

PERFIL ELETROFORÉTICO DE PLASMÍDEOS BACTERIANOS EXPOSTOS A LEDS E LASERS DE BAIXA POTÊNCIA

Lucas Resende de Andrade da Cunha¹, Rickson Souza Ribeiro², Adenilson de Souza da Fonseca³,

¹lucasrter@gmail.com, técnico-administrativo, Curso de Medicina, Unifeso.

²rickson658@gmail.com, discente, Programa de Pós-graduação em Biociências, UERJ.

³adenilsonfonseca@unifeso.edu.br, docente, Curso de Medicina, Unifeso.

Este trabalho foi apoiado pelo Plano de Iniciação Científica e Pesquisa do Unifeso (PICPq/Unifeso)

Área temática: Ação de agentes químicos e físicos causadores de estresse.

RESUMO

Lasers (light amplification by stimulated emission of radiation) são fontes de radiação monocromática, de alta densidade de energia, alta colimação e coerência. LEDs (light-emitting diode) são fontes de radiação quase-monocromática, não colimada e não coerente. *Lasers* e LEDs de baixa potência, dentro da chamada janela terapêutica (390 a 1100 nm), têm sido utilizados em protocolos terapêuticos para cicatrização de feridas, redução de processos inflamatórios e da dor com base na fotobiomodulação de tecidos biológicos. Este efeito ocorre quando a radiação é absorvida por fotoceptores intracelulares, levando ao aumento da produção de radicais livres e síntese de ATP, proteínas e ácidos nucleicos. Entretanto, os efeitos da fotobiomodulação não são totalmente compreendidos, principalmente na estabilidade genômica. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar efeitos da fotobiomodulação induzida por radiações emitidas por *lasers* e LEDs terapêuticos de baixa potência no DNA. Para tal, amostras de plasmídeos pUC19 foram expostas a LEDs, azul (470 nm) e âmbar (590 nm), e a *lasers*, vermelho (658 nm) e infravermelho (830 nm), em diferentes fluências no modo contínuo de emissão, submetidos à eletroforese em gel de agarose e as porcentagens das formas plasmidiais foram quantificadas. Os dados obtidos indicam que a exposição aos LEDs, azul e âmbar, e aos *lasers*, vermelho e infravermelho, não alteraram as porcentagens das formas plasmidiais. Nossa pesquisa sugere que a exposição às radiações âmbar e azul emitidas por LEDs terapêuticos, isoladamente ou simultaneamente à exposição às radiações infravermelha e vermelha emitidas por *lasers* terapêuticos de baixa potência, não induz danos no DNA que sejam capazes de alterar o perfil eletroforético de plasmídeos bacterianos.

Palavras-chave: DNA, fotobiomodulação, *laser*, light-emitting diode, plasmídeo.

ABSTRACT

Lasers (light amplification by stimulated emission of radiation) are radiation sources of monochromatic radiation, with high energy density, high collimation, and coherence. LEDs (light-emitting diode) are radiation sources of quasi-monochromatic, non-collimated and non-coherent radiation. Low-power lasers and LEDs, in the so-called therapeutic window (390 up to 1100 nm), have been used in therapeutic protocols for wound healing, reduction of inflammatory processes and pain based on photobiomodulation of biological tissues. This effect occurs when radiation is absorbed by intracellular photoacceptors, leading to increased production of free radicals and synthesis of ATP, proteins, and nucleic acids. However, the effects of photobiomodulation are not fully understood, especially on genomic stability. Thus, the aim of this work was to evaluate the effects of photobiomodulation induced by radiation emitted by low-power therapeutic lasers and LEDs on DNA. For this purpose, pUC19 plasmid samples were exposed to LEDs, blue (470 nm) and amber (617 nm), and to lasers, red (658 nm) and infrared (830 nm), at different fluences in the continuous mode of emission, submitted by agarose gel electrophoresis and the percentages of plasmid forms were quantified. The data obtained indicate that exposure to LEDs, blue and amber, and to lasers, red and infrared, did not change the percentages of plasmid forms. Our research suggests that exposure to amber and blue radiation emitted by therapeutic LEDs, alone or simultaneously to exposure to infrared

and red radiation emitted by low-power therapeutic lasers, does not induce DNA damage that is capable of altering the electrophoretic profile of bacterial plasmids.

