

ARTIGO DE REVISÃO

Laser em baixa intensidade pode estimular o processo de angiogênese

Low level laser therapy can stimulate the angiogenesis process

Agnes Fátima Faustino Pereira¹, Maria Aparecida Andrade Moreira Machado², Thiago Cruvinel Silva³.

¹Pós-doutoranda, Departamento de Fonoaudiologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo-USP

²Professora Titular do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo-USP

³Professor Doutor, Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo-USP

Resumo

Introdução: O fator de crescimento endotelial vascular (*VEGF*) desempenha papel importante no processo de angiogênese, crucial para o desenvolvimento e prognóstico de tumores sólidos malignos. **Objetivo:** A presente revisão de literatura teve por objetivo elucidar a influência da terapia laser em baixa intensidade (LLLT) sobre a angiogênese e biomodulação do fator de crescimento endotelial vascular. **Material e Métodos:** Os resultados expostos foram baseados na análise crítica de publicações científicas obtidas após pesquisa bibliográfica nas bases de dados *Pubmed*, *Web of Science*, *Scielo*, *Lilacs* e *BBO*. **Resultados:** Os resultados demonstraram um evidente efeito da terapia laser em baixa intensidade sobre a expressão gênica e molecular do fator de crescimento endotelial vascular e outros fatores pró-angiogênicos. Entretanto, os mecanismos de ação do laser sobre o processo de angiogênese ainda não estão bem esclarecidos. **Conclusão:** Profissionais de saúde não devem realizar a terapia laser em baixa intensidade para o controle da dor e/ou cicatrização de feridas indiscriminadamente, devido à estimulação do processo de angiogênese, que pode contribuir para a progressão de tumores sólidos.

Descritores: Neoplasias; Fator A de crescimento do endotélio vascular; Terapia a laser de baixa Intensidade.

Abstract

Introduction: Vascular endothelial growth factor (*VEGF*) has an important role in the angiogenesis process, which is crucial for the development and prognosis of solid malignant tumors. **Objective:** This review aimed to elucidate the influence of low-level laser therapy (LLLT) on angiogenesis and biomodulation of the vascular endothelial growth factor. **Material and Methods:** The results were based on a critical analysis of scientific publications from *Pubmed*, *Web of Science*, *Scielo*, *Lilacs* and *BBO* databases. **Results:** The results demonstrate an evident effect of the low-level laser therapy on gene and molecular expressions of the vascular endothelial growth factor and other pro-angiogenic factors. The mechanisms of action of laser on angiogenesis, however, are still not clarified. **Conclusion:** Health professionals must not indiscriminately perform the low-level laser therapy for pain relief and/or wound healing due to the stimulation of the angiogenesis process, which might contribute to the progression of solid tumors.

Descriptors: Neoplasms; Vascular endothelial growth factor A; Laser therapy, Low-level.

Introdução

O termo *angiogênese* é definido como a emissão de novos capilares sanguíneos a partir de vasos pré-existentes⁽¹⁾. Inicialmente, ocorre uma vasodilatação dos vasos existentes, acompanhada de aumento na permeabilidade e degradação da matriz circundante, o que permite a ativação da proliferação de células endoteliais e a migração para formação de lumens⁽²⁾. A angiogênese é essencial para que ocorra o desenvolvimento de tecidos, a homeostasia, a cicatrização e reparo, processos inflamatórios e também a progressão de tumores sólidos⁽³⁾.

A angiogênese providencia uma rota de vasos sanguíneos para a distribuição de oxigênio e outros nutrientes, bem como um conduto para componentes da resposta inflamatória durante o reparo de feridas⁽¹⁾. A formação de novos vasos é um processo complexo e de vários estágios, regulado por moléculas indutoras e inibidoras da neovascularização⁽⁴⁾, dependente em grande parte da atuação do fator de crescimento endotelial vascular (*VEGF*)⁽⁵⁾, o mais essencial fator pró-angiogênese⁽⁶⁻⁷⁾. Um crescimento desordenado de vasos sanguíneos pode contribuir

Recebido em 02/07/2014

Aceito em 01/09/2014

Não há conflito de interesse

para o desenvolvimento de tumores malignos⁽⁸⁻⁹⁾. Portanto, o *VEGF* está diretamente implicado na progressão tumoral, por sua habilidade em promover crescimento e diferenciação das células endoteliais vasculares^(4,6,9).

A terapia laser em baixa intensidade (LLLT) é rotineiramente utilizada durante tratamentos médicos, odontológicos e fisioterápicos, com o intuito de diminuir a dor, estimular a cicatrização tecidual e a regressão de edema, com consequente ação anti-inflamatória e de bioestimulação celular. Relatos na literatura descrevem que a LLLT pode promover acelerada epitelização, maior grau de vascularização e aumento da síntese de colágeno nas feridas cirúrgicas⁽¹⁰⁻¹⁸⁾. Trabalhos que investigaram os efeitos da LLLT sobre culturas de células, obtiveram resultados satisfatórios quanto à proliferação celular e modulação da liberação de fatores de crescimento⁽¹⁹⁻²³⁾.

