolismo dependente de oxigênio e redução da capacidade de absorção de neutrófilos. Concluem que a restauração da função normal celular pode servir como um critério de eficácia do ILIB. ¹²⁴

Em trabalho posterior, pesquisa destacou a alta eficácia do ILIB em pacientes com asma brônquica com resultado na redução nas doses dos glicocorticoides, aumento nos tempos de remissão, retorno dos pacientes ao trabalho, além do efeito estimulante no sistema antioxidante do sangue. ¹²⁵

Na asma brônquica de gênese endógena a eficácia do ILIB associado ao tratamento em centro de saúde, ao final de 24 dias, trouxe melhorias clínicas nos parâmetros respiratórios externos e inflamação aliviada de acordo uma pesquisa. ¹¹¹

Um estudo clínico com ILIB observou aumento na eficiência da troca de gases em pacientes asmáticos. Ainda que a terapia medicamentosa seja amplamente utilizada e necessária, o ILIB provou ser útil em condições de hipercapnia, hipóxia e disfunção de troca de gás. ¹²⁶

Em pacientes com asma brônquica, autores compararam a resposta clínica em grupos tratados com ILIB, plasmaférese (PA), ILIB associado à PA, e grupo com quimioterapia. Pacientes do grupo ILIB, PA e ambos associados comparados ao grupo quimioterapia

demonstraram precoce desaparecimento da tosse, normalização do quadro auscultativo pulmonar, decréscimo na demanda de glicocorticosteroides orais, remissão 2 vezes mais longa, melhoria na função respiratória externa, normalização mais precoce do pico de fluxo expiratório. Além disso, ativaram a função do sistema bactericida dependente de oxigênio dos neutrófilos do sangue e inibiram a atividade do sistema não dependente de oxigênio. O ILIB e PA isolados ou em combinação são mais eficazes do que a terapia medicamentosa convencional. ¹⁰⁹

Investigou-se ação do ILIB na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em pacientes com asma brônquica. A geração total de EROs no sangue foi registrada com quimioluminescência dependente de luminol e ILIB foi adicionado à terapia básica. Como resultado, o ILIB aumentou a produção de EROs no sangue total de pacientes com asma brônquica. ¹²⁷

Na asma infecciosa, outros autores analisaram a morfometria e a mobilidade eletroforética dos glóbulos vermelhos. Pacientes com a patologia foram submetidos ao ILIB antes e depois do tratamento convencional, comparados ao grupo tratado apenas com medicamentos. Os pacientes submetidos ao ILIB apresentaram melhores parâmetros morfofuncionais de glóbulos vermelhos, restauração das suas formas normais, diminuição das formas de transição e aumento da mobilidade eletroforética para valores normais, diferentemente dos que receberam terapia medicamentosa. Assim, a ferramenta propiciou em pacientes asmáticos, alterações na morfologia e função dos glóbulos vermelhos. ¹²⁸

Em recente revisão de literatura, autores trouxeram algumas considerações importantes sobre trabalhos, muitos em russo. ⁶³ Neste trabalho consideram como a primeira experiência realizada com a técnica ILIB em 633 nm, em pacientes com asma brônquica no início dos anos de 1980, ou seja, muito próximo do surgimento da ferramenta. Ainda, este comprimento de onda seria eficaz em pacientes com a chamada variante atópica da asma brônquica. Para pacientes dependentes de esteroides, o ILIB permite reduzir a dose de glicocorticosteroides e até mesmo descontinuí-los. Citam ainda que, a FBM tem efeito imunomodulador, ajusta a relação entre os sistemas oxidante e antioxidante e normaliza os indicadores da função respiratória, podendo reduzir o número de dias de tratamento e prolongar os períodos de remissão em 2,4 vezes em pacientes com asma brônquica. ⁶³

Na revisão, houve um achado sobre pacientes com asma brônquica, cuja síndrome de hiperviscosidade possuíam algumas características como aumento da viscosidade do sangue

total em baixas taxas de cisalhamento, aumento da hiperagregação, equinocitose, tendência das plaquetas para agregação lenta e fracamente reversível. Assim, o ILIB com comprimento de onda 633 nm, em 10 procedimentos num curso diário no tratamento abrangente de pacientes com asma brônquica trouxe resultados positivos em quase todas as avaliações, com exceção nas propriedades de agregação de plaquetas. A aplicação de ILIB em pacientes asmáticos também permitiu a diminuição na dose medicamentosa em mais de 20% e a queda no tempo de internação dos pacientes em média em 2,91 dias.⁶³

A revisão ainda traz um artigo encontrado sobre o uso de ILIB (633 nm) para tratar a asma com efeitos normalizadores mais pronunciados sobre a desobstrução brônquica, redução no grau de hipoxemia, assim, melhora do quadro clínico da doença.⁶³

Na mesma revisão houve um achado que cita o efeito sinérgico de medicamentos e terapias a LASER na hemodinâmica central, microcirculação e propriedades reológicas do sangue, o que torna possível retirar medicamentos β 2-agonistas prolongados e reduzir doses de glicocorticosteroides sistêmicos. Portanto, prescrever ILIB seria benéfico para compensar o efeito negativo da terapia com glicocorticóides sobre o estado morfofuncional da microhemocirculação endobrônquica.⁶³

Dentre os achados ainda, o ILIB no comprimento de onda 635nm possui propriedades imunomodulatórias nos elementos linfóides do sangue periférico indicado para pacientes com asma brônquica. Sofrem alterações nestes pacientes o conteúdo de substâncias fisiologicamente ativas, incluindo hormônios glicocorticoides.⁶³

Em resumo russo trazido pela revisão, relata que pacientes com asma na fase aguda possuem desequilíbrio entre peroxidação lipídica e o sistema antioxidante, o que contribui para queda da atividade antioxidante do sangue. Isto gera hiperprodução significativa de metabólitos de radicais livres e redução na atividade de enzimas antioxidantes intracelulares. O uso de glicocorticoides inalados com o tratamento padrão de pacientes com asma brônquica leva à dinâmica positiva dos parâmetros clínicos e funcionais, mas não impacta saudavelmente nos parâmetros de peroxidação lipídica e o sistema antioxidante.⁶³

São observados distúrbios significativos no sistema antioxidante em pacientes com asma brônquica dependentes de hormônio. A revisão sobre ILIB cita autores que elucidam melhores resultados após ciclo de tratamento (de 633 nm) no caso desses pacientes. Resultados que se correlacionam com aumento significativo na atividade de enzimas antioxidantes e uma diminuição na intensidade de peroxidação lipídica. Para os mesmos pesquisadores, com o ILIB

observa-se diminuição na dosagem média de glicocorticoides sistêmica e uma transição para drogas inaladas. Citam que pacientes que receberam ILIB versus pacientes que foram tratados tradicionalmente, apresentaram diminuição no número de ataques de asma, substituição de ataques em grande escala de asfixia por sintomas de obstrução brônquica dinâmica e queda na intensidade da tosse. Ainda, houve redução significativa de broncodilatadores e doses de glicocorticoides, queda na taxa média de ocupação de leitos e melhora pronunciada na função respiratória em pacientes com asma recentemente desenvolvida. ⁶³

A revisão cita pesquisadores que mostraram que o ILIB no tratamento de pacientes com asma brônquica permitiu atingir a remissão em 92,1% dos casos e a fase de remissão instável em 7,9%. Pacientes tratados com ILIB tiveram diminuição em 5–6 dias ou ausência do número de crises de asma, versus grupo controle (8–10 dias). Houve queda na concentração de moléculas com peso médio em relação ao nível inicial e normalização dos compostos intermediários e finais na dinâmica de acúmulo de produtos de peroxidação lipídica. ⁶³

Na mesma revisão, citam trabalhos sobre ILIB e sua tendência mais pronunciada na normalização do sistema antioxidante. Traz pesquisa após tratamento com ILIB com redução da dispneia, melhora na função respiratória externa, recuperação mais rápida do fluxo sanguíneo alveolar e relato do efeito estimulante nos parâmetros de nível celular da atividade fagocítica dos neutrófilos. ⁶³

O ILIB como monoterapia pode ser usado com sucesso em pacientes com asma brônquica com doença leve e polialergia medicamentosa, conforme autores citados na revisão ⁶³

Dentre as vantagens no uso do ILIB como terapia na asma brônquica dependente de infecção estão a aceleração do tempo para o início da remissão, redução na frequência de exacerbações e diminuição da quantidade de terapia com drogas, conforme trabalhos trazidos na revisão. Ainda o ILIB (635nm) no tratamento da asma brônquica faz com que haja estimulação de receptores β -adrenérgicos, acréscimo da atividade funcional de linfócitos, leucócitos e atividade fagocítica de neutrófilos e monócitos, normalização dos níveis de imunoglobulinas e complexos imunes circulantes, além da restauração de agregação do sangue.

⁶³

Pesquisa elucidada efeitos positivos do ILIB na morfologia e função das hemácias e alterações estruturais conforme a revisão. Há efeito corretivo no sistema hemostático, otimizando principalmente a fibrinólise dependente da caliceína por fator de Hageman, além

de propriedades antiagregantes, redução do potencial de coagulação, aumento da atividade antioxidante do sangue e queda dos níveis de colesterol pré-beta e beta.⁶³

Portanto, todos os achados citados anteriormente demonstram efeitos benéficos da aplicação da FBM de forma sistêmica.