Keywords: DNA, photobiomodulation, laser, light-emitting diode, plasmid.

INTRODUÇÃO

Laser é um acrônimo para “*light amplification by stimulated emission of radiation*”, ou seja, amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação. É um dispositivo que contém um material (ou meio emissor) capaz de emitir luz quando estimulado por uma fonte externa de energia numa cavidade óptica composta por dois espelhos, sendo um de reflexão parcial, através do qual ocorre o escape (emissão) do feixe de luz (YOUNG, 1998). A radiação emitida por um *laser* possui características que a fazem de interesse para aplicações em Saúde: (i) monocromática, (ii) alta densidade de energia, (iii) alta colimação e, (iv) coerência (temporal e espacial) (O’SHEA et al., 1978). Tomando como critério a potência do feixe de radiação emitida, os *lasers* podem ser classificados como de alta, média ou baixa potência. Na prática profissional, os equipamentos *lasers* podem ser diferenciados pelo comprimento de onda (ou frequência) da radiação emitida, pelo modo de emissão (contínuo ou pulsado) ou ainda pela sua fluência (ou densidade de energia), que pode ser de alta, média ou baixa fluência (NIEMZ, 2007).

LED é um acrônimo para “*light-emitting diode*”, ou seja, diodo emissor de luz. Os LEDs são fontes emissoras capazes de emitir radiações com comprimento de onda, ou frequência, em uma pequena faixa do espectro eletromagnético, sendo, portanto, considerados como fontes de radiações quase-monocromáticas (ZHELUDEV, 2007). Além disso, diferente dos *lasers*, os LEDs não emitem radiações coerentes e os feixes de radiações emitidos não são colimados.

Os *lasers* e os LEDs de baixa potência têm atraído grande atenção da comunidade científica internacional devido as suas

aplicações terapêuticas. Estas aplicações têm se baseado na chamada fotobiomodulação, cujo primeiro relato foi feito em 1967 por Endre Mester. Seu estudo objetivava verificar efeito cancerígeno da radiação emitida por um *laser* de rubi (694 nm) de baixa potência. Entretanto, ele verificou aceleração do crescimento dos pelos do dorso dos camundongos irradiados (MESTER et al., 1968). Atualmente, terapias baseadas em *lasers* e LEDs de baixa potência têm sido utilizadas com sucesso por profissionais da Saúde (dentistas, enfermeiros, fisioterapeutas e médicos) para tratamento de diferentes doenças em tecidos moles e no tecido ósseo, bem como para fins estéticos (por biólogos, biomédicos, fisioterapeutas e médicos). De fato, estes *lasers* vêm sendo utilizados em protocolos terapêuticos para cicatrização de feridas (METIN et al., 2018) e de fraturas ósseas (KHEIRI et al., 2020), no tratamento de lesões na cavidade oral (LEGOUTÉ et al., 2019) e para reduzir a sensação algica (YEH et al., 2019). Os LEDs de baixa potência são também utilizados para tratamento de processos inflamatórios (HELRIGLE et al., 2016), cicatrização de feridas (TEUSCHL et al., 2015) e alívio da dor (HERPICH et al., 2014).

A chamada janela terapêutica para os *lasers* de baixa potência compreende parte do espectro visível e parte do infravermelho próximo (de 600 a 1100 nm, aproximadamente), com diferentes aplicações clínicas. Para os LEDs, a janela terapêutica é mais ampla, compreendendo desde a radiação ultravioleta A até o infravermelho próximo (390 a 1100 nm, aproximadamente). A figura 1 é uma representação esquemática do espectro eletromagnético e das janelas terapêuticas para os *lasers* e LEDs terapêuticos de baixa potência.

