

EFEITOS DE LASER VERMELHO DE BAIXA POTÊNCIA EM CULTURAS DE *ESCHERICHIA COLI* INCUBADAS COM METANOL

Effects of low power red laser on *Escherichia coli* incubated with metanol

Michael Ronan Sampaio Freitas¹, Adenilson de Souza da Fonseca²

¹Discente do Curso de Graduação em Ciências Biológicas do UNIFESO – Teresópolis – RJ – BR, ²Docente do Curso de Graduação em Medicina e Fisioterapia do UNIFESO – Teresópolis – RJ – BR

Resumo

Uma fonte emissora de radiação laser (light amplification by stimulated emission of radiation) emite radiação monocromática, coerente, direcional e de alta densidade de energia. Para suas aplicações terapêuticas, estas fontes de radiação são diferenciadas pelo comprimento de onda da radiação emitida, pelo modo de emissão ou ainda pela sua potência. Protocolos terapêuticos baseados em lasers de baixa potência têm sido utilizados com sucesso para aceleração de cicatrização de feridas e de fraturas ósseas, de lesões na cavidade oral, reparo de lesões musculares e na redução da dor. Entretanto, os efeitos destes lasers seriam mais evidentes, ou diferenciados, em células sob condições de estresse. O objetivo deste estudo foi avaliar efeitos de laser vermelho (658 nm) de baixa potência em culturas de *Escherichia coli* incubadas com metanol. Alíquotas de suspensões de *E. coli* AB1157 (proficiente em mecanismos de reparo do DNA) foram expostas ao laser vermelho (658nm) em diferentes fluências (1, 4 e 8J/cm²) e incubadas com metanol (10%, 30 minutos, 37 °C). Como controles, alíquotas não expostas ao laser e não incubadas com metanol, alíquotas incubadas com metanol e não expostas ao laser. Em seguida, estas alíquotas foram diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril e semeadas em placas de Petri, contendo meio nutritivo com agar (1,5%). Após incubação (18 horas, 37 °C), as unidades formadoras de colônias foram contadas e calculadas as frações de sobrevivência. Os valores das frações de sobrevivência obtidos em culturas estacionárias foram (média±desvio padrão): 1,0±0,28 (controle); 0,7±0,17 (controle metanol); 1,3±0,42 (laser 1J/cm²+metanol); 0,9±0,10 (laser 4J/cm²+metanol); 1,2±0,28 (laser 8J/cm²+metanol). Na fase exponencial, os valores foram: 1,0±0,16 (controle); 0,7±0,27 (controle metanol); 1,1±0,25 (laser 1J/cm²+metanol); 1,1±0,17(laser 4J/cm²+metanol); 1,3±0,26(laser 8J/cm²+metanol). Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a pré-exposição ao laser vermelho de baixa potência pode induzir mecanismos que diminuem o efeito citotóxico do metanol em culturas de *Escherichia coli* AB1157.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Laser. Reparo do DNA.

Abstract

A laser (light amplification by stimulated emission of radiation) radiation source emits monochromatic, coherent, directional and high energy density radiation. To its therapeutic applications, these radiation sources are differenced by wavelength of emitted radiation, by emission mode or by its power output. Therapeutic protocols based on low power lasers have been successfully used to accelerate wound healing and bone fractures, oral cavity injuries, repair of muscle and pain relief. However, the effects of these lasers could be more available, or differenced, on cells under stressful conditions. The objective of this study was to evaluate the effects of low power red laser (658 nm) on *Escherichia coli* cultures incubated with methanol. For this, aliquots of *E. coli* AB1157 (proficient in DNA repair mechanisms) were exposed to low power red laser at different fluences (1, 4 and 8J/cm²) and incubated with methanol (10%, 30 minutes, 37 °C). As controls, bacterial aliquots not exposed to laser and not incubated with methanol, bacterial aliquots incubated with methanol and not exposed to laser. After that, these bacterial aliquots were diluted in sterile saline solution (0.9% NaCl) and spread onto *Petri* dishes containing nutritive medium and agar (1.5%). After incubation (18 hours, 37 °C), the colony forming unit were counted and calculated the survival fractions. The values of survival fractions obtained in stationary cultures were (mean±standard deviation): 1.0±0.28 (control), 0.7±0.17 (control methanol), 1.3±0.42 (laser 1J/cm²+methanol), 0.9±0.10 (laser 4J/cm²+methanol), 1.2±0.28 (laser 8J/cm²+methanol). In exponential growth phase, the values were: 1.0±0.16 (control), 0.7±0.27 (control

methanol), 1.1 ± 0.25 (laser $1\text{J}/\text{cm}^2 + \text{methanol}$), 1.1 ± 0.17 (laser $4\text{J}/\text{cm}^2 + \text{methanol}$), 1.3 ± 0.26 (laser $8\text{J}/\text{cm}^2 + \text{methanol}$). Results obtained in this study suggest that the previous exposure to low power red laser could induce mechanisms that decrease the methanol-induced cytotoxic effect on cultures of *Escherichia coli* AB1157.