Considerando então que esta seja uma abordagem terapêutica promissora e com poucos estudos publicados sobre a FBMV, com dados na íntegra e em língua inglesa, novas pesquisas são necessárias e poderão contribuir para a elucidação dos mecanismos envolvidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Tendo em vista que a asma é uma importante doença respiratória crônica cujos tratamentos farmacológicos são muitas vezes ineficazes e com efeitos colaterais importantes, nosso objetivo foi avaliar o efeito da FBMV sobre o desenvolvimento da asma. Para isso foram investigados os parâmetros abaixo:

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Análise da inflamação pulmonar
- Degranulação de mastócitos
- Avaliação de títulos de anticorpos anti-ovalbumina
- Análise dos níveis e expressão gênica das citocinas inflamatórias, anti-inflamatórias e moduladoras

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos à avaliação do Comitê de Ética da Universidade Nove de Julho (CEUA – 8964280520) de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aos padrões de experimentação animal do Comitê de Ética em Experimentação Animal.

3.2 ANIMAIS

Ratos Wistar machos adultos provenientes do biotério de criação da Universidade Nove de Julho e foram 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).

3.3 GRUPOS DE ESTUDO

Os ratos foram distribuídos em 3 grupos experimentais descritos abaixo:

Grupo B: ratos não manipulados

Grupo A: ratos submetidos a asma

Grupo A+FBMV: ratos submetidos a asma e tratados sistemicamente pela artéria caudal com LED

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

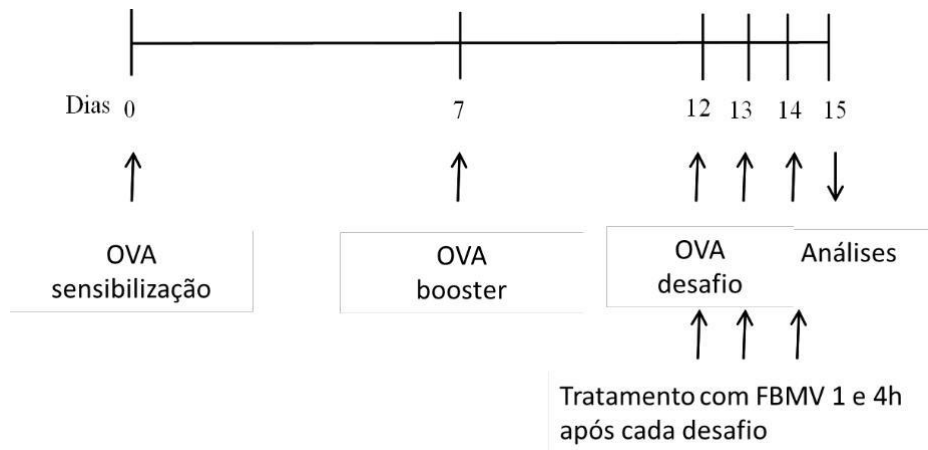


Figura 1: Desenho experimental

3.5 INDUÇÃO DA ASMA EXPERIMENTAL

Grupos de animais receberam 10 µg de ovoalbumina (OVA, grau II) dissolvidas em alúmen (10 mg) por via subcutânea. Após 7 dias da sensibilização os animais receberam o reforço pela mesma via e nos dias 12, 13 e 14 foram broncoprovocados com solução de ovoalbumina (1%). As sessões de inalação foram realizadas por 15 min cada, em caixa plástica (20 L) acoplada a um nebulizador ultrassônico (Icel[®]) com capacidade de produzir névoa com partículas entre 0,5 a 1,0 micron.

O período total de 14 dias de sensibilização foi escolhido visto que de acordo com Coleman et al (1983) após a injeção intraperitoneal de ovoalbumina emulsificada em alúmen, os níveis circulantes de anticorpos (IgE) aumentam rapidamente entre 7 e 14 dias. As avaliações foram conduzidas após 24 horas da última broncoprovocação.¹²⁹

3.6 TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR (FBMV)

Utilizamos o BIOLAMBDA LEDsabr- BLACKBOX MINI, São Paulo, Brasil para tratar os animais. Os animais foram irradiados 1 e 4 h após os desafios com OVA na cauda por contato direto na pele. O protocolo de tratamento bem como os parâmetros dosimétricos foram baseados em estudos anteriores^{55, 90}, descritos no quadro 2 a seguir:

Potência	100 mW
Regime Temporal	Contínua (Cw)
Comprimento de onda	660±10nm
Emissão Radiante Total	15 J
Feixe de saída	2,8 cm ²
Exposição radiante	5,35 J/cm ²
Irradiância	33,3 mW/cm ²
Tempo total	150 segundos
Método de Irradiação	Pontual na artéria caudal via transcutânea
Frequência de tratamento	3 dias consecutivos, 2 vezes ao dia

Quadro 2: Parâmetros dosimétricos do tratamento com FBMV

3.7 ANÁLISE DA INFLAMAÇÃO PULMONAR

Quantificamos o número total de células migradas para o espaço alveolar pelo lavado broncoalveolar (LBA). A traqueia foi canulada e os pulmões foram lavados duas vezes com PBS (pH=7,4, 10 ml). A lavagem coletada foi centrifugada (1500 rpm por 15 minutos a 20°C), e a parte de célula foi resuspendida em 1 ml de PBS. A suspensão celular foi manchada com cristal violeta e o número total de células foi determinado microscopicamente usando uma câmara de Neubauer (objetivo do microscópio 40 x).

3.8 DEGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS

Fragmentos de pulmão 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 (Zeiss, GR) e desparafinados. Na sequência, lâminas (5 mm de espessura) foram coradas com hematoxilina e eosina para análise morfológica e com azul de toluidina para análise de mastócitos. As quantificações foram realizadas por meio do software Image J.

3.9 AVALIAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-OVALBUMINA

A reação de anafilaxia cutânea passiva é um ensaio usado para medir indiretamente os anticorpos anafiláticos em ratos. A reação cutânea dependente de imunoglobulina E (IgE) foi gerada pela sensibilização da pele de ratos não tratados com uma reação intradérmica com injeção de soro de ratos sensibilizados diluídos em série (1: 2 a 1: 256). Após 24 horas de administração cutânea de soro diluído, ratos receptores admitiram por via intravenosa uma solução contendo 500 mg de OVA mais 2,5 mg de corante azul de Evans dissolvido em NaCl (0,9%). Trinta minutos depois, os ratos foram sacrificados, a pele foi removida e o diâmetro do corante foi determinado pelo tamanho da mancha causada pelo corante medido na superfície interna da pele. Os títulos de anafilaxia foram representados pela maior diluição de soro resultando em uma mancha maior que 5 mm de diâmetro. ¹³⁰

3.10 ANÁLISE DE RESPOSTA DE CONTRAÇÃO TRAQUEAL

A força isométrica de contração foi quantificada em anéis de traqueia montados em banho para órgão isolado de 15 ml, por meio de dois ganchos de aço. A contração máxima foi determinada utilizando um transdutor de força de deslocamento acoplado a um sistema de aquisição de dados (Powerlab®, LabChart, AD Instruments). Para tanto, anéis de traqueia foram suspensos em solução de Krebs-Hanseleit (KH) continuamente aerada (95% O₂ e 5% de CO₂) a 37°C. Após um período de equilíbrio de 40 minutos, a tensão traqueal foi ajustada para 0,5 g e a viabilidade dos tecidos foi determinada através da substituição da solução de KH por KCl 60 mM. Em seguida, o tecido foi lavado e administrado na cuba o agonista colinérgico Mmetacolina (MCh, 10⁻³ M) a fim de se obter uma resposta contrátil máxima.

3.11 ANÁLISE DOS NÍVEIS E EXPRESSÃO GÊNICA DAS CITOCINAS

Citocinas (IL-4, IL-5, TNF- α e IL-10) foram investigadas no fluído do LBA, bem como no tecido pulmonar. Os níveis de citocinas foram determinados pela ELISA, de acordo com as instruções do fabricante (BD® Biociências, Nova Jersey, EUA) e os resultados foram expressos como pg/ml.

A expressão gênica das citocinas foi determinada pelo ensaio RT-PCR. As amostras pulmonares foram congeladas em nitrogênio líquido. O RNA total foi isolado usando Reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia) de acordo com o protocolo fornecido pela Invitrogen. As concentrações de RNA foram determinadas por leituras espectrofotômetros em absorvância de 260 nm. CDNAs de primeira linha foram sintetizados usando a transcrição reversa MML-V (Promega, Madison, Wisc). O RT-PCR em tempo real foi realizado utilizando-se o ensaio de Taqman (Applied Biosystem, EUA). As condições dos ciclos foram: 10 minutos a 95 ° C, seguido de 45 ciclos de 20 segundos a 95 ° C, 20 segundos a 58 ° C e 20 segundos a 72 ° C. O Sequence Detection Software 1.9 (SDS) foi utilizado para a análise e a expressão de RNAm foi normalizado para expressão do HPRT.

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Kolmogorov-Smirnov mostrou que os dados obtidos eram paramétricos ($p > 0,05$). Os dados foram expressos como média \pm EPM (erro padrão da média), e as comparações entre os grupos experimentais foram analisadas pela ANOVA One Way, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls para múltiplas comparações usando o software de prisma GraphPad V.5. Os valores p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR REDUZIU A MIGRAÇÃO CELULAR PARA O LBA

A Figura 2 mostra que a FBMV reduziu o número de células recrutadas para o LBA nos ratos asmáticos. Também mostra aumento do número de células recrutadas para o LBA no grupo A quando comparadas ao grupo B.

