

## **RADICAIS LIVRES GERADOS PELA FOTOBIMODULAÇÃO: CONTROVÉRSIAS E PERSPECTIVAS**

**Ana Maria Carvalho Moraes, Renata Amadei Nicolau, Milton Beltrame Júnior**

UNIVAP - Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Ciências Biológica, Rua Shishima Hifume, 2911,  
São José dos Campos, SP, [aninhem@yahoo.com.br](mailto:aninhem@yahoo.com.br)

**Resumo-** Nas últimas décadas o interesse pelo uso de laser de baixa intensidade (TLBI) e/ou outras fontes luminosas nas áreas da saúde humana vem crescendo exponencialmente. A fotobiomodulação pode trazer como consequência o surgimento de espécies reativas de oxigênio (EROS), gerando benefícios ou malefícios para o organismo. O objetivo principal deste estudo é abordar os efeitos dos radicais livres gerados através da fotobiomodulação. Através dos resultados obtidos da revisão concluímos que grandes quantidades de EROS são letais para a célula, um fenômeno explorado na fotobiomodulação como eram esperados, assim como em baixas concentrações, inferior ao exigido para a citotoxicidade, EROS têm um amplo efeito positivo de estimulantes sobre o organismo.

**Palavras-chave:** Laser, fotobiomodulação, espécies reativas de oxigênio, radicais livres.

**Área do Conhecimento:** IV - Ciências da saúde

### **Introdução**

O termo radical livre refere-se a átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica e buscam estabilidade em outras moléculas, átomos ou compostos íntegros do corpo humano (FERREIRA; MATSUBARA, 1997) e as espécies reativas de oxigênio (EROS) são quaisquer espécies oxidantes altamente reativas, inclusive os radicais livres. Exemplos de EROS não radicalares são o peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso, ozônio, oxigênio singleto e peróxidos lipídicos: todos capazes de induzir a produção de radicais livres no nosso organismo. O desequilíbrio entre a formação e remoção de agentes oxidantes no organismo é chamado de estresse oxidativo, decorrente da geração excessiva de EROS e/ou diminuição de antioxidante (TIRAPÉGUI, 2006).

De acordo com o local de produção e a tensão de oxigênio, vários EROS são gerados, sendo necessário um equilíbrio em sua concentração, pois caso a sua produção exceda sua neutralização, efeitos tóxicos passam a ser observados. Essas moléculas podem alcançar o citoplasma das células e peroxidar lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, gerando consequências múltiplas, como alterações mitocondriais, bloqueio na replicação celular, depleção de ATP e apoptose. Por esta razão, as células são protegidas por mecanismo de defesa, chamados antioxidantes enzimáticos e/ou não-enzimáticos, que neutralizam as EROS e seus efeitos prejudiciais ao organismo (TAFFUR; MILLS, 2008).

Atualmente, o laser tem sido rotineiramente empregado em diversas áreas da ciência, inclusive na Medicina e Odontologia. Trata-se de uma fonte de radiação não ionizante, altamente concentrada, que em contato com diferentes tecidos resulta, de acordo com o tipo de laser, em efeitos fototérmicos, fotoquímicos entre outros (ZANCANELA, 2009).

Nas últimas décadas o interesse pelo uso de laser na área da saúde vem crescendo exponencialmente, com aplicações em reparo tecidual, para obtenção de efeito analgésico e anti-inflamatório, na redução da atividade antibacteriana, entre outras aplicabilidades (PRIMO, 2009). A fotobiomodulação tem sua eficiência atribuída ao emprego adequado de comprimento de onda, densidade de energia, tempo de terapia (DALL AGNOL et al., 2009; MEDEIROS et al., 2010). A terapia com laser de baixa intensidade (TLBI) pode promover a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) ou radicais livres, as quais geram citotoxicidade celular (PRIMO, 2009). Muitos estudos têm sido desenvolvidos empregando TLBI nas últimas décadas, contudo o aspecto de interatividade das EROS sobre o sistema celular nas áreas tratadas com laser é pouco abordado, sendo o objetivo do presente estudo de revisão.

### **Metodologia**

Para a elaboração do presente artigo foram realizados levantamentos bibliográficos que abordam os efeitos dos radicais livres gerados através da fotobiomodulação, de artigos científicos, veiculados na íntegra, em acesso livre e eletrônico; publicados desde 1996 á 2010; nos

idiomas inglês e português; obtidos a partir das bases de dados eletrônicas LILACS; Scielo; Bireme; PubMed e Google Acadêmico e; localizados ao se utilizar os termos: *Radicais livres, laser e fotobiomodulação*, bem como seus congêneres em língua inglesa.