Keywords: *Escherichia coli*. Laser. DNA repair.

INTRODUÇÃO

Uma fonte emissora de radiação laser (light amplification by stimulated emission of radiation) é constituída de material ativado numa cavidade de ressonância óptica por uma fonte de energia externa, sendo capaz de emitir radiação monocromática, coerente, direcional e de alta densidade de energia (SVELTO & HANNA, 1998; NIEMZ, 2007). Para suas aplicações terapêuticas, estas fontes de radiação são diferenciadas pelo comprimento de onda da radiação emitida, pelo modo de emissão (contínuo ou pulsado) ou ainda pela sua potência (baixa, média ou alta) (AMARILLAS-ESCOBAR et al., 2010).

Os protocolos terapêuticos baseados em lasers de baixa potência, dentro da chamada janela terapêutica (600 a 1100nm), têm sido utilizados com sucesso para aceleração do processo de cicatrização de feridas (KAZEM SHAKOURI et al., 2010; MOSKVIN et al., 2017) e de fraturas ósseas (ANTUNES et al., 2007; BAEK et al., 2017), de lesões na cavidade oral (FERNANDES et al., 2013; WEBER et al., 2017), reparo de lesões musculares (ORHAN et al., 2011; NAUSHEEN et al., 2017), bem como na redução da dor (ORHAN et al., 2011; HEIDARI et al., 2017).

Os efeitos dos lasers de baixa potência (1 a 100mW) têm sido associados à absorção da energia da radiação por cromóforos (ou fotoceptores) intracelulares específicos, tais como a citocromo c oxidase, porfirinas e flavoproteínas, em células eucariontes, e pelo citocromo bd em células procariontes (KARU, 2003). Como consequência desta absorção, ocorrem alterações no metabolismo das células, que levam ao aumento da síntese de ácidos nucleicos, proteínas e ATP (SILVEIRA et al., 2015).

Este conjunto de alterações celulares foi denominado bioestimulação (ou biomodulação) e é a principal base científica para as aplicações terapêuticas dos lasers de baixa potência.

Além disso, os mecanismos moleculares envolvidos nos efeitos biológicos destes lasers não são totalmente esclarecidos e, por isso, necessitam ser mais investigados para que suas aplicações terapêuticas possam ser mais eficazes e seguras. De fato, têm descritas alterações induzidas pela laserterapia de baixa potência em biomoléculas importantes, como lipídios de membrana (FONSECA et al., 2014a) e DNA (DA SILVA SERGIO et al., 2012; MARTINS et al., 2015; SERGIO et al., 2015), bem como a expressão de genes de reparo de lesões no DNA (TRAJANO et al., 2014; FONSECA et al., 2014a; FONSECA et al., 2014b). As alterações nestas biomoléculas estariam associadas à produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (FONSECA et al., 2010; CANUTO et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2014; BARBOZA et al., 2015; FONSECA et al., 2015). De fato, foi demonstrado que a exposição a lasers vermelhos e infravermelhos de baixa potência aumenta os níveis intracelulares de radicais livres (MIGLIARIO et al., 2014).

Entretanto, de uma forma ainda não compreendida, para estes lasers de baixa potência, os efeitos biológicos seriam mais evidentes, diferenciados, ou capazes de serem detectados, em células sob condições de estresse (KARU, 2003).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar efeitos de laser vermelho (658 nm) de baixa potência em culturas de *Escherichia coli* incubadas com metanol. As fluências, bem como o modo de emissão e potência utilizadas neste estudo foram aquelas sugeridas nos protocolos terapêuticos.

METODOLOGIA

Laser vermelho de baixa potência e reagentes químicos utilizados

Um laser vermelho terapêutico de baixa potência (AlGaInP, 10 mW, spot size 6,9 mm²), com emissão em 658 nm, foi obtido da HTM Eletrônica (Brazil); glicerol e metanol foram da Merck (EUA); cloreto de sódio (NaCl) foi da Vetec (Brazil) e o meio de cultura bacteriana foi adquirido da HiMedia (Índia).