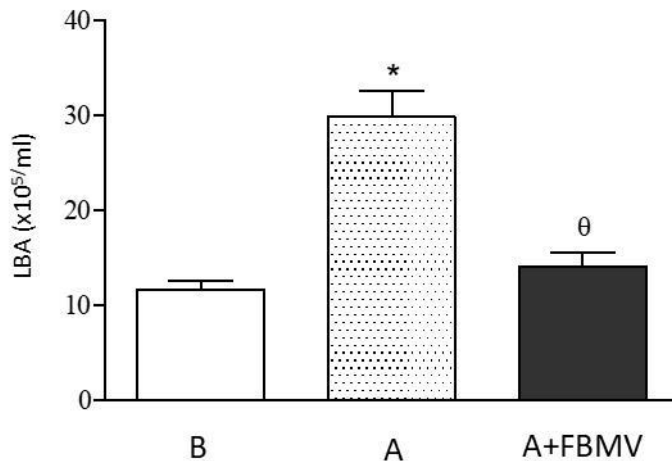


Figura 2: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) sobre o número de células migradas para o LBA nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última Indução de OVA. Após 24 horas de indução de OVA, o número de migração celular foi quantificado para o LBA. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo. *P < 0,05 em relação ao grupo B; θ P < 0,05 em relação ao grupo A (ANOVA One-way)

4.2 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR REDUZIU A DEGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS

Na Figura 3, o painel A mostra grupo basal de mastócitos (seta). No painel B, os animais submetidos à asma têm intensa degranulação de mastócitos (setas) e infiltração inflamatória perivascular (ponta da seta). No painel C, os animais asmáticos tratados com FBMV apresentam redução da degranulação de mastócitos (setas) e infiltração inflamatória perivascular (ponta da seta). Cor azul de toluidina. Barra = 50 μ m.

Na Figura 4, observa-se a porcentagem de degranulação de mastócitos. Os resultados mostraram redução da degranulação de mastócitos no grupo FBMV em relação ao grupo A. Além disso, também houve aumento da degranulação de mastócitos em ambos os grupos A e FBMV quando comparados ao grupo B.

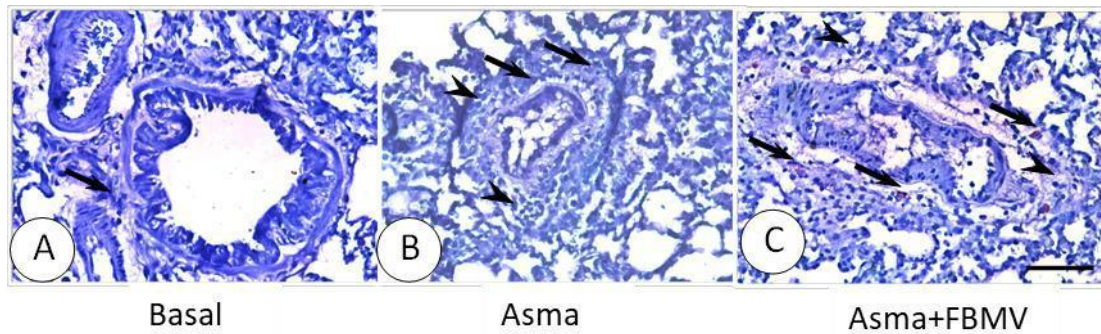


Figura 3: Fotobiomodulação Vascular reduziu a degranulação de mastócitos. Grupos de ratos foram sensibilizados (dias 1 e 7, OVA subcutânea) e 12, 13, 14 dias os animais foram submetidos a um desafio OVA inalado (aerossolizado 1 % OVA, 15 min). Além disso, o grupo de ratos foi tratado com FBMV 1 e 4h após cada desafio de OVA ou não. A análise foi realizada 24 horas após o último desafio de OVA. Os painéis A, B, C representam a degranulação de mastócitos nos grupos Basal, Asma e Asma+FBMV, respectivamente

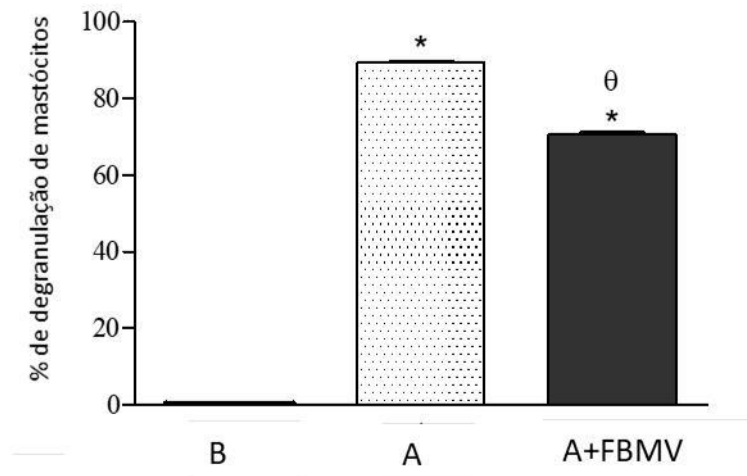


Figura 4: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) na degranulação de mastócitos nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última indução de OVA. Após 24 horas de indução de OVA, a degranulação de mastócitos foi quantificada. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo. *P < 0,05 em relação ao grupo B; θ P < 0,05 em relação ao grupo A (One-way ANOVA)

4.3 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-OVALBUMINA

Na Figura 5 observa-se que a FBMV não alterou a produção de títulos de anticorpos anti-ovalbumina. Observa-se também que no grupo B não houve produção de títulos de anticorpos anti-ovalbumina.

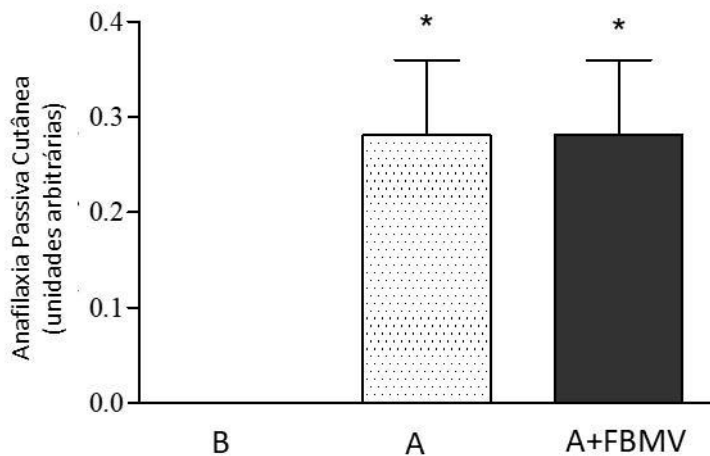


Figura 5: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) nos títulos de anti-ovalbumina nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última indução de OVA. Após 24 horas de indução de OVA, a produção de títulos de anticorpos anti-ovalbumina foi quantificada. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; $\Theta P < 0,05$ em relação ao grupo A (One-way ANOVA)

4.4 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU A RESPOSTA DE CONTRAÇÃO TRAQUEAL À METHACHOLINA (MCH)

A Figura 6 mostra que a FBMV não alterou a elevada capacidade de resposta traqueal à MCh nos ratos asmáticos. Não foram observadas diferenças entre os grupos A e FBMV. Também mostramos aumento da capacidade de resposta traqueal nos grupos A e FBMV quando comparados ao grupo B.

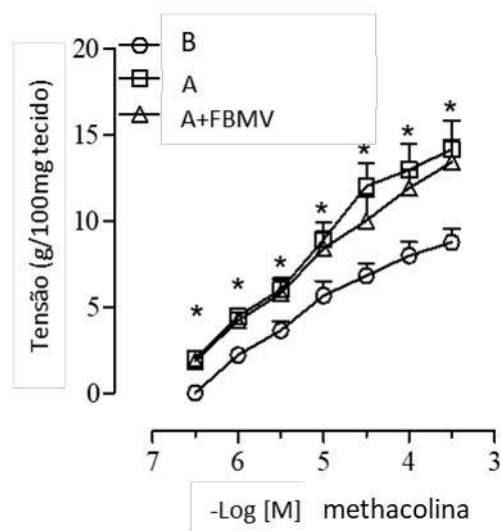


Figura 6: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) na resposta de contração traqueal à metacolina (MCh) nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última indução de OVA. Após 24 horas de indução de OVA, a resposta traqueal para a metacolina (MCh) foi quantificada. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo. * $P < 0,05$ em relação ao grupo B; $\Theta P < 0,05$ em relação ao grupo A (One-way ANOVA)

4.5 A FOTOBIMODULAÇÃO VASCULAR AUMENTOU OS NÍVEIS DE IL-10 NO FLUIDO LBA

A Figura 7 (Painéis A, B e C) mostra que a FBMV não alterou os níveis de IL-4, IL-5 e TNF- α no fluido do LBA quando comparado ao grupo A. Como pode ser visto no painel D, a FBMV aumentou o nível de IL-10 em relação ao grupo A.

