

Efeito Hemodinâmico da Laserterapia em Ratos Espontaneamente Hipertensos

Hemodynamic Effect of Laser Therapy in Spontaneously Hypertensive Rats

Suely Tomimura¹, Bianca Passos Assumpção Silva², Iris Callado Sanches³, Marina Canal², Fernanda Consolim-Colombo^{2,4}, Felipe Fernandes Conti³, Katia De Angelis³, Maria Cristina Chavantes^{1,2,4}

Programa de Pós-Graduação em Biofotônica em Ciências da Saúde da Universidade Nove de Julho (UNINOVE)¹; Programa de Graduação e Pós-Graduação em Medicina da UNINOVE²; Laboratório de Fisiologia Translacional da UNINOVE³; Unidade de Hipertensão e Central Médica de Laser do Instituto do Coração - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor/HC-FMUSP)⁴, São Paulo, SP – Brasil

Resumo

A hipertensão arterial sistêmica é considerada o maior fator de risco para o desenvolvimento de patologias neuro-cardiovasculares, constituindo um grave problema de Saúde Pública no mundo.

O laser de baixa intensidade, ou laserterapia, ativa componentes da estrutura celular, convertendo energia luminosa em energia fotoquímica, e levando a reações biofísicas e bioquímicas na cadeia respiratória mitocondrial. O laser de baixa intensidade promove a fotobiomodulação celular/tissular, por meio de modificações no metabolismo, incorrendo em alterações moleculares, celulares e sistêmicas.

O objetivo deste estudo foi analisar a ação do laser de baixa intensidade na modulação hemodinâmica em ratos espontaneamente hipertensos, em longo prazo.

Os animais (n = 16) foram divididos aleatoriamente em Grupo Laser (n = 8), que recebeu três irradiações semanais do laser de baixa intensidade durante 7 semanas, e em Grupo Sham (n = 8), que recebeu três simulações semanais de laser durante 7 semanas, totalizando 21 aplicações em cada grupo. Após 7 semanas, os animais foram canulados com implantação do cateter na artéria carótida esquerda. No dia subsequente, foram realizados registros da pressão arterial sistêmica. O Grupo Laser evidenciou, com diferenças estatisticamente significantes, redução nos níveis da pressão arterial média (169 ± 4 mmHg* vs. 182 ± 4 mmHg do Grupo Sham) e da pressão arterial diastólica (143 ± 4 mmHg* vs. 157 ± 3 mmHg do Grupo Sham), revelando diminuição de 13 e 14 mmHg, respectivamente. Ademais, ocorreu concomitante um importante decréscimo da frequência cardíaca (312 ± 14 bpm vs. 361 ± 13 bpm do Grupo Sham). Dessa forma, a laserterapia foi capaz de produzir alterações

hemodinâmicas, reduzindo os níveis pressóricos em ratos espontaneamente hipertensos.

Introdução

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é a *causa mortis* de 9,5 milhões de indivíduos ao redor do mundo¹ constituindo um sério problema de Saúde Pública.

O Laser de Baixa Intensidade (LBI), ou laserterapia, é capaz de induzir a uma resposta fotobiológica no interior das células, ativando a produção de Adenosina Trifosfato (ATP), Óxido Nítrico (NO) e Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), alterando também bombas de sódio-potássio e canais de cálcio nas membranas celulares².

Segundo Chavantes e Tomimura³, a laserterapia reduz o processo inflamatório, edematoso e modifica a resposta micro e macrovascular, auxiliando a reparação tecidual e possibilitando analgésia. O LBI mostra-se uma eficiente ferramenta, não invasiva, de baixo custo e segura.

Em trabalho pioneiro experimental⁴, foram analisadas as ações agudas em curto prazo do LBI (somente três aplicações) na pressão arterial sistêmica em ratos Wistar obesos e idosos. Os resultados indicaram que o LBI foi capaz de diminuir significativamente os níveis pressóricos, revelando uma proteção cardiovascular, a qual guiou o estudo proposto neste trabalho.

O objetivo deste estudo foi, pois, estudar os efeitos do uso do LBI em longo prazo na resposta hemodinâmica de Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR, sigla do inglês *Spontaneously Hypertensive Rats*), avaliando Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).

Método

Estudo experimental prospectivo, controlado, com 16 ratos machos SHR, divididos aleatoriamente em dois grupos (n = 8): Grupo Sham e Grupo Laser. Foram realizadas três aplicações de LBI semanais em dias alternados, durante 7 semanas, totalizando 21 aplicações no Grupo Laser. No Grupo Sham, o mesmo protocolo foi implementado, porém com equipamento desligado.