## Resultados

Em estudo observou-se taxas expressivas de necrose celular após irradiação (laser no infravermelho próximo) com altas densidades de energia (acima de  $10 \text{ J/cm}^2$ ) (SILVA, 2009) que pode ter sido decorrente do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS), responsáveis pela intensa excitação de atividade mitocondrial (ALEXANDRATOU et al., 2002; GRVICICH; REGNER; ROCHA, 2007). O comprimento de onda dos equipamentos emissores de radiação eletromagnética empregados está dentro do infravermelho próximo. Estes têm sido apontados como responsáveis por aumento de atividade celular (SONNEWEND; NICOLAU, 2007; SONNEWENN, 2009).

A luz laser altera o estudo funcional das células, parcialmente por influenciar nas reações de oxido-redução, as quais ocorrem durante o transporte elétrico na mitocôndria, bem como na geração de EROS a partir delas. Os radicais livres derivados do oxigênio têm sido propostos como possíveis mediadores na ativação de sistemas biológicos pela luz. Callaghan et al. (1996) trataram culturas de células hematopoiéticas com laser operando com 660 nm e constataram a indução na produção de EROS e irradiaram culturas de queratinócitos com diodo laser operando em 780 nm e notaram o envolvimento de EROS no efeito proliferativo das células (SILVA, 2009). Nos estudos de Alexandre et al. (2002) empregou laser em 647 nm em fibroblastos humanos, densidade de energia de  $1,5 \text{ mJ/cm}^2$ , durante 15 segundos, dosimetria baixa comparada a outros estudos, supondo que ocorra as mesmas alterações mitocondriais em todas as densidades de energia que sejam superiores a utilizada neste estudo.

De acordo com Karu et al. (2001 e 2004) o mecanismo de atuação de terapia laser de baixa intensidade, em níveis celulares, baseia-se no aumento do metabolismo oxidativo mitocondrial, causado por uma excitação dos componentes da cadeia respiratória. Esta excitação pode causar um estresse oxidativo, levando à morte celular devido ao acúmulo de EROS. O aumento do nível de EROS leva a oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, aumentando o colapso do potencial de membrana mitocondrial interna, que leva a perda da homeostasia celular interrompendo a síntese de ATP (LUBART et al.,

2005; GRVICICH; REGNER; ROCHA, 2007) (SILVA, 2009).

Segundo Schieke, Schroeder e Krutmann (2003) a radiação infravermelho (760 nm), em torno de  $75 \text{ J/cm}^2$ , devido a mecanismos moleculares ainda desconhecidos, parece estar envolvida em fotoenvelhecimento e, potencialmente, também em processos de fotocarcinogênese, o mesmo pode estar associado a luz laser em comprimentos de ondas menores, localizados na luz visível que estimulam maior produção de EROS em relação aos lasers vermelhos. Entretanto, em contraste com efeitos benéficos na pele humana, conferindo-lhe proteção contra a citotoxicidade induzida pela radiação (SILVA, 2009).

Na revisão de Taffur e Mills (2008), os autores citam estudos anteriores que relatam em que baixas concentrações de EROS demonstrou ser eficaz em estimular o crescimento *in vitro* de hamster e fibroblastos de rato.

Em alguns casos, a produção de EROS pelo transporte de elétrons leva a mecanismos proliferativo. Em outros casos, como em plantas, a produção de EROS pode provocar a indução de antioxidantes que tem o mecanismo de defesa, faz a síntese de catadores de EROS impedido danos ao organismo (TAFFUR; MILLS, 2008).

## Discussões

De acordo com pesquisas que abordam fotobiomodulação, trazem o surgimento de espécies reativas de oxigênio (EROS) e seus respectivos malefícios no organismo, em sua maioria. Porém, há evidências constatadas em artigos, que resumem os efeitos estimulantes do lasers atribuídos à formação de pequenas quantidades de luz induzida por EROS e antioxidantes enzimáticos. Com afirmações na literatura mostrando que a luz induzida de EROS pode trazer benefícios.

## Conclusão

Um grande número de estudos, avaliando aspectos variados dos efeitos prejudiciais do laser no organismo, tem sido publicado gerando controvérsias do uso do laser na área da saúde com apenas perspectivas benéficas.

Os resultados obtidos através da revisão nos permitem concluir que grandes quantidades de EROS são letais para a célula, um fenômeno explorado em fotobiomodulação como eram esperados, assim como em baixas concentrações, inferior ao exigido para a citotoxicidade, EROS têm um amplo efeito positivo de estimulantes sobre o organismo.