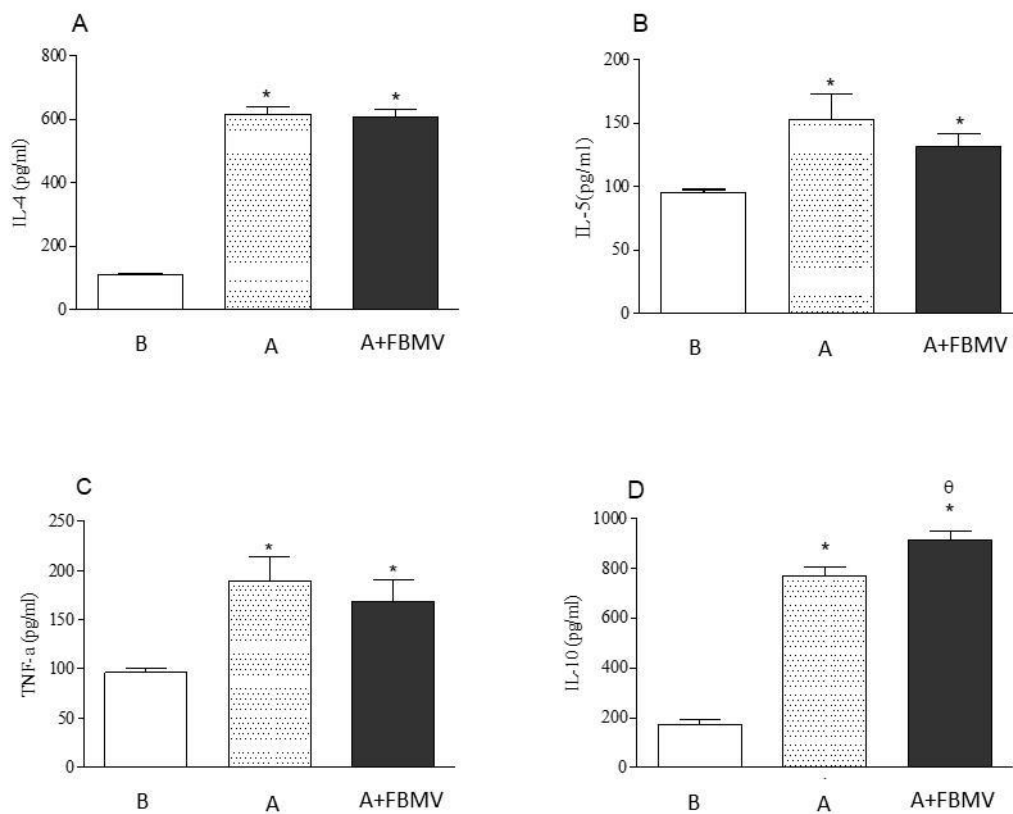


Figura 7: O papel da Fotobiomodulação vascular (FBMV) nos níveis de IL-10 no fluído do LBA nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última indução de OVA. Após 24 horas de indução de OVA, os níveis de IL-10 foram quantificados no fluído do LBA. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo.*P < 0,05 em relação ao grupo B; θ P < 0,05 em relação ao grupo A (One-way ANOVA)

4.6 A FOTBIOMODULAÇÃO VASCULAR NÃO ALTEROU A EXPRESSÃO GÊNICA DAS CITOCINAS NO PULMÃO

A Figura 8 (Painéis A, B, C e D) mostra que a FBMV não alterou a expressão gênica de IL-5, IL-4, TNF- α e IL-10 no tecido pulmonar quando comparado ao grupo A. Observou-se também expressão gênica elevada de IL-5, IL-4, TNF- α e IL-10 em ambos os grupos A e FBMV, em relação ao grupo B.

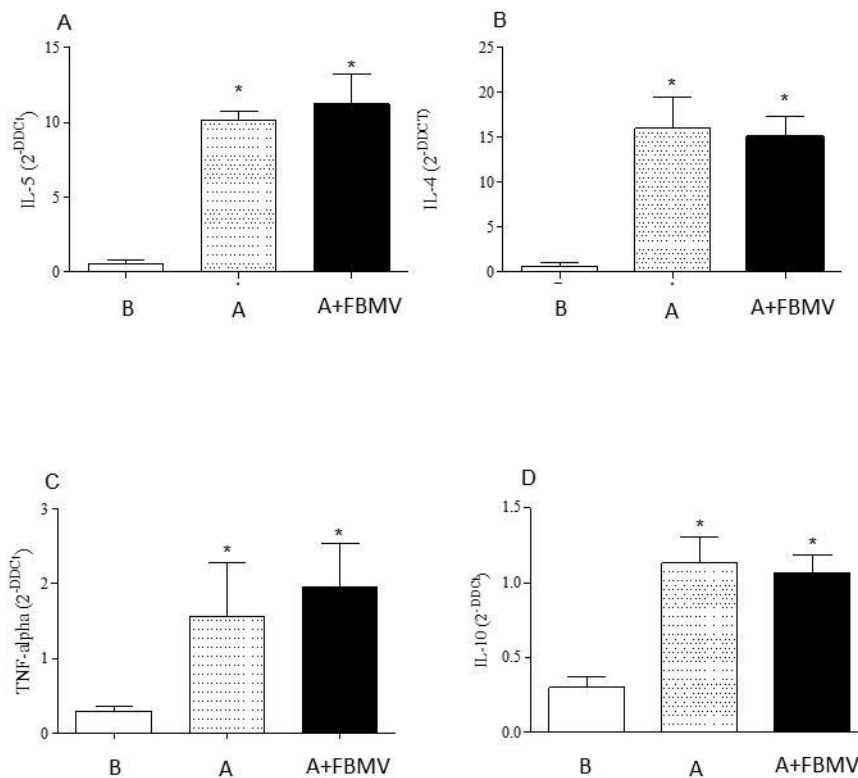


Figura 8: O tratamento FBMV não alterou a expressão gênica de citocinas no pulmão nos ratos asmáticos. Os ratos foram submetidos ou não à asma e tratados ou não com FBMV 1 e 4h após a última indução de OVA. Vinte e quatro horas após a indução de OVA, a expressão genética das citocinas foi quantificada no pulmão. Os dados representam a média \pm de 6 animais por grupo.*P < 0,05 em relação ao grupo B; Θ P < 0,05 em relação ao grupo LPS (One-way ANOVA)

5 DISCUSSÃO

Devido à gravidade com relação ao grande número de pacientes, valores de medicamentos e internações é necessário encontrar novas abordagens terapêuticas ou alternativas de tratamentos que apresentem mais eficiência, menor custo e, ainda, redução dos efeitos colaterais. Assim, o tratamento com FBMV emerge como uma abordagem promissora para inúmeras doenças cujo processo inflamatório é o pilar principal da sua sustentação. No

presente trabalho pesquisamos se a FBMV influenciaria no controle do desenvolvimento e resolução do processo inflamatório da asma em ensaio experimental.

Vários autores têm investigado a terapia com luz para tratar doenças inflamatórias pulmonares e respiratórias em modelos animais, bem como em pesquisas clínicas. ^{55-58, 69-72, 120, 121, 131} Tem sido relatado que muitas delas podem ser tratadas com ILIB, incluindo patologias vasculares isquêmicas, cardiovasculares, periféricas, infecciosas, autoimunes, teciduais conjuntivas, transtornos nervosos, metabólicas e doenças agudas e crônicas, como bronquite e pneumonia. ^{99-107, 120, 121}

Com os dados promissores relatados anteriormente por nosso grupo na lesão pulmonar aguda induzida pelo LPS e efeitos benéficos da FBMV, despertou-se o interesse para estabelecer e entendermos os efeitos da luz por via sistêmica na asma. ⁹⁰ Além disso, acreditamos que a FBMV pode alterar a atividade das células imunocompetentes circulantes, com a finalidade de melhorar na resposta pulmonar.

103, 104

O método da irradiação sistêmica não invasiva foi baseado em alguns estudos que sugerem efeitos semelhantes com a técnica original de manipulação intravenosa.

90, 109-111,128

Sugerem que a FBMV apresenta alta permeabilidade da pele e tecidos hipodérmicos para irradiação de comprimento de onda no espectro do vermelho (630-670 nm). É importante mencionar que, em modelos animais, a irradiação sistêmica normalmente é realizada pela cauda do animal, a fim de mimetizar a irradiação de artéria humana.

90, 103

Nossos resultados mostraram que o tratamento com FBMV foi eficaz na redução da inflamação desencadeada por OVA. Embora o tratamento de FBMV tenha sido realizado sistematicamente, foram observadas alterações locais demonstradas pelo número reduzido de células migradas para o fluído do LBA. Este resultado nos leva a sugerir que a FBMV modula a atividade das células imunocompetentes a fim de alterar a resposta inflamatória pulmonar. Da mesma forma, recentemente nosso grupo demonstrou migração reduzida de neutrófilos e atividade de mieloperoxidase após FBMV na lesão pulmonar aguda. ⁹⁰ Outro estudo também com FBMV observou redução na dor e melhora na qualidade de vida em pacientes com neuropatia diabética. ⁹⁰ Assim, a FBMV tem um efeito positivo nas células imunes circulantes, mas o mecanismo envolvido não é claro e precisa ser melhor investigado.

Reputando que o desenvolvimento da resposta asmática depende da degranulação e produção de anticorpos de mastócitos, avaliamos o percentual de degranulação dos mesmos, bem como a produção de títulos de anticorpos anti-ovalbumina. Já é sabido que após o desafio

Nossos dados mostraram menor degranulação de mastócitos após o tratamento FBMV sem alterar a produção de anticorpos anti-ovalbumina. Assim, a atividade de mastócitos parece ser modulada pela FBMV. Tal dado corrobora com estudo anterior, cujo resultado foi a redução da degranulação de mastócitos após o tratamento com FBM, todavia com LED diretamente no trato respiratório.⁵⁵

Investigamos a resposta traqueal à metacolina (MCh), um importante biomarcador da asma.^{56, 133} A FBMV não alterou a resposta traqueal à MCh. Este resultado mostra que a redução da degranulação de mastócitos após a FBMV não interferiu na capacidade de resposta traqueal, mas pode ser um responsável, pelo menos em parte, pela redução da migração celular para o LBA.