O tamanho da amostra e o método foram baseados em estudos encontrados na literatura, avaliando alterações hemodinâmicas e condicionamento físico em animais SHR^{5,6}.

Palavras-chave

Laser de Baixa Intensidade; Laser Terapia; Hipertensão Arterial Sistêmica; Alterações Hemodinâmicas.

Correspondência: Suely Tomimura •

Av. Santa Inês, 1.129, Alto do Mandaqui. CEP 02415-001, São Paulo, SP – Brasil.

E-mail: suelytomimura@uol.com.br

Artigo recebido em 03/02/14; revisado em 28/04/14; aceito em 19/05/14.

DOI: 10.5935/abc.20140117

*O resultado evidenciou uma diferença estatisticamente significante para o grupo laser.

O diodo laser (MMOptics) foi empregado transcutaneamente na cauda dos ratos, conforme mostrado nas figuras 1 e 2, com os seguintes parâmetros: comprimento de onda (λ) = 780 nm, fluência = 30 J/cm², potência = 40 mW, área do feixe = 0,04cm² e irradiância = 1W/cm², totalizando um tempo 90 segundos.



Figura 1 – Laser Diodo 780 nm (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil).

Ao final de 7 semanas, todos os animais foram anestesiados e canulados. Foram implantados cateteres na artéria carótida esquerda e as cânulas, após a implantação, foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical. Com o animal acordado, após 24 horas, a cânula arterial foi acoplada a um transdutor eletromagnético (Blood Pressure XDRC, Kent© Scientific, Litchfield, CT, EUA) e ao pré-amplificador (Stemtech BPMT-2, Quintron Instrument© Inc, Milwaukee, EUA). Sinais de Pressão Arterial (PA) foram digitalmente gravados durante 30 minutos, por meio de um sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, Dataq Instruments, Akron, OH, EUA). Isso permitiu a análise dos pulsos de pressão, batimento a batimento, com frequência de amostragem de 2.000 Hz por canal, para estudo dos valores de PAS, PAD, PAM e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA⁷.

Análises estatísticas

Os valores são apresentados como médias \pm desvios padrão das médias. Foram comparadas FC, PAM, PAS e PAD entre os Grupos Sham e Laser. Após a avaliação das distribuições pelo teste de normalidade de Kolmogorov, o teste *t* de Student foi utilizado para verificar as diferenças entre as distribuições normais. O software estatístico utilizado foi o GraphPad InStat. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

Resultados

O Grupo Laser mostrou redução em relação ao Grupo Sham nos seguintes valores: PAM (169 ± 4 mmHg* vs. 182 ± 4 mmHg do Grupo Sham) e PAD (143 ± 4 mmHg* vs. 157 ± 3 mmHg do Grupo Sham), apresentando diferenças estatisticamente significantes. O valor de PAS (196 ± 5 mmHg vs. 207 ± 4 mmHg do Grupo Sham) não revelou diferença, conforme mostrado na Tabela 1.



Figura 2 – Local da irradiação: dorso caudal.

Comunicação Breve

Em relação à FC em repouso, houve decréscimo significativo dos batimentos cardíacos no Grupo Laser (Figura 3), quando comparado ao Sham ($312 \pm 14^*$ bpm vs. 361 ± 13 bpm do Grupo Sham).

Discussão

HAS é uma das principais *causa mortis* na atualidade. Estratégias terapêuticas que visem à redução da pressão arterial sistêmica são consideradas de grande valia.

Atualmente, o LBI é um instrumento relevante no arsenal terapêutico em inúmeras áreas da saúde, sendo capaz de modular a expressão gênica de quimiocinas, alterando citocinas e indutores de síntese de NO. Essas modificações podem ter uma relevância terapêutica profunda em processos inflamatórios vasculares⁸.

O sistema endotelial tem um papel essencial no controle do tônus vascular, respondendo a alterações

dinâmicas do fluxo sanguíneo (*shear stress*). O exercício físico regular é capaz de estimular fatores vasodilatadores, estimulando a liberação de fatores como o NO e o fator

Tabela 1 – Parâmetros hemodinâmicos avaliados em repouso dos Grupos Laser e Sham

Parâmetros	Grupo	
	Laser	Sham
PAD (mmHg)	$143 \pm 4^*$	157 ± 3
PAS (mmHg)	196 ± 5	207 ± 4
PAM (mmHg)	$169 \pm 4^*$	182 ± 4
FC (bpm)	$312 \pm 14^*$	361 ± 14

Dados expressos por média \pm erro padrão. * $p < 0,05$.

PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica; PAM: pressão arterial média; FC: frequência cardíaca.

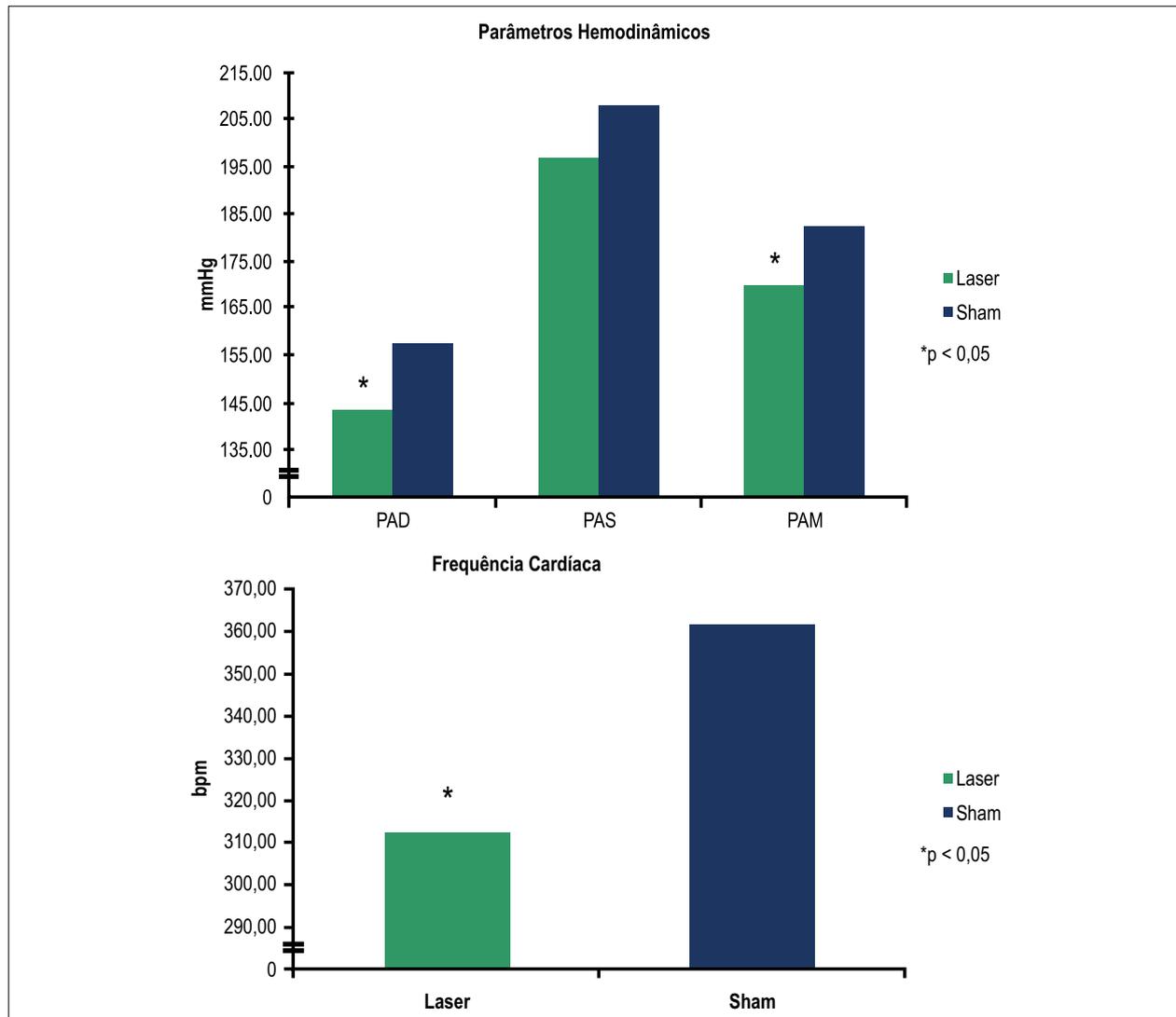


Figura 3 – Pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) dos Grupos Laser e Sham. * $p < 0,05$.

hiperpolarizante derivado do endotélio, reduzindo, assim, os níveis de PA⁹.