A presente revisão de literatura tem por objetivo analisar resultados de pesquisas que avaliaram a capacidade da LLLT em estimular a angiogênese e modular a expressão do *VEGF*, fator de crescimento importante para o desenvolvimento e prognóstico de tumores sólidos malignos.

Revisão de literatura

Os resultados expostos a seguir foram baseados na análise crítica de documentos obtidos diretamente das bases de dados *Pubmed*, *Web of Science*, *Scielo*, *Lilacs* e *BBO*. As palavras-chaves *fator de crescimento endotelial vascular*, *vascular endothelial growth factor*, *VEGF*, *angiogênese*, *angiogenesis*, *laser*, *laserterapia*, *lasertherapy*, *LLLT*, *LILT*, *câncer*, *cancer*, *tumor maligno* e *malignant tumor* foram utilizadas para o levantamento bibliográfico.

Foram incluídos apenas estudos que utilizaram culturas de células e modelos animais como estratégias metodológicas para a avaliação do efeito da LLLT sobre a angiogênese, especialmente sobre a expressão gênica e molecular de *VEGF*. Todos os artigos foram publicados entre os anos de 1980 e 2012, nos idiomas português, espanhol e inglês.

Inicialmente, o fator de crescimento endotelial vascular foi denominado fator de permeabilidade vascular (VPF)⁽²⁴⁾. Em seguida, Ferrara e Henzel⁽²⁵⁾ identificaram um fator de crescimento para células endoteliais, chamando-o de *VEGF*. A idêntica estrutura genética de VPF e *VEGF*⁽²⁶⁻²⁷⁾ foi posteriormente constatada. O *VEGF* é uma glicoproteína com ligante heparina. Apresenta-se como uma família de sete membros: *VEGF-A*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D*, *VEGF-E*, *VEGF-F* e o fator de crescimento placentário (*PlGF*)⁽²⁸⁻²⁹⁾. Todos os membros da família possuem em comum um domínio homólogo, caracterizado por oito resíduos de cisteína (éxons) separados por sete íntrons⁽³⁰⁾. O *VEGF* é um mitógeno específico para células endoteliais, possuindo a capacidade de aumentar a vascularização tecidual por meio da indução da migração e proliferação de células endoteliais⁽⁶⁾, bem como pelo aumento da sobrevivência dessas células, pela super-regulação do receptor *VEGFR-2* e de uma proteína antiapoptótica, denominada Bcl-2⁽³¹⁻³²⁾.

As principais funções do *VEGF* são promover a sobrevivência, induzir a proliferação e melhorar a migração e invasão de células

endoteliais, contribuindo para a angiogênese. Essas funções são reguladas pela interação do *VEGF* com seus receptores tirosinoquinase⁽³³⁾ e transdução de sinais para vários tipos de proteínas sucessivas, gerando uma resposta intracelular⁽³⁴⁾. O *VEGF* é produzido por diversas células, como plaquetas, neutrófilos e leucócitos polimorfonucleares⁽⁷⁾. A produção de *VEGF* é importante para o desenvolvimento embrionário e progressão de condições fisiológicas e patológicas, tais como reparo e cicatrização tecidual, neovascularização ocular, progressão de tumores sólidos e doenças cardiovasculares^(29,33). Os receptores para *VEGF* foram inicialmente identificados em células endoteliais. O *VEGF* se liga a três tipos de receptores tirosinoquinases: flt-1 (*VEGFR-1*), Flk-1/ KDR (*VEGFR-2*) e flt-4 (*VEGFR-3*). Os dois primeiros receptores foram primariamente encontrados no endotélio vascular, enquanto o *VEGFR-3* foi encontrado no endotélio linfático⁽³⁵⁻³⁶⁾. Mais recentemente, foi identificada a neuropilina (Nrp-1), um receptor para a família semaforina/colapsina de guia de mediadores neuronais⁽³³⁾. A Nrp-1 age como um correceptor, melhorando a interação entre *VEGF* e *VEGFR-2*, formando complexos com o receptor *VEGFR-1*⁽²⁹⁾.

Por estimular as células endoteliais a realizarem proliferação, brotamento, migração e formação tubular⁽³⁰⁾, o *VEGF-A* é considerada uma molécula-chave na indução de angiogênese e vasculogênese. A expressão aumentada de *VEGF-A*, produz uma pronunciada resposta angiogênica em diferentes tecidos⁽³⁷⁻³⁸⁾. O *VEGF-A* realiza a mediação do extravasamento de fluido e proteínas plasmáticas, podendo contribuir para uma melhor migração de células endoteliais na matriz extracelular⁽³⁹⁾.