Quanto à migração celular, já é bem estabelecido na literatura que este processo é controlado por inúmeros fatores, dentre eles, as citocinas inflamatórias, anti-inflamatórias e moduladoras. Para compreender o mecanismo de ação da FBMV sobre a migração de células para o pulmão, investigamos a secreção de citocinas inflamatórias, anti-inflamatórias e moduladoras no sobrenadante do LBA. Contudo, em nosso estudo, o tratamento com FBMV não reduziu significativamente a secreção de importantes interleucinas inflamatórias, como IL-4, IL-5 e TNF- α que desempenham importante papel no desenvolvimento da asma. Por outro lado, observou-se um nível elevado de IL-10 no fluido do LBA após FBMV. Assim, acreditamos que a FBMV promove seus efeitos pelo restabelecimento da homeostase, aumentando os mecanismos de defesa, visto que IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que regula o fluxo celular. Este resultado discorda do estudo anterior do nosso grupo sobre FBMV cujas diferenças nos níveis de IL-10 não foram encontradas entre os grupos de estudo.⁹⁰

Avaliamos também a expressão gênica das citocinas no tecido pulmonar que não foi afetada pelo tratamento FBMV. Tal dado corrobora nossa pesquisa anterior que sugere ser razoável não haver diferenças gênicas em todas as citocinas por uma questão de temporalidade,

já que todas as análises foram feitas 24 h após a administração de LPS em tal estudo. Portanto, devemos considerar que a expressão gênica de citocinas é um processo que demandaria mais tempo para apresentar resultados diferentes dos encontrados.⁹⁰

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou abertura de precedentes para o uso da aplicação da FBMV com LED em modelos experimentais e, quiçá, futuramente, sua reprodução na prática clínica. Foi possível observar resultados positivos na biomodulação de alguns marcadores inflamatórios, assim como, na resposta celular em modelo experimental de asma induzida por OVA. Tal ferramenta terapêutica se apresenta promissora por não ser invasiva, apresentar baixo custo e pode lançar-se como coadjuvante no tratamento de doenças inflamatórias pulmonares.

Considerando que este estudo é pioneiro no uso da luz LED pela via sistêmica para o tratamento da asma, os dados são interessantes e instigam investigações futuras, principalmente em relação aos mecanismos envolvidos e a dosimetria.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados mostraram que a FBMV reduziu a migração celular e a degranulação de mastócitos sem alterar a capacidade de resposta traqueal e os títulos de anticorpos anti-ovalbumina. A FBMV aumentou os níveis de IL-10 no fluído do LBA sem alterar a expressão genética de citocinas no tecido pulmonar. Assim, este estudo mostrou que a irradiação vascular com LED não melhorou os principais biomarcadores da asma.

Muitos estudos são bem descritos na literatura sobre o uso do ILIB com caráter terapêutico, porém de modo invasivo. Sua aplicação não invasiva através da FBMV com o intuito de modular inflamação aguda em pulmão através da luz LED é inédita e é de grande importância considerarmos a necessidade de novos estudos que fortaleçam estes apontamentos. Sugerimos também a utilização de diferentes parâmetros dosimétricos de tratamento com a finalidade da melhor compreensão do efeito biomodulador da FBMV na asma, não apenas em sua fase aguda como no presente trabalho, mas na possível intervenção no andamento do processo inflamatório, refletindo posteriormente na patologia em sua fase tardia, quando depleções sistêmicas são mais comprometedoras e não possuem um protocolo terapêutico julgado amplamente eficiente. Considerando o paradigma apresentado, este trabalho parece

bastante promissor e traz possibilidades da aplicação terapêutica pelo seu baixo custo, fácil aplicação e aparentemente baixos ou ausentes efeitos colaterais.

7 REFERÊNCIAS

1. BARNES P.J. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131(13):1541-1558. doi: 10.1042/CS20160487. PMID: 28659395.
2. REHMAN A.; AMIN F.; SADEEQA S. Prevalence of asthma and its management: A review. *J Pak Med Assoc*. 2018; 68(12):1823-1827. PMID: 30504949.
3. CASTILLO J.R.; PETERS S.P.; BUSSE W.W. Asthma Exacerbations: Pathogenesis, Prevention, and Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017; 5(4):918-927. doi: 10.1016/j.jaip.2017.05.001. PMID: 28689842.
4. RAMSAHAI J.M.; HANSBRO P.M.; WARK P.A.B. Mechanisms and Management of Asthma Exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 199(4):423-432. doi: 10.1164/rccm.201810-1931CI. PMID: 30562041.
5. PADEM N.; SALTOUN C. Classification of asthma. *Allergy Asthma Proc*. 2019; 40(6):385-388. doi: 10.2500/aap.2019.40.4253. PMID: 31690376.
6. PIZZICHINI M.M.M. *et al*. 2020 Brazilian Thoracic Association recommendations for the management of asthma. *J Bras Pneumol*. 2020; 46(1):e20190307. doi: 10.1590/1806-3713/e20190307. PMID: 32130345.
7. ASHER I., PEARCE N. Global burden of asthma among children. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014 Nov;18(11):1269-78. doi: 10.5588/ijtld.14.0170. PMID: 25299857.
8. BOUSQUET J., *et al*. The public health implications of asthma. *Bull World Health Organ*. 2005; 83(7):548-54. PMID: 16175830; PMCID: PMC2626301.
9. MASOLI M. *et al*. Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy*. 2004; 59(5):469-78. doi: 10.1111/j.1398-9995.2004.00526.x. PMID: 15080825.

10. BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS – DATASUS. Disponível em: www.datasus.gov.br. Acesso: 21/04/2021.
11. AMPON R.D. *et al.* Impact of asthma on self-reported health status and quality of life: a population based study of Australians aged 18-64. *Thorax*. 2005; 60(9):735-9. doi: 10.1136/thx.2005.040311. PMID: 16135680.
12. GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Bethesda: Global Initiative for Asthma; 2019. Disponível em: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2019/06/GINA-2019-main-report-June-2019-wms.pdf>. Acesso: 21/04/2021.
13. COSTA E. *et al.* Custo estimado da asma em tratamento ambulatorial: um estudo do mundo real. *Revista De Saúde Pública*. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/S1518-8787.2018052000153>. Acesso: 21/04/2021.
14. CANÇADO J.E.D. *et al.* Respira project: Humanistic and economic burden of asthma in Brazil. *J Asthma*. 2019;56(3):244-251. doi: 10.1080/02770903.2018.1445267. Epub 2018 Mar 29. PMID: 29595345.
15. CATES E.C. *et al.* Intranasal Exposure of Mice to House Dust Mite Elicits Allergic Airway Inflammation via a GM-CSF-Mediated Mechanism. *The Journal of Immunology*. 2004;173(10):6384–92.
16. RODRIGUES A.M. *et al.* Proposed short-term model of acute allergic response, without adjuvant use, in the lungs of mice. *J Bras Pneumol*. 2012 Sep-Oct;38(5):595-604. doi: 10.1590/s1806-37132012000500009. PMID: 23147052.
17. DELFINO R.J. Epidemiologic evidence for asthma and exposure to air toxics: linkages between occupational, indoor, and community air pollution research. *Environ Health Perspect*. 2002; 110(Suppl 4):573-89. doi: 10.1289/ehp.02110s4573. PMID: 12194890.
18. DE OLIVEIRA A.P. *et al.* Female sex hormones mediate the allergic lung reaction by regulating the release of inflammatory mediators and the expression of lung E-selectin in rats. *Respir Res*. 2010 Aug 24;11(1):115. doi: 10.1186/1465-9921-11-115. PMID: 20735828.

19. GERN J.E. The ABCs of rhinoviruses, wheezing, and asthma. *J Virol.* 2010; 84(15):7418-26. doi: 10.1128/JVI.02290-09. Epub 2010 Apr 7. PMID: 20375160; PMCID: PMC2897627.
20. HOLGATE S.T. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med.* 2012; 4;18(5):673-83. doi: 10.1038/nm.2731. PMID: 22561831.
21. SOCKRIDER M.; FUSSNER L. What Is Asthma? *Am J Respir Crit Care Med.* 2020; 202(9):25-26. doi: 10.1164/rccm.2029P25. PMID: 33124914.
22. MÉNDEZ-ENRÍQUEZ E.; HALLGREN J. Mast Cells and Their Progenitors in Allergic Asthma. *Front Immunol.* 2019; 10:821. doi: 10.3389/fimmu.2019.00821. PMID: 31191511; PMCID: PMC6548814.
23. NAIK S.R.; WALA S.M. Inflammation, allergy and asthma, complex immune origin diseases: mechanisms and therapeutic agents. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2013; 7(1):62-95. PMID: 23140569.
24. LAMBRECHT B.N.; HAMMAD H.; FAHY J.V. The Cytokines of Asthma. *Immunity.* 2019; 16;50(4):975-991. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.018. PMID: 30995510.
25. KOMI E.A.D, BJERMER L. Mast Cell-Mediated Orchestration of the Immune Responses in Human Allergic Asthma: Current Insights. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2019; 56(2):234-247. doi: 10.1007/s12016-018-8720-1. PMID: 30506113.
26. SIRAGANIAN R.P. Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Curr Opin Immunol.* 2003; 15(6):639-46. doi: 10.1016/j.coi.2003.09.010. PMID: 14630197.
27. GALLI SJ. The Mast Cell-IgE Paradox: From Homeostasis to Anaphylaxis. *Am J Pathol.* 2016; 186(2):212-24. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.07.025. PMID: 26776074; PMCID: PMC4729269.
28. BOYCE J.A. Mast cells and eicosanoid mediators: a system of reciprocal paracrine and autocrine regulation. *Immunol Rev.* 2007; 217:168-85. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00512.x. PMID: 17498059.
29. BURROWS B. *et al.* Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med.* 1989; 320(5):271-7. doi: 10.1056/NEJM198902023200502. PMID: 2911321.