Ricci¹⁰ demonstrou, em experimento *in vitro*, que células endoteliais submetidas a estresse nutricional respondem efetivamente à irradiação com LBI, reorganizando filamentos de actina do citoesqueleto, associado à proliferação endotelial/celular.

Estudo com condicionamento físico de SHR demonstrou redução pressórica pós-treinamento físico, que levou a uma queda importante na FC e, conseqüentemente, à diminuição do débito cardíaco¹¹.

Nosso experimento denotou que a FC apresentou um decréscimo relevante no Grupo Laser em comparação ao Sham (312 ± 14 bpm vs. 361 ± 13 bpm), evidenciando este ser um dos possíveis mecanismos capazes de diminuir o débito cardíaco e conseqüentemente a HAS.

Sanches e cols.⁵, em outro experimento com ratas hipertensas ooforectomizadas (menopausadas), empregando treinamento físico durante 8 semanas, demonstrou que o exercício físico diminuiu os níveis de PAD, PAS, PAM e FC, quando comparadas a ratas sedentárias hipertensas.

Nosso trabalho evidenciou um decréscimo expressivo pós-irradiação com LBI em longo prazo, em relação aos níveis pressóricos basais do SHR. Tanto os níveis de PAD e PAM foram reduzidos após o uso de laserterapia (7 semanas), com diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Outros experimentos encontram-se em andamento, na busca do entendimento dos mecanismos envolvidos na HAS versus LBI.

Referências

1. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2224-60. Erratum in: *Lancet*. 2013;381(9874):1276. *Lancet*. 2013;381(9867):628.
2. Karu TI. [Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation]. *Dokl Akad Nauk SSSR*. 1986;291(5):1245-9.
3. Chavantes MC, Tomimura S. Classificação dos laser. In: Chavantes MC. (ed). *Laser em bio-medicina: princípios e prática*. São Paulo: Atheneu; 2009. p. 51-60.
4. Canal M, Conti FF, Sanches IC, Pinto N, Pinto M, Silva B. Hemodynamic changes in elderly obese rats after low level laser therapy: an experimental study [abstract]. In: *American Society for Laser Medicine and Surgery Abstracts*. Boston; 2013. p. 52.
5. Sanches IC, de Oliveira Brito J, Candido GO, da Silva Dias D, Jorge L, Irigoyen MC, et al. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. *Menopause*. 2012;19(5):562-8.
6. Bertagnolli M, Campos C, Schenkel PC, de Oliveira VL, De Angelis K, Belló-Klein A, et al. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. 2006;24(12):2437-43.
7. Soares PP, da Nobrega AC, Ushizima MR, Irigoyen MC. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. *Auton Neurosci*. 2004;113(1-2):24-31.
8. Gavish L, Perez LS, Reissman P, Gertz SD. Irradiation with 780 nm diode laser attenuates inflammatory cytokines but upregulates nitric oxide in lipopolysaccharide-stimulated macrophages: implications for the prevention of aneurysm progression. *Lasers Surg Med*. 2008;40(5):371-8.
9. Zanesco A, Zaros PR. Exercício físico e menopausa. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2009;31(5):254-61.
10. Ricci R. Estudo *in vitro* da biomodulação de células endoteliais em respostas a diferentes dosimetrias do laser de semicondutor InGaAlP [dissertação]. São José dos Campos (SP); UNIVAP; 2003.
11. Negrão CE, Rondon MU. Exercício físico, hipertensão e controle barorreflexo da pressão arterial. *Rev Bras Hipertens*. 2001;8(1):89-95.

Conclusão

A laserterapia aplicada em ratos espontaneamente hipertensos em longo prazo resultou na redução dos níveis pressóricos, modulando, de forma expressiva, a resposta hemodinâmica em ratos hipertensos.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Tomimura S, Sanches IC, Chavantes MC; Obtenção de dados: Tomimura S, Silva BPA, Canal M, Conti FF; Análise e interpretação dos dados: Tomimura S, Sanches IC, Conti FF, De Angelis K, Chavantes MC; Análise estatística: Tomimura S, Sanches IC; Redação do manuscrito: Tomimura S; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Sanches IC, Consolim-Colombo F, De Angelis K, Chavantes MC.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de Dissertação de Mestrado de Suely Tomimura pela Universidade Nove de Julho.