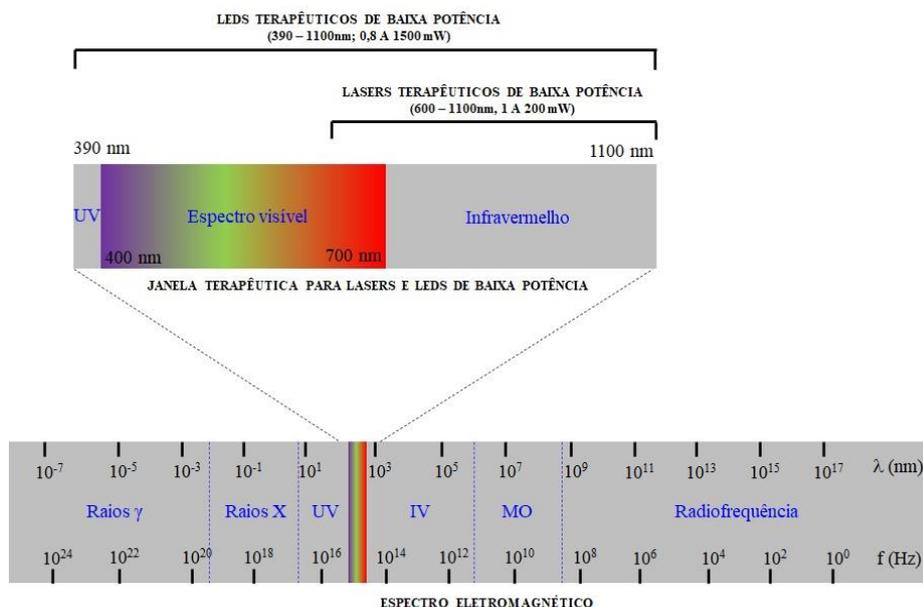


Figura 1: Representação esquemática do espectro eletromagnético e das janelas terapêuticas para *lasers* e LEDs de baixa potência. UV: ultravioleta; IV: infravermelho; MO: microondas; f: frequência da radiação; λ: comprimento de onda da radiação.

Entretanto, como radiações nestas duas regiões do espectro eletromagnético apresentam efeitos fotofísicos e fotoquímicos diferentes, há dúvidas sobre como elas podem produzir resultados clínicos semelhantes. Na literatura são encontrados estudos sobre os efeitos da fotobiomodulação induzida por radiações emitidas por *lasers* de baixa potência em culturas de células (ALEXSANDRA DA SILVA NETO TRAJANO et al., 2016), em animais (DA SILVA NETO TRAJANO et al., 2018) e em humanos (DOMPE et al., 2020). Embora resultados importantes sobre a fotobiomodulação induzida por radiações emitidas por estes *lasers* e LEDs tenham sido obtidos, a relação dose-resposta não foi ainda obtida para todas as radiações utilizadas em protocolos terapêuticos, bem como os mecanismos moleculares responsáveis pelos efeitos observados não são completamente compreendidos. Entretanto, tem sido sugerido que a fotobiomodulação induzida em tecidos biológicos por radiações emitidas por estes *lasers* e LEDs de baixa potência tem por fatores determinantes: o comprimento de onda, a intensidade, a dose, a concentração de fotoceptores e as propriedades ópticas

(reflexão, transmissão, absorção, espalhamento e anisotropia) do tecido irradiado, bem como o seu estado fisiológico são fatores determinantes para os efeitos da fotobiomodulação (DA FONSECA, 2019; DE SOUZA DA FONSECA et al., 2021). Por outro lado, há uma grande diversidade de protocolos terapêuticos propostos nos manuais dos equipamentos *lasers* e LEDs terapêuticos de baixa potência nos quais as condições de irradiação utilizadas diferem, o que dificulta a comparação dos resultados (FONSECA, 2019).

A eficácia terapêutica da fotobiomodulação induzida por radiações emitidas por *lasers*, vermelhos e infravermelhos, de baixa potência é relacionada a uma sequência de eventos em nível molecular e celular, em consequência dos efeitos fotofísicos e fotoquímicos destas radiações (KARU, 2003). O processo iniciaria com a absorção da radiação por um fotoceptor (cromóforo endógeno) intracelular, como a citocromo c oxidase (ou complexo IV) da cadeia respiratória (DA FONSECA, 2019). Em consequência, ocorrerá aumento da síntese de ATP e radicais livres, que promoverão processos de sinalização celular, levando ao

aumento da síntese de ácidos nucléicos e proteínas (KARU, 2003). Estes processos estão envolvidos na secreção de moléculas sinalizadoras extracelulares (como os mediadores inflamatórios), na proliferação celular e alteração do potencial de membrana, que por sua vez, estão envolvidos na regeneração de tecidos biológicos e na redução da dor (YEH et al. 2019).