30. SEARS M.R. *et al.* Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med.* 1991; 325(15):1067-71. doi: 10.1056/NEJM199110103251504. PMID: 1891008.
31. DAHLIN J.S. *et al.* IgE immune complexes stimulate an increase in lung mast cell progenitors in a mouse model of allergic airway inflammation. *PLoS One.* 2011; 6(5):e20261. doi: 10.1371/journal.pone.0020261. Epub 2011 May 19. PMID: 21625525.
32. BRADDING P.; ARTHUR G. Mast cells in asthma--state of the art. *Clin Exp Allergy.* 2016; 46(2):194-263. doi: 10.1111/cea.12675. PMID: 26567481.
33. CHUNG K.F. Targeting the interleukin pathway in the treatment of asthma. *Lancet.* 2015; 386(9998):1086-96. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00157-9. PMID: 26383000.
34. BERRY M.A. *et al.* Evidence of a role of tumor necrosis factor alpha in refractory asthma. *N Engl J Med.* 2006; 354(7):697-708. doi: 10.1056/NEJMoa050580. PMID: 16481637.
35. CAMPOS H.S. Asma: suas origens, seus mecanismos inflamatórios e o papel do corticosteróide. *Revista Brasileira de Pneumologia Sanitária.* 2007; 15 (1): 47 – 60.
36. BRIGHTLING C.; BERRY M.; AMRANI Y. Targeting TNF-alpha: a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(1): 5-10; quiz 11-2. doi: 10.1016/j.jaci.2007.10.028. Epub 2007 Nov 26. PMID: 18036647.
37. BANNO A. *et al.* Bidirectional interaction of airway epithelial remodeling and inflammation in asthma. *Clin Sci (Lond).* 2020; 15;134(9):1063-1079. doi: 10.1042/CS20191309. PMID: 32369100.
38. GON Y.; HASHIMOTO S. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma. *Allergol Int.* 2018; 67(1):12-17. doi: 10.1016/j.alit.2017.08.011. Epub 2017 Sep 21. PMID: 28941636.
39. ROBINSON D. *et al.* Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. *Clin Exp Allergy.* 2017; 47(2):161-175. doi: 10.1111/cea.12880. PMID: 28036144.
40. KURUVILLA M.E.; Lee F.E.; Lee G.B. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2019; 56(2):219-233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1. PMID: 30206782.

41. BURGESS J.A. *et al.* Does eczema lead to asthma? *J Asthma*. 2009; 46(5):429-36. doi: 10.1080/02770900902846356. PMID: 19544160.
42. BERGERON C.; AL-RAMLÍ W.; HAMÍD Q. Remodeling in asthma. *Proc Am Thorac Soc*. 2009; 6(3):301-5. doi: 10.1513/pats.200808-089RM. PMID: 19387034.
43. DEKKERS B.G. *et al.* Airway structural components drive airway smooth muscle remodeling in asthma. *Proc Am Thorac Soc*. 2009; 6(8):683-92. doi: 10.1513/pats.200907-056DP. PMID: 20008876.
44. CHANG J.H. *et al.* In vitro T-lymphocyte response and house dust mite-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 98: 922-31. doi: 10.1016/s0091-6749(96)80008-x. PMID: 8939155.
45. AUN M.V. *et al.* Animal models of asthma: utility and limitations. *J Asthma Allergy*. 2017; 10:293-301. doi: 10.2147/JAA.S121092. PMID: 29158683; PMCID: PMC5683778.
46. REGATEIRO F.; MOURA A.L.; FARIA E. Novos biológicos para o tratamento da asma. *Rev Port Imunoalergologia* 2017; 25 (2): 99-113.
47. KAWANO H. *et al.* IL-10-producing lung interstitial macrophages prevent neutrophilic asthma. *Int Immunol*. 2016; 28(10):489-501. doi: 10.1093/intimm/dxw012. Epub 2016 Mar 14. PMID: 26976823.
48. RAMOS-MARTÍNEZ E. *et al.* Reduction of respiratory infections in asthma patients supplemented with vitamin D is related to increased serum IL-10 and IFN γ levels and cathelicidin expression. *Cytokine*. 2018; 108: 239-246. doi: 10.1016/j.cyto.2018.01.001. Epub 2018 May 7. PMID: 29402723.
49. RAY A.; KOLLS J.K. Neutrophilic Inflammation in Asthma and Association with Disease Severity. *Trends Immunol*. 2017; 38(12):942-954. doi: 10.1016/j.it.2017.07.003. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28784414.
50. HOLGATE S.T. *et al.* The Future of Asthma Care: Personalized Asthma Treatment. *Clin Chest Med*. 2019; 40(1): 227-241. doi: 10.1016/j.ccm.2018.10.013. PMID: 30691714.
51. KWAH JH, PETERS AT. Asthma in adults: Principles of treatment. *Allergy Asthma Proc*. 2019; 40(6): 396-402. doi: 10.2500/aap.2019.40.4256. PMID: 31690379.

52. Chung K.F. Clinical management of severe therapy-resistant asthma. *Expert Rev Respir Med.* 2017; 11(5):395-402. doi: 10.1080/17476348.2017.1317597. Epub 2017 Apr 18. PMID: 28388228.
53. BECKER A.B. *et al.* Pediatric Montelukast Linear Growth Study Group. Linear growth in prepubertal asthmatic children treated with montelukast, beclomethasone, or placebo: a 56-week randomized double-blind study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006; 96(6):800-7. doi: 10.1016/s1081-1206(10)61342-7. PMID: 16802767.
54. DE VRIES T.W. *et al.* Reported adverse drug reactions during the use of inhaled steroids in children with asthma in the Netherlands. *Eur J Clin Pharmacol.* 2006; 62(5):343-6. doi: 10.1007/s00228-006-0102-6. Epub 2006 Apr 1. PMID: 16583230.
55. SIQUEIRA V.P.C. *et al.* Light-Emitting Diode treatment ameliorates allergic lung inflammation in experimental model of asthma induced by ovalbumin. *J Biophotonics.* 2017; 10(12):1683-1693. doi: 10.1002/jbio.201600247. Epub 2017 Apr 18. PMID: 28417574.
56. COSTA S.G. *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. doi: 10.1038/s41598-017-13117-5. PMID: 28978926; PMCID: PMC5627274.
57. MIRANDA DA SILVA C. *et al.* Low Level Laser Therapy Reduces the Development of Lung Inflammation Induced by Formaldehyde Exposure. *PLoS One.* 2015 Nov 16;10(11):e0142816. doi: 10.1371/journal.pone.0142816. PMID: 26569396; PMCID: PMC4646654.
58. BROCHETTI R.A. *et al.* Photobiomodulation therapy improves both inflammatory and fibrotic parameters in experimental model of lung fibrosis in mice. *Lasers Med Sci.* 2017 Nov;32(8):1825-1834. doi: 10.1007/s10103-017-2281-z. Epub 2017 Jul 16. PMID: 28712048.
59. YANG W.H.; LIN S.P.; CHANG S.T. Case report: Rapid improvement of crossed cerebellar diaschisis after intravascular laser irradiation of blood in a case of stroke. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96(2):e5646. doi: 10.1097/MD.00000000000005646. PMID: 28079797.

60. MOMENZADEH S. *et al.* The intravenous laser blood irradiation in chronic pain and fibromyalgia. *J Lasers Med Sci.* 2015; 6(1):6-9. PMID: 25699161; PMCID: PMC4329142.
61. XU Y.; LIN Y.; GAO S. Study on the selection of laser wavelengths in the intravascular low-level laser irradiation therapy. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(4): 1373-6. doi: 10.1007/s10103-015-1732-7. Epub 2015 Mar 24. PMID: 25800533.
62. TOMÉ R.F.F. *et al.* ILIB (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases-an integrative literature review. *Lasers Med Sci.* 2020; 35(9):1899-1907. doi: 10.1007/s10103-020-03100-4. Epub 2020 Jul 12. PMID: 32656732.
63. MOSKVIN S.V.; KHADARTSEV A.A. Methods of effective low-level laser therapy in the treatment of patients with bronchial asthma (literature review). *Biomedicine (Taipei).* 2020; 10(1): 1-20. doi: 10.37796/2211-8039.1000. PMID: 33854908.
64. FERNANDES K.P.S.; FERRARI R.A.M.; FRANÇA C.M.O. *Biofotônica: conceitos e aplicações.* São Paulo: Universidade Nove de Julho - UNINOVE; 2017.
65. KARU T.I. Cellular and Molecular Mechanisms of Photobiomodulation (Low-Power Laser Therapy). *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics.* 2014; 20(2): 143-148, doi: 10.1109/JSTQE.2013.2273411.
66. HEISKANEN V.; HAMBLIN M.R. 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; 18(1):259-259. PMID: 30044464; PMCID: PMC6091542.
67. LAVI R. *et al.* Low energy visible light induces reactive oxygen species generation and stimulates an increase of intracellular calcium concentration in cardiac cells. *J Biol Chem.* 2003; 278(42):40917-22. doi: 10.1074/jbc.M303034200. Epub 2003 Jul 7. PMID: 12851407.
68. 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. doi: 10.1002/jcp.21529. PMID: 18615581.