O papel do *VEGF-B* *in vivo* não é precisamente conhecido. Ratos com deficiência de *VEGF-B* apresentaram corações menores e recuperação prejudicada após infarto induzido do miocárdio, indicando que a formação coronariana colateral é ser parcialmente atribuída ao *VEGF-B*. A participação do *VEGF-B* na angiogênese inflamatória também foi sugerida⁽⁴⁰⁾.

O *VEGF-C* induz mitose, migração e sobrevivência de células endoteliais⁽²⁹⁾. É considerado um fator de crescimento primariamente linfangiogênico, mediado pelo receptor *VEGFR-3*⁽⁴¹⁾. Entretanto, o aumento da permeabilidade vascular induzida pelo *VEGF-C* é mediada pelo receptor *VEGFR-2*⁽⁴⁰⁾. O *VEGF-C* também está envolvido em progressões tumorais e processos inflamatórios relacionados à linfangiogênese⁽²⁹⁾. O *VEGF-D* é expresso em muitos tecidos adultos, como endotélio vascular, coração, músculos esqueléticos, pulmão e intestino, mostrando potencial angiogênico e linfangiogênico. Em adultos, pode induzir crescimento de vasos linfáticos como resposta a eventos patológicos⁽³³⁾.

Células tumorais podem secretar elevados níveis de *VEGF* sob condições de estresse, como hipóxia, radiação e quimioterapia, o que pode contribuir inadvertidamente para a resistência de células tumorais aos tratamentos de câncer convencionais⁽⁴²⁾. Em resposta à hipóxia, tumores secretam fatores de crescimento angiogênicos, para estimular o crescimento de vasos sanguíneos e distribuição de oxigênio. Este processo é mediado pelo fator induzido pela hipóxia (HIF-1). Em normóxia, HIF-1 α , proteína citoplasmática sensível aos níveis de oxigênio, é rapidamente

degradada, enquanto que em condições de hipóxia é estabilizada e translocada para o núcleo celular. Muitos fatores de crescimento, como o fator de crescimento tecidual – β (*TGF- β*), fator de crescimento epidérmico (*EGF*) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (*PDGF*) induzem a expressão de RNAm para *VEGF-A*⁽⁴¹⁾. A prostaglandina E_2 também causa rápida indução de RNAm para *VEGF-A*⁽⁴³⁾.

Tumores sólidos em estágios iniciais de desenvolvimento, com até 3 mm de diâmetro, não requerem neovascularização, pois adquirem nutrientes e oxigênio pelo processo de difusão. Em tumores maiores que 3 mm de diâmetro, células neoplásicas são capazes de produzir fatores pró-angiogênicos e, conseqüentemente, promover o crescimento autônomo e metástase de tumores sólidos⁽⁴⁴⁾. Em pacientes acometidos por tumores de cabeça e pescoço, o *VEGF* é expresso tanto no leito tumoral quanto nos fluidos da cavidade bucal⁽⁴⁵⁾.

O *VEGF-C* é responsável por induzir seletivamente a hiperplasia do sistema vascular linfático, aumentando a permeabilidade dos vasos locais e propiciando condições favoráveis para a progressão de tumores malignos. Carcinomas na região de cabeça e pescoço se espalham preferencialmente por vias linfáticas. A presença de nódulos linfáticos patológicos na região de pescoço é fator determinante para o prognóstico da doença⁽⁴⁶⁾. Smith et al.⁽⁴⁷⁾ relataram a associação entre altos níveis de *VEGF* e pobre prognóstico relativo à metástase e à sobrevivência do paciente em casos de carcinomas escamosos da cavidade oral e da parte oral da faringe. Wang et al.⁽⁴⁸⁾ observaram uma forte relação entre a expressão de *VEGF-C/VEGFR-3* e a infiltração celular e metástase linfática de carcinoma escamoso de laringe. Hirota et al.⁽⁴⁹⁾ destacaram a possibilidade de benefícios contra a metástase de câncer de língua por meio da abordagem terapêutica de supressão de fatores linfangiogênicos, tais como *VEGF-C* e *VEGF-D*.

A luz laser é utilizada como “balanceadora e normalizadora de funções”, pois pode ser utilizada para estimular ou inibir processos biológicos⁽¹⁷⁾. A LLLT pode induzir proliferação e divisão celular, aumento da síntese de ATP e produção de ácidos nucléicos⁽⁵⁰⁾. Os citocromos mitocondriais, responsáveis pela reação de conversão de adenosina difosfato (ADP) em adenosina trifosfato (ATP), são cromóforos ou moléculas fotossensíveis, portanto excitáveis pela luz laser que penetra através dos tecidos⁽⁵¹⁾. Danhof⁽⁵²⁾ observou que o laser trabalha diretamente na permeabilidade da membrana celular, facilitando a mobilidade de íons cálcio, sódio e potássio, portanto, normalizando o potencial da membrana e atuando como modulador da atividade funcional da célula. Também é capaz de aumentar indiretamente a produção de ATP. Os complexos II e IV da cadeia respiratória mitocondrial aumentaram significativamente após irradiação de feridas cutâneas de ratos Wistar, com utilização do laser diodo arsenieto de gálio (904 nm)⁽⁵³⁾.