Ainda temos muito a pesquisar e aprender sobre esta relação. A investigação dos radicais livres gerados através do laser, pode estar abrindo um novo capítulo em nossa compreensão.

## Referências

- ALEXANDRE, E; YOVA, D; HANDRIS, P; KLETSAS, D; LOUKAS, S. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy. **Photochem Photobiol Sci.**, v.1, p.547-552, 2002.
- CALLAGHAN, A.; RIORDAN, C.; GILMORE, W. S.; MCINTYRE, I. A.; ALLEN, J. A.; HANNINGAN, B. H. Reactive oxygen species inducible by low-intensity laser radiation parameters. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 19, p.201-206, 1996.
- DALL AGNOL, M. A, et al. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. **Lasers Med. Sci.** v.24, n.6, p.909-916, 2009.
- FERREIRA, A. L. A; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v. 43, n. 1: p. 61-68, mar. 1997.
- GRIVICICH, I; REGNER, A; ROCHA, A. Morte celular por apoptose. **Rev Bras Cancerol**, v. 53, n.3, p.335-343, 2007.
- KARU, T. I; AFANASYEVA, N. I; KOLYAKOV, S. F; PYATIBRAT, L. V e WELSER, L. Changes in absorbance of monolayer of living cells induced by laser radiation at 633, 670 and 820 nm. **Lee J Sel Top Qusntum Electron**, v. 7, n. 6, p. 982 – 988, November/December, 2001.
- KARU, T. I; PYATIBRAT, L. V; AFANASYEVA, N. I. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. **Photochem Photobiol**, v. 80, p. 366-372, 2004.
- LUBART, R; EICHLER, M; LAVI, R; FRIEDMAN, H; SHAINBERG, A. Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.1, p.3-9, 2005.
- MEDEIROS, J. L; NICOLAU, R. A; NICOLA, E. M; DOS SANTOS, J. N; PINHEIRO, A. L; Healing of surgical wounds made with lambda970-nm diode laser associated or not with laser phototherapy (lambda655 nm) or polarized light (lambda400-2000 nm). **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 4, p.489-96, ago. 2010.
- PRIMO, L. F. **Processo fotodinâmico para bioestimulação tecidual em modelo in vitro de pele humana empregando-se laser de baixa potência e cloro alumínio ftalocianina em nanoemulsão**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso. (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. Ribeirão Preto, 2009.
- ROCHA JÚNIOR, A. M; VIEIRA, B.J; ANDRADE, L. C. F; AARESTRUP, F. M. Effects of low- level laser therapy on the progresso f wound healing in humans: the contribution of in vitro and in vivo experimental studies: Rewiew Article. **J Vasc Bras**, v.6, n.3, p.258-266, 2007.
- SCHIEKE, S. M.; SCHROEDER, P.; KRUTMANN, J. Cutaneous effects of infrared radiation: from clinical observations to molecular response mechanisms. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v.19, n.5, p.228-234, 2003.
- SILVA, R. B. **Efeitos da bioestimulação a laser nas taxas de maturação, fertilização e cultivo de embriões bovinos produzidos in vitro**. 2008.Trabalho de Conclusão de Curso. (Mestrado em Medicina Veterinária) – Unesp. Jaboticabal, 2008.
- SILVA, V. S. **Avaliação da frequência de necrose e apoptose celular em doses laser e led na região espectral do infravermelho – Estudo in vitro**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso. (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, 2009.
- SONNEWEND, D; NICOLAU, R. A. Terapia com laser em baixa potência na região do infravermelho próximo, sobre a proliferação de fibroblastos - revisão. **VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**, 2007.
- TAFUR, J; MILLS, P. J. Low-intensity light therapy: exploring the role of redox mechanisms. **Photomed Laser Surg**, v.26, n.4, p.323-328, 2008.
- TIRAPEGUI, J. **Nutrição Fundamentos e Aspectos Atuais**. São Paulo: Atheneu, 2 ed, 2006.
- ZANCANELA, D. C. **Avaliação do uso do laser e processos fotodinâmicos na estimulação e**

XVINIC

Encontro Latino Americano  
de Iniciação Científica

XI EPG

Encontro Latino Americano  
de Pós Graduação

VINIC Jr

Encontro Latino Americano  
de Iniciação Científica Júnior

**crescimento celular de osteoblastos. Avaliação  
fotofísica e fotobiológica na presença e  
ausência de fármacos fotossensíveis. 2009.**  
Trabalho de Conclusão de Curso. (Mestrado em  
Ciências) – USP. Ribeirão Preto, 2009.