69. HAMBLIN M.R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.* 2017; 4(3):337-361. doi: 10.3934/biophys.2017.3.337. Epub 2017 May 19. PMID: 28748217.
70. DA-PALMA-CRUZ M. *et al.* Photobiomodulation modulates the resolution of inflammation during acute lung injury induced by sepsis. *Lasers Med Sci.* 2019; 34(1):191-199. doi: 10.1007/s10103-018-2688-1. Epub 2018 Nov 15. PMID: 30443882.
71. DA CUNHA MORAES G. *et al.* Low-Level Laser Therapy Reduces Lung Inflammation in an Experimental Model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Involving P2X7 Receptor. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 6798238. doi: 10.1155/2018/6798238. PMID: 29686745.
72. DE BRITO A.A. *et al.* Low-level laser therapy attenuates lung inflammation and airway remodeling in a murine model of idiopathic pulmonary fibrosis: Relevance to cytokines secretion from lung structural cells. *J Photochem Photobiol B.* 2020; 203:111731. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111731. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31935633.
73. RYU J.H. *et al.* Light-emitting diode-based photobiomodulation reduces features of allergic asthma in mice. *Allergy.* 2020; 75(1):230-234. doi: 10.1111/all.13929. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31140603.
74. DERBENEV V.A.; MIKHAILOV V.A.; DENISOV I.N. Use of low-level LASER therapy (LLLT) in the treatment of some pulmonary diseases: ten-year experience. *Proc SPIE* 2000; 4166:323-5. doi: 10.1117/12.389506.
75. OSTRONOSOVA N.S. Outpatient use of laser therapy in bronchial asthma. *Ter Arkh.* 2006; 78(3): 41-4. PMID: 17019957. Russo.
76. YUSUPALIEVA M.M.; SAVTCHENKO V.M. The effectiveness of combined laser therapy for the treatment of the patients presenting with bronchial asthma and concomitant allergic rhinitis]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2017; 94(4): 14-18. doi: 10.17116/kurort201794414-18. PMID: 29119955. Russo.
77. AKSENOVA I.Z.; BURDULI N.M. Pathogenetic effects of low-intensity laser therapy for chronic obstructive pulmonary disease. *Ter Arkh.* 2016; 88(3): 32-35. doi: 10.17116/terarkh201688332-35. PMID: 27030326. Russo.

78. SIGMAN S.A.; MOKMELI S.; VETRICI M.A. Adjunct low level LASER therapy (LLLT) in a morbidly obese patient with severe COVID-19 pneumonia: A case report. *Can J Respir Ther.* 2020; 28;56:52-56. doi: 10.29390/cjrt-2020-022. PMID: 33043132.
79. 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.
80. FERREIRA M.V.L. Response to: Can Transdermal Photobiomodulation Help Us at the Time of COVID-19? *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2020; 38(6): 326-327. doi: 10.1089/photob.2020.4895. PMID: 32579493.
81. CAMACHO A.D. Author's Response to Ferreira: Can Transdermal Photobiomodulation Help Us at the Time of COVID-19? An Update. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2020; 38(6):328-331. doi: 10.1089/photob.2020.4899. PMID: 32579491.
82. DE MATOS B.T.L. *et al.* Photobiomodulation Therapy as a Possible New Approach in COVID-19: A Systematic Review. *Life (Basel).* 2021; 11(6):580. doi: 10.3390/life11060580. PMID: 34207199.
83. NEJATIFARD M. *et al.* Probable positive effects of the photobiomodulation as an adjunctive treatment in COVID-19: A systematic review. *Cytokine.* 2021; 137:155312. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155312. Epub 2020 Oct 12. PMID: 33128927.
84. LIEBERT A. *et al.* A Potential Role for Photobiomodulation Therapy in Disease Treatment and Prevention in the Era of COVID-19. *Aging Dis.* 2020; 11(6): 1352-1362. doi: 10.14336/AD.2020.0901. PMID: 33269093.
85. MOKMELI S.; VETRICI M. Low level laser therapy as a modality to attenuate cytokine storm at multiple levels, enhance recovery, and reduce the use of ventilators in COVID-19. *Can J Respir Ther.* 2020; 56:25-31. doi: 10.29390/cjrt-2020-015. PMID: 32844112.
86. VETRICI M.A. *et al.* Evaluation of Adjunctive Photobiomodulation (PBMT) for COVID-19 Pneumonia via Clinical Status and Pulmonary Severity Indices in a Preliminary Trial. *J Inflamm Res.* 2021; 14:965-979. doi: 10.2147/JIR.S301625. PMID: 33776469.

87. SOHEILIFAR S.; FATHI H.; NAGHDI N. Photobiomodulation therapy as a high potential treatment modality for COVID-19. *Lasers Med Sci.* 2021; 36(5): 935-938. doi: 10.1007/s10103-020-03206-9. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33241526.
88. PACHECO J.A. Can Systemic Photobiomodulation Help Coronavirus Anti-Viral Immunity? *Cancer Clin J.* 2020; 2(1):1010.
89. MOSKVIN S.; ASKHADULIN E.; KOCHETKOV A. Low-Level Laser Therapy in Prevention of the Development of Endothelial Dysfunction and Clinical Experience of Treatment and Rehabilitation of COVID-19 Patients. *Rehabil Res Pract.* 2021; 6626932. doi: 10.1155/2021/6626932. PMID: 33542837.
90. DA SILVA J.G.F. *et al.* Effect of systemic photobiomodulation in the course of acute lung injury in rats. *Lasers Med Sci.* 2021; 36(5): 965-973. doi: 10.1007/s10103-020-03119-7. Epub 2020 Aug 19. PMID: 32812131.
91. CHANG H.C.; ZHANG Z.Z.; LIU L. Low-dose Light Therapy on Host Immune Response: Physiological Effects and Mechanisms of Action. *Progress Biochem Biophys.* 2017;44(12):1074-1082.
92. WALSKI T. *et al.* Low-Level Light Therapy Protects Red Blood Cells Against Oxidative Stress and Hemolysis During Extracorporeal Circulation. *Front Physiol.* 2018 May 31;9:647. doi: 10.3389/fphys.2018.00647. PMID: 29904353.
93. HUANG S.F. *et al.* Effects of intravascular laser irradiation of blood in mitochondria dysfunction and oxidative stress in adults with chronic spinal cord injury. *Photomed Laser Surg.* 2012 Oct;30(10):579-86. doi: 10.1089/pho.2012.3228. Epub 2012 Aug 14. PMID: 22891782.
94. FERNANDES K.P.S. *et al.* Vascular Photobiomodulation. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2021 Mar;39(3):143-144. doi: 10.1089/photob.2020.4965. Epub 2021 Feb 12. PMID: 33577376.
95. TIMOSHENKO T.E.; DVORETSKIĬ D.P. 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. PMID: 21268832. Russo.
96. WIRZ-RIDOLFI A. Comparison between intravenous and various types of transcutaneous laser blood irradiation. *The Internet Journal of Laserneedle Medicine.* 2013;3(1): 1-6.

97. IVANIUTA O.M.; DZIUBLIK A.I.A.; SKOPICHENKO V.N. Optimal effectiveness of complex treatment of patients with chronic obstructive bronchitis by intravascular laser irradiation of blood. *Probl Tuberk.* 1992;(5-6):21-4. PMID: 1409507. Russo.
98. PROKOPOVA L.V.; LOSEV A.A.; URSOL I.U.I. Effect of intravascular laser therapy on the rheologic properties of blood in children with bilateral destructive pneumonia. *Klin Khir.* 1992;(6):7-9. PMID: 1453644. Russo.
99. MOSKVIN S.V. Low-Level Laser Therapy in Russia: History, Science and Practice. *J Lasers Med Sci.* 2017; 8(2):56-65. doi: 10.15171/jlms.2017.11. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28652897.
100. CHIRAN D.A. *et al* D. Intravenous laser blood irradiation increases efficacy of etanercept in selected subtypes of juvenile idiopathic arthritis: an innovative clinical research approach. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:168134. doi: 10.1155/2013/168134. Epub 2013 Aug 7. PMID: 23990845.
101. VLADIMIROV Y.A.; OSIPOV A.N.; KLEBANOV G.I. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc).* 2004 Jan;69(1):81-90. doi: 10.1023/b:biry.0000016356.93968.7e. PMID: 14972023.
102. TUPIKIN G.V. Anti-inflammatory and immunosuppressive effects of laser therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Ter Arkh.* 1985;57(8):37-9. PMID: 4071434. Russo.
103. TOMIMURA S. *et al.* Hemodynamic effect of laser therapy in spontaneously hypertensive rats. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103(2): 161-4. doi: 10.5935/abc.20140117. PMID: 25211315.
104. MIKHAYLOV V.A. The use of Intravenous Laser Blood Irradiation (ILBI) at 630-640 nm to prevent vascular diseases and to increase life expectancy. *Laser Ther.* 2015; 24(1):15-26. doi: 10.5978/islsm.15-OR-02. PMID: 25941421.
105. TSUKERMAN I.I.A.; IAREMENKO K.V.; IBRAGIMOVA S.G. Effects of intravascular laser irradiation of blood on growth and metastasis of lymphosarcoma in rats. *Biull Eksp Biol Med.* 1988; 106(10):472-3. PMID: 3191241. Russo.
106. LIMA T.O. DE. Eficácia da Laserterapia transcutânea sobre efeitos adversos da quimioterapia: ensaio clínico randomizado. 2019. 57f. (Mestrado Profissional em

Enfermagem) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2019.