Honmura et al.⁽⁵⁴⁾ observaram a capacidade do laser diodo arsenieto de gálio e alumínio (780 nm; contínuo; 10 mW; 31,8 J/s/cm²; 30s) em inibir em pelo menos 20% a permeabilidade vascular no estágio agudo da inflamação e a formação granulomatosa no estágio crônico da inflamação. O laser foi

mais eficaz que a indometacina na diminuição da formação granulomatosa. Webb, Dyson e Lewis⁽²²⁾ concluíram que a irradiação laser (2,4 J/cm²) induz a secreção de fatores de crescimento, aumentando as taxas de mitose e/ou diminuindo a morte de células oriundas de tecido hipertrófico. Bisht et al.⁽¹¹⁾ verificaram que o laser He-Ne (5 mW) foi capaz de promover epitelização antecipada, conseqüência do aumento da reação fibroblástica, além de infiltração leucocitária e angiogênese em feridas cirúrgicas produzidas no dorso de ratos.

Enwemeka et al.⁽⁵⁵⁾ demonstraram que a LLLT é altamente eficaz para melhorar o reparo tecidual e controle da dor, sendo que o comprimento de onda do aparelho pode influenciar os resultados do tratamento. Estes resultados estão de acordo com o estudo de metanálise realizado por Woodruff et al.⁽⁵⁶⁾.

Agaiby et al.⁽¹⁹⁾ detectaram aumento do número de células endoteliais da aorta após irradiação com laser pulsado em baixa intensidade (5.000 Hz, 820 nm, 50 mW), em diversas densidades de energia (1,2, 3,6, 6,0 e 8,4 J/cm²). As células alcançaram a máxima atividade proliferativa quando foram tratadas com dosimetrias iguais a 1,2 e 3,6 J/cm², enquanto o tratamento com as maiores densidades de energia gerou um efeito inibitório na proliferação celular.

Yaakobi et al.⁽¹⁸⁾ foram capazes de aumentar o número de vasos sanguíneos e células endoteliais na artéria coronária de ratos, pelo tratamento com laser diodo de arsenieto de gálio (804 nm, 38 mW). Schindl⁽²¹⁾ também verificou a capacidade da LLLT (670 nm) em estimular a proliferação de células endoteliais cultivadas *in vitro*, especialmente quando tratadas com uma dosimetria igual a 8 J/cm².

Kipshidze et al.⁽²⁰⁾ irradiaram culturas de células musculares lisas, cardiomiócitos e fibroblastos com laser diodo He-Ne (contínuo, 632 nm, 0,1 a 6,3 J/cm²). A LLLT aumentou a produção de *VEGF* por todos os tipos celulares estudados, além de estimular a proliferação de células endoteliais. Os máximos efeitos estimulatórios da irradiação laser foram observados em dosimetrias diferentes para cada grupo de células (0,5 J/cm² para células musculares lisas, 2,1 J/cm² para fibroblastos e 1,05 J/cm² para cardiomiócitos).

Bayat et al.⁽¹⁰⁾ estudaram a influência do laser He-Ne (contínuo, 632,8 nm, 10 mW) na cicatrização de feridas dorsais (3,8cm²) em ratos submetidos a queimaduras de terceiro grau. Os resultados mostraram que a LLLT (1,2 J/cm²) aumentou significativamente o número médio de secção de vasos sanguíneos, após sete dias da produção das feridas.

Corazza⁽¹²⁾ estudou os efeitos da LLLT sobre o processo de angiogênese durante a cicatrização de feridas produzidas no quadríceps de ratos. As feridas irradiadas por laser e LED (5 J/cm²) apresentaram maior grau de vascularização em relação aos demais grupos. Pôde-se notar que os estímulos fotônicos, nos três primeiros dias, foram fundamentais para a evolução da densidade de volume dos vasos sanguíneos.

Mohammed Ihsan⁽¹⁵⁾ demonstraram um aumento significativo de fatores pró-angiogênicos (adenosina, hormônio do crescimento e fator de crescimento fibroblástico), após irradiação de artérias femorais de coelhos com laser diodo arsenieto de gálio e alumínio (10 mW, 904 nm). Numerosos vasos sanguíneos

colaterais proliferaram nas áreas teciduais analisadas, com marcante crescimento no diâmetro dos vasos originais.