No caso das radiações emitidas por LEDs de baixa potência, principalmente, na faixa da radiação ultravioleta A (390 nm) até a luz laranja (620 nm), pouco é conhecido a respeito dos mecanismos moleculares envolvidos na fotobiomodulação. Não há clareza sobre qual(is) fotoceptor(es) estaria(m) envolvido(s) na fotobiomodulação induzida por estas radiações. Entretanto, estas radiações também têm sido propostas em protocolos terapêuticos disponíveis nos manuais de equipamentos LEDs terapêuticos comercialmente disponíveis.

A avaliação da mobilidade eletroforética de plasmídios bacterianos vem sendo utilizada como ensaio para avaliação de potencial genotóxico de agentes físicos e químicos (PRESTA et al., 2007; FONSECA et al., 2010; FONSECA et al., 2012a; FONSECA et al., 2012b; DA SILVA MARCIANO et al., 2012; CANUTO et al., 2013; FONSECA et al., 2015). Este ensaio se baseia na alteração do perfil eletroforético de plasmídios bacterianos em géis levemente alcalinos (FONSECA et al., 2010; FONSECA et al., 2012b) e alcalinos (FONSECA et al., 2010; FONSECA et al., 2012a; DA SILVA SERGIO et al., 2013) de agarose. Alterações nas formas plasmidiais (bandas nos géis de agarose) são indicativas de danos no DNA (GANDHI & NAIR, 2005; PRESTA et al., 2007; FONSECA et al., 2010; FONSECA et al., 2012a; FONSECA et al., 2015). Com este método, danos no DNA do tipo quebras simples e duplas da cadeia polinucleotídica, induzidas por agentes físicos e químicos podem ser avaliadas (DA SILVA

MARCIANO et al., 2012; DA SILVA SERGIO et al., 2013; FONSECA et al., 2015).

JUSTIFICATIVA

Apesar do número crescente de aplicações terapêuticas, os efeitos da fotobiomodulação induzida pelas radiações emitidas por *lasers* e LEDs terapêuticos de baixa potência não são totalmente compreendidos. De fato, a maioria das aplicações terapêuticas da fotobiomodulação tem como base relatos de casos clínicos e observações com pouco embasamento científico. A maioria dos protocolos é desenvolvida empiricamente, resultando em doses que variam de poucos a muitos Joules. Assim, por um lado, a melhor compreensão do fenômeno fotobiológico e, por outro, uma dosimetria adequada, podem aprimorar e aumentar as aplicações da fotobiomodulação induzida por *lasers* e LEDs de baixa potência em tecidos biológicos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar danos induzidos por radiações emitidas por *lasers* e LEDs terapêuticos de baixa potência no DNA.

Objetivos específicos

Avaliar o perfil eletroforético de plasmídeos bacterianos expostos a radiações emitidas por:

- LED âmbar (590 nm);
- LED âmbar (590 nm) e *laser* infravermelho (830 nm);
- LED azul (470 nm);
- LED azul (470 nm) e *laser* vermelho (658 nm)

METODOLOGIA

Lasers e LEDs de baixa potência

Foram utilizados lasers, vermelho (658 nm) e infravermelho (830 nm), e LEDs

azul (470 ± 10 nm) e âmbar (617 ± 10 nm)
 (HTM Eletrônica, São Paulo).

Tabela: Parâmetros físicos utilizados nos procedimentos de irradiação com os lasers vermelho e infravermelho de baixa potência.

Parâmetro físico	Valor
<i>Lasers</i>	
Comprimentos de onda	658 e 830 nm
Fluência	3, 6 e 12 J/cm ²
Potência	10 mW
<i>Spot size</i>	0,05 cm ²
Densidade de potência	0,20 W/cm ²
Modo de emissão	Contínuo
<i>LEDs</i>	
Comprimentos de onda	470±10 nm e 617±10 nm
Fluência	160, 320 e 640 J/cm ²
Potência	1,50 W
<i>Spot size</i>	0,28 cm ²
Densidade de potência	5,36 W/cm ²
Modo de emissão	Contínuo

Exposição de plasmídeos bacterianos aos LEDs e lasers de baixa potência e eletroforese em géis de agarose