107. DA SILVA LEAL M.V. *et al.* Effect of Modified Laser Transcutaneous Irradiation on Pain and Quality of Life in Patients with Diabetic Neuropathy. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2020; 38(3):138-144. doi: 10.1089/photob.2019.4714. PMID: 32195640.
108. WEBER M.H.; Fussgänger-May T.W. Intravenous laser blood irradiation. *German J. Acupunct. Rel. Tech.* 2007; 50:12–23.
109. ISHINA T.I. *et al.* Evaluation of clinical effectiveness of intravenous LASER irradiation of blood, plasmapheresis and their combination in patients with bronchial asthma. *Ter Arkh.* 2000;73(3):15–9. Russo
110. LIU A.; JIANG Y. The Therapeutic Effect and Mechanism of Low-energy Intravascular He-Ne LASER Irradiation on Bronchial Asthma. *J of chinese microcirculaion.* 2000-01. Chinês
111. IUSUPALIEVA M.M.; SHATROV A.A.; GRABIL'TSEVA T.A. Intravenous laser irradiation of the blood at the health-resort stage of treatment for bronchial asthma patients. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1996; (5):9-12. PMID: 9036676. Russo.
112. MARCHUK I.K.; KUZMICH V.N. Intravascular laser irradiation of the blood in the combined treatment of chronic suppurative lung diseases. *Klinicheskaiia Khirurgiia.* 1993; (6): 9-10.
113. ESHANKHANOV M.E. *et al.* Possibilities and prospects of intravascular irradiation of blood by helium-neon laser in patients with pulmonary tuberculosis. *Probl Tuberk.* 1993;(2):27-9. PMID: 7984563. Russo.
114. PALEEV N.R. *et al.* Changes in the blood rheological properties in the transcutaneous irradiation of the ulnar vascular fascicle with a helium-neon laser. *Biull Eksp Biol Med.* 1993; 116(10):428-30. PMID: 8117976. Russo.
115. ANANCHENKO V.G.; KHANIN A.G.; GOSTISHCHEVA O.V. Cytological parameters of bronchoalveolar lavage in patients with chronic obstructive bronchitis exposed to LASER radiation of blood. *Ter Arkh.* 1999;71(11):65-7. PMID: 10626342. Russo.
116. LEDIN A.O. *et al.* SPIE Proceedings [SPIE Selected Papers from Seventh International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT'98): Laser Methods in Medicine and

- Biology - Tallin, Estonia (Monday 26 October 1998)] ALT'98 Selected Papers on Novel Laser Methods in Medicine and Biology - <title>Soft-laser use in the preoperative preparation and postoperative treatment of the patients with chronic lung abscesses. 1999; 3829: 2-5. doi: 10.1117/12.353116.
117. RUSAKOVA L.I. *et al.* SPIE Proceedings [SPIE Low-Level LASER Therapy - Russia (Monday 5 February 2001)] Low-Level LASER Therapy - <title>Intravenous LASER irradiation of blood in the complex treatment for acute and progressive tuberculosis in adolescents. 2001; 4422: 102–105. doi: 10.1117/12.425523.
118. BURDULI N.M.; AKSENOVA I.Z. The effect of intravenous laser irradiation of blood on the system hemodynamics of patients with chronic obstructive bronchitis exacerbatio]. *Klin Med (Mosk)*. 2007; 85(9):58-61. PMID: 18038571. Russo.
119. MIKHAILOV V. Development and clinical applications of intravenous laser blood irradiation. (ILBI). *Laser Therapy*. 2009; 18 (2), 69–83. doi: 10.5978 / islsm.18.69
120. KASHANSKAIA 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*. 2009; (2):19-22. PMID: 19514298. Russo.
121. BURDULI N.M.; GABUEVA A.A. The influence of low-intensity laser radiation on the functional activity of neutrophils in the patients presenting with community-acquired pneumonia. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2016; 93(2):9-12. doi: 10.17116/kurort201629-12. PMID: 27213942. Russo.
122. POLYAKOV A.A.; KORNILOVA Z.H.; DEMIKHOVA O.V. 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. 2017; 25(4): 655-668. doi: 10.23888/PAVLOVJ20174655-668. Russo.
123. NIKITIN A.V.; KASHIN A.V.; KARPUKHINA E.P. Correction of antioxidant defense in patients with bronchial asthma by the method of intravascular laser irradiation. *Probl Tuberk*. 1993; (3):46-7. PMID: 7984593. Russo.
124. CHERNUSHENKO E.F. *et al.* Effects of intravascular laser irradiation of blood on the immune status of patients with bronchial obstructive diseases of the lungs. *Klin Med (Mosk)*. 1991; 69(12):51-3. PMID: 1787680. Russo.

125. NIKITIN A.V., KARPUKHINA E.P. The effect of endovascular laser therapy on the clinical course and on the mechanisms of antioxidant protection in bronchial asthma patients. *Ter Arkh.* 1992;64(1):62-4. PMID: 1523565. Russo.
126. MIKHAILOV V.A.; Aleksandrova O.; GOL'DINA E.M. The immunomodulating action of low-energy laser radiation in the treatment of bronchial asthma. *Voprosy Kurortologii, Fizioterapii, I Lechebnoi Fizicheskoi Kultury* 1998;4: 23–25. Russo.
127. FARKHUTDINOV U. Intravascular LASER irradiation of blood in the treatment of patients with bronchial asthma. *Terapevticheskii Arkhiv.* 2006;79(3):44–8. Russo.
128. SARYCHEVA T.G. *et al.* Morphometry and electrophoretic mobility of red blood cells from patients with asthma in the intravenous blood LASER irradiation. *Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika.* 2009; 3: p. 13–4. Russo.
129. COLEMAN J.W.; LAYTON G.T.; STANWORTH D.R. The kinetics of in vivo sensitization of rat peritoneal and lung mast cells: temporal dissociation from circulating levels of IgE. *Eur J Immunol.* 1983; (12):994-8. doi: 10.1002/eji.1830131208. PMID: 6662189.
130. MOTA I.; WONG D. Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sci.* 1969; 8(16): 813-20. doi: 10.1016/0024-3205(69)90099-x. PMID: 5306608.
131. CARVALHO J.L. *et al.* Beneficial effect of low-level laser therapy in acute lung injury after i-I/R is dependent on the secretion of IL-10 and independent of the TLR/MyD88 signaling. *Lasers Med Sci.* 2017; 32(2):305-315. doi: 10.1007/s10103-016-2115-4. Epub 2016 Dec 6. PMID: 27924419.
132. LIU T.C.Y. *et al.* Applications of intranasal low intensity laser therapy in sports medicine. *J Innov Opt Health Sci.* 2010; 3(1):1-16
133. SILVA MACEDO R. *et al.* Photobiomodulation Therapy Decreases Oxidative Stress in the Lung Tissue after Formaldehyde Exposure: Role of Oxidant/Antioxidant Enzymes. *Mediators Inflamm.* 2016; 9303126. doi: 10.1155/2016/9303126. Epub 2016 May 17. PMID: 27293324.

ANEXO 1: PROTOCOLO APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EXPERIMENTAL



Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Papel da Fotobiomodulação Sistêmica Transcutânea por luz de diodo infravermelha em Modelo Experimental de Asma Induzida por Ovoalbumina", protocolada sob o CEUA nº 8964280520 (ID 000229), 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 17/06/2020.

We certify that the proposal "The role transcutaneous systemic photobiomodulation by infrared light emitting-diode in experimental model of asthma induced by ovalbumin ", utilizing 40 Heterogenics rats (40 males), protocol number CEUA 8964280520 (ID 000229), 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 06/17/2020.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 08/2020 a 08/2022

Área: Biofotônica Aplicada Às Ciências da Saúde

Origem: Biotério - Unidade Vergueiro

Espécie: Ratos heterogênicos

sexo: Machos

idade: 60 a 70 dias

N: 40

Linhagem: Wistar

Peso: 160 a 180 g

Local do experimento: Laboratório de Pesquisa Da Uninove -Vergueiro

São Paulo, 03 de agosto de 2020

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

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

ANEXO 2: ARTIGO PUBLICADO EM 2021 (LASER IN MEDICAL SCIENCE)

Original Article | Published: 19 June 2021

Transcutaneous systemic photobiomodulation reduced lung inflammation in experimental model of asthma by altering the mast cell degranulation and interleukin 10 level

[Paula Tatiane Alonso](#), [Adriana Schapochnik](#), [Simone Klein](#), [Robson Brochetti](#), [Amílcar Sabino Damazo](#), [Maria Fernanda de Souza Setubal Destro](#) & [Adriana Lino-dos-Santos-Franco](#) 

[Lasers in Medical Science](#) (2021) | [Cite this article](#)

70 Accesses | [Metrics](#)