Salate et al.⁽¹⁶⁾ identificaram um notável aumento do número de vasos sanguíneos após LLLT (InGaAlP, 660 nm, 10 s), em tendão do calcâneo de ratos Wistar. Pôde-se perceber que quanto maior a dose de luz utilizada, mais acentuada foi a resposta angiogênica, demonstrando que o laser em baixa intensidade pode apresentar importante efeito na promoção da neovascularização durante o reparo tendinoso.

Silva et al.⁽⁵⁷⁾ demonstraram que a LLLT (GaAlAs, 780 nm, 70 mW, 2,8 J) foi eficaz na biomodulação de RNAm para *VEGF-A₁₆₅*, após um dia da realização de excisão cirúrgica em língua de ratos Wistar. A expressão gênica de *VEGF* também foi aumentada após irradiação laser (780 nm, 40 mW, 0,5-7 J/cm²) de células epiteliais⁽⁵⁸⁾.

Feng et al.⁽⁵⁹⁾ demonstraram que a LLLT (632,8 nm, 10 mW, 12,74 mW/cm²), em culturas de células endoteliais, foi capaz de estimular a ativação ERK-dependente de Sp1, crucial para o aumento de regulação de *VEGF*. Aumento da secreção de *VEGF* foi observado após a irradiação laser (635 nm, 60 mW, 0,5-5 J/cm²) de cultura de células mesenquimais de medula óssea⁽⁶⁰⁾.

Bossini et al.⁽⁶¹⁾ demonstraram efeito estimulatório da angiogênese por meio da LLLT (GaAlAs, 830 nm, 100 mW, 60 ou 120 J/cm²) sobre defeito ósseo produzido na tibia de ratos osteoporóticos.

Por meio da presente revisão de literatura, torna-se evidente que a LLLT exerce influência direta sobre o processo de angiogênese, pela modulação da expressão gênica e molecular do *VEGF* e outros fatores pró-angiogênicos. Após a elucidação da associação entre a expressão do *VEGF* e a progressão de tumores sólidos, grandes interesses científicos e comerciais foram gerados nos últimos anos⁽⁴⁴⁻⁴⁹⁾, na tentativa de desenvolvimento terapêutico para tratamento e controle do câncer. Porém, poucos são os estudos sobre a interação direta da LLLT com a expressão do *VEGF*^(20,57-58,60-61).

Os mecanismos de ação da LLLT sobre a angiogênese ainda não estão bem esclarecidos. A teoria mais aceita para os mecanismos de interação da luz com células e moléculas animais, surgiu da observação da produção de oxigênio reativo intracelular (ROS), após irradiação laser *in vitro*⁽⁵⁰⁾. Moléculas fotossensíveis endógenas, como NADPH, porfirinas, flavinas e citocromos mitocondriais, seriam responsáveis pela absorção do espectro de luz visível e posterior transferência de elétrons para moléculas próximas de oxigênio. As espécies de ROS (H₂O₂, oxigênio singleto, óxido nítrico e radical hidroxila) aumentariam a ligação da proteína GTP com a GTPase Rac-1, preponderante em múltiplos caminhos de transdução de sinal para síntese proteica. Grandes concentrações de ROS seriam letais para célula, enquanto pequenas concentrações poderiam estimular a proliferação celular e expressão gênica por meio da maior produção de ATP, ocasionada pelo estímulo do mecanismo de respiração mitocondrial. A LLLT poderia aumentar a atividade de certos agentes antioxidantes, diminuindo os efeitos dos ROS sobre as reações químicas intracelulares e combatendo o efeito nocivo dos radicais livres sobre a célula⁽⁵⁰⁾.

Estudos que tentaram relacionar diferentes parâmetros da LLLT

e expressão de fatores de crescimento obtiveram resultados intrigantes. Normalmente, foram observadas dosimetrias ótimas e limitantes para tipos celulares diferentes. Kipshidze et al.⁽²⁰⁾ demonstraram que o pico de secreção de *VEGF* nas culturas de células de fibroblastos, células musculares lisas e cardiomiócitos, foi obtido com o uso respectivo das seguintes dosimetrias: 1,05 J/cm², 0,5 J/cm² e 2,1 J/cm². Porém, quando as culturas de células foram irradiadas em dosimetrias maiores ou menores que seus valores ótimos, ou a liberação de *VEGF* foi diminuída ou parcialmente inibida. Agaiby et al.⁽¹⁹⁾ verificaram que maiores níveis de proliferação de células endoteliais *in vitro* foram alcançados quando densidades de energia iguais a 1,2 J/cm² e 3,6 J/cm² foram utilizadas, sendo que efeitos inibitórios foram observados em densidades maiores (6 e 8,4 J/cm²). Para iniciar a proliferação, necessariamente as células endoteliais devem estar aderidas em uma superfície, impedindo sua descamação e morte por apoptose. A LLLT aumenta a eficácia de adesão das células endoteliais⁽²⁰⁾. Corazza⁽¹²⁾ também observou um maior nível de proliferação de vasos sanguíneos durante o reparo de feridas cutâneas de ratos irradiadas com laser (5 J/cm²), quando comparadas ao grupo controle. Quando a dosimetria utilizada foi igual a 20 J/cm², um efeito de saturação celular foi observado após 21 dias de tratamento com a LLLT. Os resultados apresentados em relação à liberação de fatores de crescimento, bem como proliferação de células, vasos sanguíneos e/ou fibras colágenas em relação à dependência da dosimetria são similares aos trabalhos de Yu et al.⁽²³⁾.