Amostras de plasmídeos pUC19 (200 ng, New England Biolabs, Inglaterra) foram expostas aos LEDs, âmbar e azul, e aos lasers, infravermelho e vermelho, em diferentes fluências no modo contínuo de emissão (Tabela). Como controle, amostras de plasmídeos não expostas aos LEDs e aos lasers. As amostras foram misturadas com tampão de carregamento (azul de bromofenol a 0,25% e xileno cianol a 0,25% em solução aquosa de glicerol a 25%) e corante fluorescente para DNA (GelRed®, Biotium Inc., EUA). Em seguida, as misturas foram aplicadas em géis de

agarose 0,8% e realizadas as eletroforeses (7 V/cm) em tampão tris-ácido acético-EDTA (tris a 40 mM, ácido acético a 20 mM, EDTA a 1 mM, pH 8,0). Após as eletroforeses, os géis foram colocados em sistema de fotodocumentação para géis com transiluminador por radiação ultravioleta (332 nm), visualizados e as imagens foram capturadas para análise qualitativa e quantitativa das formas plasmidiais (PRESTA et al., 2007; FONSECA et al., 2010; FONSECA et al., 2015). Para tal, foi obtida a densidade de pixels das bandas das formas plasmidiais nas fotografias de géis de agarose através do programa Image J e os valores da densidade de pixels foram utilizados para o cálculo das

porcentagens das formas plasmidiais (FONSECA et al., 2010; CANUTO et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2014).

Análise estatística

Os valores das porcentagens das formas plasmidiais foram apresentadas como média e desvio padrão de 3 experimentos independentes. A distribuição normal destes valores foi avaliada através do teste de Kolmogorov-Smirnov e a comparação entre os grupos foi realizada através de análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Bonferroni, com $p < 0,05$ como menor nível de significância. As análises estatísticas foram realizadas com o software InStat Graphpad.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 2 representa o gráfico das porcentagens das formas plasmidiais (a) e fotografia de gel de agarose (b) após eletroforese de plasmídeos pUC19 irradiados com *laser* infravermelho (830 nm) e LED âmbar (617 ± 10 nm) em diferentes fluências no modo contínuo de emissão.

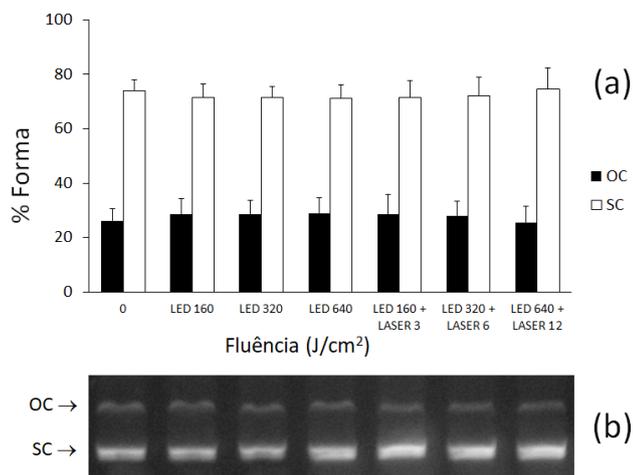


Figura 2: Gráfico da porcentagem das formas plasmidiais (a) e fotografia de gel de agarose (b) após eletroforese de amostras de plasmídeo pUC19 expostas ao *laser* infravermelho (830 nm) e LED âmbar (617 ± 10 nm). Amostras de plasmídeos pUC19 (200 ng) foram expostas ao LED âmbar e ao *laser* infravermelho, em diferentes fluências no modo

contínuo de emissão. Como controle, amostras de plasmídeos não expostas ao LED e ao *laser*. As amostras foram misturadas com tampão de carregamento e corante fluorescente para DNA. Em seguida, as misturas foram aplicadas em géis de agarose 0,8%, realizadas as eletroforeses, os géis foram visualizados e as imagens foram capturadas para análise qualitativa e quantitativa das formas plasmidiais através da densidade de pixels das bandas das formas plasmidiais nas fotografias de géis de agarose através do programa *Image J* e os valores da densidade de pixels foram utilizados para o cálculo das porcentagens das formas plasmidiais. 0: controle; LED 160: LED 160 J/cm²; LED 320: LED 320 J/cm²; LED 640: LED 640 J/cm²; LED 160+LASE 3: LED 160 J/cm² + laser 3 J/cm²; LED 320+LASE 6: LED 160 J/cm² + laser 6 J/cm²; LED 640+LASE 12: LED 640 J/cm² + laser 12 J/cm²; OC: *open circle form*; SC: *supercoiled form*.