Concentrações fisiológicas de outros fatores de crescimento, como o *TGF- \hat{a}* (fator de crescimento transformador – \hat{a}), *EGF* (fator de crescimento epidérmico) e *PDGF* (fator de crescimento derivado de plaquetas), induzem a expressão de RNAm para *VEGF*. O fator de crescimento de necrose tumoral – \hat{a} (*TNF- \hat{a}*) também possui a capacidade de aumentar a transcrição do gene *VEGFR-2* nas células endoteliais, aumentando sua migração e, conseqüentemente, estimulando a angiogênese⁽²⁸⁾. O estudo de Aimbire et al.⁽⁶²⁾ demonstrou a capacidade da LLLT em biomodular a expressão de *TNF- \hat{a}* , após traumatismo pulmonar induzido por complexo imune em ratos. A LLLT foi capaz de induzir a liberação de *TGF- \hat{a}* e *PDGF* em fibroblastos⁽²³⁾ e *TGF- \hat{a}* em cardiomiócitos⁽²⁰⁾. Diferentes densidades de energia promovem efeitos diversos na modulação da produção dos fatores de crescimento, sendo que a regulação de citocinas celulares de via autócrina podem estar associadas com o fenômeno da biomodulação⁽²³⁾. Portanto, a LLLT apresenta uma influência indireta na expressão de RNAm para *VEGF*, por meio da modulação das concentrações de outros fatores de crescimento que estimulam a produção de *VEGF*.

Após análise crítica dos resultados apresentados, alguns pontos merecem ser ressaltados: (1) a LLLT é capaz de influenciar determinantemente os resultados do processo de angiogênese; (2) em razão da escassez de evidências sobre os mecanismos de ação biomolecular da LLLT, torna-se difícil estabelecer parâmetros ideais de irradiação para estimulação e/ou inibição da angiogênese fisiológica e/ou patológica e, portanto, ainda não existem protocolos de dosimetrias seguras para pacientes oncológicos; (3) novos estudos são necessários para o melhor

entendimento da influência da LLLT sobre processos biológicos e patológicos em humanos; (4) após a elucidação dos mecanismos de ação da LLLT, os pacientes em tratamento do câncer poderiam ser beneficiados pela capacidade da LLLT em inibir processos patológicos, tais como a angiogênese.

Conclusão

A utilização da LLLT é cada vez mais comum nas rotinas clínicas de atendimentos em saúde, especialmente para controle da dor, reparo e cicatrização de feridas cirúrgicas. O efeito bioestimulatório da LLLT é também obtido sobre o processo de angiogênese, em especial sobre o fator de crescimento endotelial vascular, crucial para a progressão e metastatização de tumores sólidos malignos. Entretanto, os mecanismos de ação da LLLT sobre o processo de angiogênese ainda não estão bem esclarecidos. Apesar de não existirem indícios claros sobre a função do laser no desenvolvimento de tumores malignos, a influência da LLLT sobre a estimulação do processo de angiogênese conduz à necessidade de prévio conhecimento do profissional sobre a ausência de lesões malignas ou lesões cancerizáveis nas áreas a serem irradiadas, sob risco de promover o desenvolvimento tumoral e, conseqüentemente, piorar o prognóstico da doença.