A figura 3 representa o gráfico das porcentagens das formas plasmidiais (a) e fotografia de gel de agarose (b) após eletroforese de plasmídeos pUC19 irradiados com *laser* vermelho (658 nm) e LED azul (470 nm) em diferentes fluências no modo contínuo de emissão.

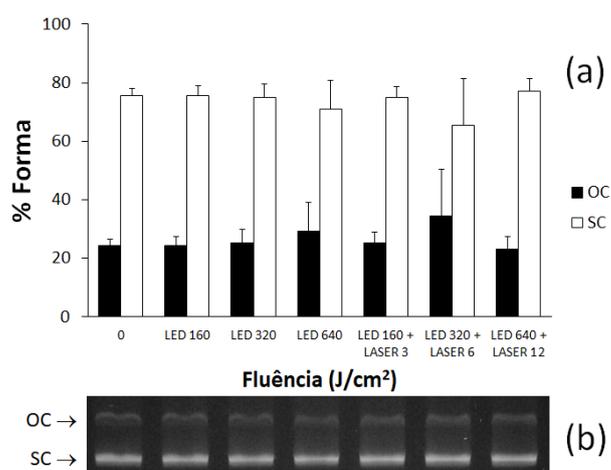


Figura 3: Gráfico da porcentagem das formas plasmidiais (a) e fotografia de gel de agarose (b) após eletroforese de amostras de plasmídeo pUC19 expostas ao *laser* vermelho

(658 nm) e LED azul (470±10 nm). Amostras de plasmídeos pUC19 (200 ng) foram expostas ao LED azul e ao *laser* vermelho, em diferentes fluências no modo contínuo de emissão. Como controle, amostras de plasmídeos não expostas ao LED e ao *laser*. As amostras foram misturadas com tampão de carregamento e corante fluorescente para DNA. Em seguida, as misturas foram aplicadas em géis de agarose 0,8%, realizadas as eletroforeses, os géis foram visualizados e as imagens foram capturadas para análise qualitativa e quantitativa das formas plasmidiais através da densidade de pixels das bandas das formas plasmidiais nas fotografias de géis de agarose através do programa *Image J* e os valores da densidade de pixels foram utilizados para o cálculo das porcentagens das formas plasmidiais. 0: controle; LED 160: LED 160 J/cm²; LED 320: LED 320 J/cm²; LED 640: LED 640 J/cm²; LED 160+LASE 3: LED 160 J/cm² + laser 3 J/cm²; LED 320+LASE 6: LED 160 J/cm² + laser 6 J/cm²; LED 640+LASE 12: LED 640 J/cm² + laser 12 J/cm²; OC: *open circle form*; SC: *supercoiled form*.

Os resultados apresentados nas figuras 2 e 3 sugerem que a exposição aos LEDs, âmbar e azul, e aos *lasers*, infravermelho e vermelho, não altera quantitativamente (Figuras 2a e 3a), $p > 0,05$, e qualitativamente (Figuras 2b e 3b) o perfil eletroforético de amostras de plasmídeos pUC19. Estes resultados estão de acordo com resultados obtidos em nosso laboratório (FONSECA et al., 2012a; FONSECA et al., 2015), sugerindo que a exposição a radiações emitidas por *laser* infravermelho (830 nm) não induz danos no DNA de plasmídeos bacterianos. Entretanto, em relação aos LED âmbar e azul, estes resultados sugerem, pela primeira, vez que as radiações emitidas por estes LEDs não são capazes de induzir danos no DNA em fluências utilizadas em protocolos terapêuticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossa pesquisa sugere que a exposição às radiações âmbar e azul emitidas por LEDs terapêuticos, isoladamente ou simultaneamente à exposição às radiações infravermelha e vermelha emitidas por *lasers* terapêuticos de baixa potência, não induz danos no DNA que sejam capazes de alterar o perfil eletroforético de plasmídeos bacterianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. YOUNG, M. **Óptica e Lasers**. Editora da Universidade de São Paulo: São Paulo, 1998.
2. O'SHEA, D. C.; CALLEN, W. R.; RHODES, W. T. **Introduction to lasers and their applications**. Addison-Wesley Publishing Company: Menlo Park, California, 1978.
3. NIEMZ, M. H. **Laser-tissue interactions: Fundamentals and applications**. Springer-Verlag: New York, 2007.
4. ZHELUDEV, N. The life and times of the LED: a 100-year history. **Nature Photonics** v.1, p: 189-192, 2007.
5. MESTER, E.; SZENDE, B.; GARTNER, P. The effect of laser beams on the growth of hair in mice. **Radiobiol Radiother (Berl)** v. 9, p: 621-626, 1968.
6. METIN, R.; TATLI, U.; EVLICE, B. Effects of low-level laser therapy on soft and hard tissue healing after endodontic surgery. **Lasers Med Sci** v. 33, p:1699-1706, 2018.
7. KHEIRI, A.; AMID, R.; KHEIRI, L.; NAMDARI, M.; MOJAHEDI, M.; KADKHODAZADEH, M. Effect of low-level laser therapy on bone regeneration of critical-size bone defects: a systematic review of in vivo studies and meta-analysis. **Arch Oral Biol** v. 117, p:104782, 2020.
8. LEGOUTÉ, F.; BENSADOUN, R. J.; SEEGER, V.; POINTREAU, Y.; CARON, D.; LANG, P.; PRÉVOST, A.; MARTIN, L.; SCHICK, U.; MORVANT,

- B.; CAPITAIN, O.; CALAIS, G.; JADAUD, E. Low-level laser therapy in treatment of chemoradiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer: results of a randomised, triple blind, multicentre phase III trial. **Radiat Oncol** v. 14, p:83, 2019.
9. YEH, S. W.; HONG, C. H.; SHIH, M. C.; TAM, K. W.; HUANG, Y. H.; KUAN, Y. C. Low-Level Laser Therapy for Fibromyalgia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Pain Physician** v. 22, p: 241-254, 2019.
10. HELRIGLE, C.; DE CARVALHO, P. D.; CASALECHI, H. L.; LEAL-JUNIOR, E. C.; FERNANDES, G. H.; HELRIGEL, P. A.; RABELO, R. L.; DE OLIVEIRA ALEIXO-JUNIOR I.; AIMBIRE, F.; ALBERTINI, R. Effects of low-intensity non-coherent light therapy on the inflammatory process in the calcaneal tendon of ovariectomized rats. **Lasers Med Sci** v. 31, p:33-40, 2016.
11. TEUSCHL, A.; BALMAYOR, E. R.; REDL, H.; VAN GRIENSVEN, M.; DUNGEL, P. Phototherapy with LED light modulates healing processes in an in vitro scratch-wound model using 3 different cell types. **Dermatol Surg** v. 41, p: 261-268, 2015.
12. HERPICH, C. M.; LEAL-JUNIOR, E. C.; AMARAL, A. P.; TOSATO, JDE. P.; GLÓRIA, I. P.; GARCIA, M. B.; BARBOSA, B. R.; EL HAGE, Y.; ARRUDA, É. E.; GOMES, C.Á.; RODRIGUES, M. S.; DE SOUSA, D. F.; DE CARVALHO, PDE. T.; BUSSADORI, S. K.; GONZALEZ, TDE. O.; POLITTI, F.; BIASOTTO-GONZALEZ, D. A. Effects of phototherapy on muscle activity and pain in individuals with temporomandibular disorder: a study protocol for a randomized controlled trial. **Trials** v. 16, p: 491, 2014.
13. ALEXSANDRA DA SILVA NETO TRAJANO, L.; DA SILVA, C. L.; DE CARVALHO, S. N.; CORTEZ, E.; MENCALHA, A. L.; DE SOUZA DA FONSECA, A.; STUMBO, A. C. Cell viability, reactive oxygen species, apoptosis, and necrosis in myoblast cultures exposed to low-level infrared laser. **Lasers Med Sci** v. 31, p: 841-848, 2016.
14. DA SILVA NETO TRAJANO, L. A.; TRAJANO, E. T. L.; DA SILVA SERGIO, L. P.; TEIXEIRA, A. F.; MENCALHA, A. L.; STUMBO, A. C.; DE SOUZA DA FONSECA, A. Photobiomodulation effects on mRNA levels from genomic and chromosome stabilization genes in injured muscle. **Lasers Med Sci** v. 33, p:1513-1519, 2018.
15. DOMPE, C.; MONCRIEFF, L.; MATYS, J.; GRZECH-LEŚNIAK, K.; KOCHEROVA, I.; BRYJA, A.; BRUSKA, M.; DOMINIAK, M.; MOZDZIAK, P.; SKIBA, T. H. I.; SHIBLI, J. A.; ANGELOVA VOLPONI, A.; KEMPISTY, B.; DYSZKIEWICZ-KONWIŃSKA, M. Photobiomodulation-Underlying Mechanism and Clinical Applications. **J Clin Med** v. 9, p: 1724, 2020.
16. DA FONSECA, A. S. Is there a measure for low power laser dose? **Lasers Med Sci** v.34, p: 223-234, 2019.
17. DE SOUZA DA FONSECA, A.; DA SILVA NETO TRAJANO, L. A.; TRAJANO, E. T. L.; DE PAOLI, F.; MENCALHA, A. L. Effect of low power lasers on prokaryotic and eukaryotic cells under different stress condition: a review of the literature. **Lasers Med Sci** v. 36, p: 1139-1150, 2021.
18. KARU, T. I. Low power laser therapy. In: **Biomedical Photonics Handbook**. Vo-Dinh (ed.). CRC Press: Boca Raton, 2003.
19. PRESTA, G. A.; FONSECA, A. S.; BERNARDO-FILHO, M. A. Chrysobalanus icaco extract alters the plasmid topology and the effects of stannous chloride on the DNA of plasmids. **Braz J Pharmacogn** v. 17, p: 331-335, 2007.