Referências

- Gupta K, Zhang J. Angiogenesis: a curse or cure? *Postgrad Med J*. 2005;81(954):236-42.
- Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res*. 2001;49(3):507-21.
- Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 1992;267(16):10931-4.
- Polverini PJ. The pathophysiology of angiogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1995;6(3):230-47.
- Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Ann Rev Cell Dev Biol*. 1995;11:73-91.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Eur J Cancer*. 1996;32A(14):2413-22.
- McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg*. 1999;134(12):1325-31.
- Martin P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997;276(5309):75-81.
- Schaffer CJ, Nanney LB. Cell biology of wound healing. *Int Rev Cytol*. 1996;169:151-81.
- Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, Taheri S, Rakhshan M. Effect of low-level laser therapy on the healing of second-degree burns in rats: a histological and microbiological study. *J Photochem Photobiol B*. 2005;78(2):171-7.
- Bisht D, Mehrotra R, Singh PA, Atri SC, Kumar A. Effect of helium-neon laser on wound healing. *Indian J Exp Biol*. 1999;37(2):187-9.
- Corazza AV. Fotobiomodulação comparativa entre o laser e LED de baixa intensidade na angiogênese de feridas cutâneas em ratos [dissertação]. São Carlos: Universidade de São Paulo. Instituto de Química de São Carlos; 2005.
- Gál P, Vidinsky B, Toporcer T, Mokry M, Mozes S, Longauer F, et al. Histological assessment of the effect of laser irradiation on skin wound healing in rats. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(4):480-8.
- Kert J, Rose L. *Clinical laser therapy: low level laser therapy*. Copenhagen: Scandinavian Medical Laser Technology; 1989.
- Ihsan FR. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(3):289-94.
- Salate AC, Barbosa G, Gaspar P, Koeke PU, Parizotto NA, Benze BG, et al. Effect of In-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats. *Photomed Lasers Surg*. 2005;23(5):470-5.
- Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1988;17(6):388-91.
- Yaakobi T, Shoshany Y, Levkovitz S, Rubin O, Ben Haim SA, Oron U. Long-term effect of low energy laser irradiation on infarction and reperfusion in the rat heart. *J Appl Physiol* (1985). 2001;90(6):2411-9.
- Agaiyby AD, Ghali LR, Wilson R, Dyson M. Laser modulation of angiogenic factor production by T-Lymphocytes. *Lasers Surg Med*. 2000;26(4):357-63.
- Kipshidze N, Nikolaychik V, Keelan MH, Shankar LR, Khanna A, Kornowski R, et al. Low-power helium: neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor and promotes growth of endothelial cells in vitro. *Lasers Surg Med*. 2001;28(4):355-64.
- Schindl A, Merwald H, Schindl L, Kaun C, Wojta J. Direct stimulatory effect of low-intensity 670 nm laser irradiation on human endothelial cell proliferation. *Brit J Dermatol*. 2003;148(2):334-6.
- Webb C, Dyson M, Lewis WH. Stimulatory effect of 660 nm low level laser energy on hypertrophic scar-derived fibroblast: possible mechanisms for increase in cell counts. *Lasers Surg Med*. 1998;22(5):294-301.
- Yu W, Naim JO, Lanzafan RJ. The effects of photo-irradiation on the secretion of TGF- β & PDGF from fibroblasts in vitro. *Lasers Surg Med*. 1994;15(S6): 8.
- Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Peruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983;219(4587):983-5.
- Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;161(2):851-8.
- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989;246(4935):1306-9.
- Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Warren T, Feder J, et al. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*. 1989;246(4935):1309-12.
- Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004;56(4):549-80.
- Roy H, Bhardwaj S, Yla-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett*. 2006;580(12):2879-87.

30. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9(6):669-76.
31. Nör JE, Christensen J, Mooney DJ, Polverini PJ. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. *Am J Pathol*. 1999;154(2):375-84.
32. Telles PD, Hanks CT, Machado MA, Nör JE. Lipoteichoic acid up-regulates VEGF expression in macrophages and pulp cells. *J Dent Res*. 2003;82(6):466-70.
33. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. 2005;9(4):777-94.
34. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Collins T. Reparo dos tecidos: crescimento celular, fibrose e cicatrização de feridas. In: Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Patologia estrutural e funcional*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 79-100.
35. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamame A, Ikeda T, Tojo A, Matsushima H, et al. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene*. 1990;5(4):519-24.
36. Terman BI, Carrion ME, Kovacs E, Rasmussen BA, Eddy RL, Shows TB. Identification of a new endothelial cell growth factor receptor tyrosine kinase. *Oncogene*. 1991;6(9):1677-83.
37. Bhardwaj S, Roy H, Gruchala M, Viita H, Kholova I, Kokina I, et al. Angiogenic responses of vascular endothelial growth factors in periadventitial tissue. *Hum Gene Ther*. 2003;14(15):1451-62.
38. Rissanen TT, Rutanen J, Yla-Herttuala S. Gene transfer for therapeutic vascular growth in myocardial and peripheral ischemia. *Adv Genet*. 2004;52:117-64.
39. Bootle-Wilbraham CA, Tazzyman S, Thompson WD, Stirr CM, Lewis CE. Fibrin fragment stimulates the proliferation, migration and differentiation of human microvascular endothelial cells in vitro. *Angiogenesis*. 2001;4(4):269-75.
40. Bellomo D, Headrick JP, Silins GU, Paterson CA, Thomas PS, Gartside M, et al. Mice lacking the vascular endothelial growth factor-B gene (*Vegfb*) have smaller hearts, dysfunctional coronary vasculature, and impaired recovery from cardiac ischemia. *Circ Res*. 2000;86(2):E29-35.
41. Enholm B, Paavonen K, Ristimäki A, Kumar V, Gunji Y, Klefstrom J, et al. Comparison of VEGF, VEGF-B, VEGF-C and Ang-1 mRNA regulation by serum, growth factors, oncoproteins and hypoxia. *Oncogene*. 1997;14(2):2475-83.
42. Riedel F, Gotte K, Goessler U, Sadick H, Hormann K. Targeting chemotherapy-induced VEGF up-regulation by VEGF antisense oligonucleotides in HNSCC cell lines. *Anticancer Res*. 2004;24(4):2179-83.
43. Harada S, Nagy JA, Sullivan KA, Thomas KA, Endo N, Rodan GA, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *J Clin Invest*. 1994;93(6):2490-6.
44. Lionello M, Staffieri A, Marioni G. Potential prognostic and therapeutic role for angiogenesis markers in laryngeal carcinoma. *Acta Otolaryngol*. 2012;132(6):574-82. doi: 10.3109/00016489.2011.652308.
45. Taybos G. Oral changes associated with tobacco use. *Am J Med Sci*. 2003;326(4):179-82.
46. Pajusola K, Aprelikova O, Korhonen J, Kaipainen A, Pertovaara L, Alitalo R, et al. FLT4 receptor tyrosine kinase contains seven immunoglobulin-like loops and is expressed in multiple human tissues and cell lines. *Cancer Res*. 1992;52(20):5738-43.
47. Smith BD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2000;18(10):2046-52.
48. Wang Z, Chen Y, Li X, Xu L, Ma W, Chang L, et al. Expression of VEGF-C/VEGFR-3 in human laryngeal cell carcinomas and its significance for lymphatic metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(1):27-31.
49. Hirota K, Wakisaka N, Sawada-Kitamura S, Kondo S, Endo K, Tsuji A, et al. Lymphangiogenesis in regional lymph nodes predicts nodal recurrence in pathological N0 squamous cell carcinoma of the tongue. *Histopathology*. 2012;61(6):1065-71. doi: 10.1111/j.1365-2559.2012.04341.x.
50. Lyons RF, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J. Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser. *Ann Plast Surg*. 1987;18(1):47-50.
51. Abt E. Biostimulation and photodynamic therapy. In: Misenderino LJ, Pick RM. *Lasers in dentistry*. Chicago: Quintessence Books; 1995. p. 247-57.
52. Danhoff G. Biological effects of the laser beam. In: Simunovic Z. *Lasers in medicine and dentistry: basic and up-to-date clinical application of low energy-level laser therapy LLLT*. Croatia: Rijeka; 2000. p. 127-52.
53. Silveira PC, Streck EL, Pinho RA. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B*. 2007;86(3):279-82.
54. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers Surg Med*. 1992;12(4):441-9.
55. Enwemeka C, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff L. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg*. 2004;22(4):323-9.
56. Woodruff LD, Bounkeo JM, Brannon WM, Dawes KS, Barham CD, Waddell DL, et al. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg*. 2004;22(3):241-7.
57. Silva TC, Oliveira TM, Sakai VT, Dionísio TJ, Santos CF, Bagnato VS, et al. In vivo effects on the expression of vascular endothelial growth factor-A165 messenger ribonucleic acid of an infrared diode laser associated or not with a visible red diode laser. *Photomed Laser Surg*. 2010;28(1):63-8. doi: 10.1089/pho.2008.2403.
58. Basso FG, Oliveira CF, Kurachi C, Hebling J, Costa C. Biostimulatory effect of low-level laser therapy on keratinocytes in vitro. *Lasers Med Sci*. 2013;28(2):367-74.
59. Fenq J, Zhang Y, Xing D. Low-power laser irradiation (LPLI) promotes VEGF expression and vascular endothelial cell proliferation through the activation of ERK/Sp1 pathway. *Cell*

- Signal. 2012;24(6):1116-25. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.013.
60. Hou JF, Zhang H, Yuan X, Li J, Wei YJ, Hu SS. In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation. *LaserS Surg Med.* 2008;40(10):726-33. doi: 10.1002/lsm.20709.
61. Bossini PS, Rennó AC, Ribeiro DA, Fangel R, Ribeiro AC, Lahoz MA, et al. Low level laser therapy (830nm) improves bone repair in osteoporotic rats: similar outcomes at two different dosages. *Exp Gerontol.* 2012;47(2):136-42. doi: 10.1016/j.exger.2011.11.005.
62. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, et al. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNFalpha levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(1):33-7.

Endereço para correspondência: Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75, Vila Universitária, Bauru-SP, *E-mail:* agnesfatima@gmail.com