20. FONSECA, A. S.; MOREIRA, T. O.; PAIXÃO, D. L.; FARIA, F. M.; GUIMARÃES, O. R.; PAOLI, S.; GELLER, M.; PAOLI, F. Effect of laser therapy on DNA damage. **Lasers Surg Med** v. 42, p: 481-488, 2010.
21. FONSECA AS, TEIXEIRA AF, PRESTA GA, GELLER M, VALENÇA SS, PAOLI F. Low intensity infrared laser effects on Escherichia coli cultures and plasmid DNA. **Laser Phys** v. 22, p: 1635-1641, 2012a.
22. FONSECA, A. S.; GELLER, M.; VALENÇA, S. S.; PAOLI, F. Low-intensity infrared laser increases plasma proteins and induces oxidative stress in vitro. **Lasers Med Sci** v. 27, p: 211-217, 2012b.
23. DA SILVA MARCIANO, R.; DA SILVA SERGIO, L. P.; POLIGNANO, G. A.; PRESTA, G. A.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; DE PAOLI, S.; DE PAOLI, F.; DA FONSECA, ADE. S. Laser for treatment of aphthous ulcers on bacteria cultures and DNA. **Photochem Photobiol Sci** v. 11, p:1476-1483, 2012.
24. CANUTO, K. S.; SERGIO, L. P. S.; MARCIANO, R. S.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F, FONSECA AS. DNA repair in bacterial cultures and plasmid DNA exposed to infrared laser for treatment of pain. **Laser Phys Lett** v. 10, p: 065606, 2013.
25. FONSECA, A. S.; CAMPOS, V. M. A.; MAGALHÃES, L. A. G.; PAOLI, F. Nucleotide excision repair pathway assessment in DNA exposed to low-intensity red and infrared lasers. **Braz J Med Biol Res** v. 48, p: 929-938, 2015.
26. DA SILVA SERGIO, L. P.; MARCIANO, R.; POLIGNANO, G. A. C.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Evaluation of DNA damage induced by therapeutic low-level red laser. **J Clin Exp Dermatol Res** v. 3, p:166, 2012.
27. GANDHI, N. M.; NAIR, C. K. Radiation protection by Terminalia chebula: some mechanistic aspects. **Mol Cell Biochem** v. 277, p: 43-48, 2005.
28. TEIXEIRA, G. R.; SÉRGIO, L. P. S.; MARCIANO, R. S.; POLIGNANO, G. A. C.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Infrared laser effects at fluences used for treatment of dentin hypersensitivity on DNA repair in Escherichia coli and plasmids. **Opt Laser Technol** v. 64, p: 46-52, 2014.