Culturas bacterianas

A partir de estoques em glicerol conservados em freezer (-20 °C) foram obtidas culturas de *Escherichia coli* AB1157 (proficientes em todos os mecanismos de reparo do DNA) na fase estacionária (2 – 5x10⁹ células/mL) e na fase exponencial (2 – 5x10⁸ células/mL) de crescimento em meio nutritivo para bactérias não exigentes. Estas culturas foram centrifugadas (15 minutos, 3000 rpm, centrífuga clínica) e suspensas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril.

Exposição das suspensões de E. coli ao laser vermelho de baixa potência

Alíquotas de suspensões bacterianas foram expostas ao laser vermelho de baixa potência em diferentes fluências (1, 4 e 8 J/cm²) e, em seguida, incubadas com metanol na concentração de 10% por 10 minutos a 37 °C em estufa bacteriológica. Como controles, alíquotas não expostas ao laser e não incubadas com metanol, alíquotas incubadas com metanol e não expostas ao laser. Em seguida, as suspensões bacterianas foram diluídas em solução salina estéril e semeadas em placas de Petri contendo meio nutritivo com ágar (1,5%). Após incubação (18 horas, 37 °C), as unidades formadoras de colônias foram contadas e calculadas as frações de sobrevivência, dividindo-se o número de células viáveis em culturas bacterianas

expostas ao laser vermelho de baixa potência e incubadas com metanol pelo número de células viáveis em culturas bacterianas não expostas ao laser vermelho de baixa potência e não incubadas com metanol.

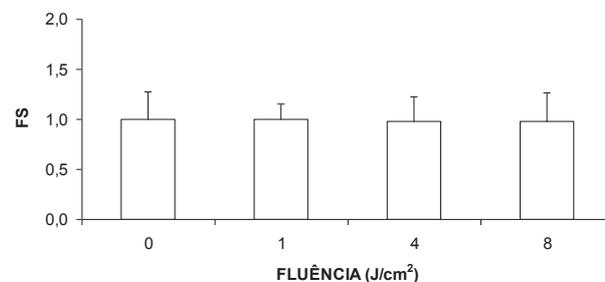
Análise estatística

Os valores das frações de sobrevivência estão apresentados como média e desvio padrão. Estes valores foram avaliados quanto à normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação entre as médias foi realizada através da análise de variância paramétrica, seguida de pós-teste de Bonferroni. InStat Graphpad software foi utilizado para realizar as análises estatísticas (GraphPad InStat for Windows XP, GraphPad Software, EUA).

RESULTADOS

Na figura 1, estão apresentadas as frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho (658 nm) em diferentes fluências na fase estacionária de crescimento. Os resultados apresentados nesta figura mostram que a exposição ao laser vermelho de baixa potência, em todas as fluências avaliadas, não altera significativamente ($p > 0,05$) a sobrevivência nestas culturas.

Figura 1: Frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho em diferentes fluências na fase estacionária de crescimento.

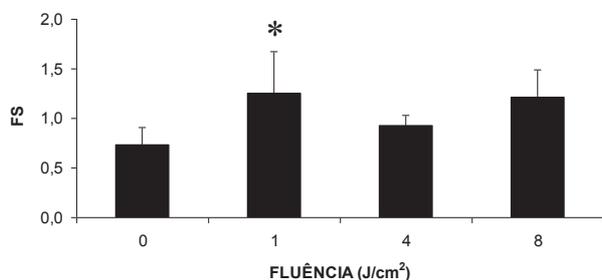


Alíquotas de suspensões de *E. coli* AB1157 na fase estacionária de crescimento (2 – 5x10⁹ células/mL) foram expostas ao laser vermelho de baixa potência,

diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril, semeadas em placas de Petri contendo meio nutritivo e agar, incubadas (18 horas, 37 °C), contadas as unidades formadoras de colônias e as frações de sobrevivência (FS) foram calculadas. Como controles, suspensões bacterianas não expostas ao laser vermelho.

As frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho (658 nm) em diferentes fluências e incubadas com metanol na fase estacionária de crescimento estão apresentadas na figura 2. Estes resultados mostram que a incubação com metanol (10%) reduz significativamente ($p < 0,05$) a sobrevivência nestas culturas. Entretanto, resultados nesta figura também mostram que a pré-exposição ao laser vermelho de baixa potência, na menor fluência avaliada (1 J/cm²), diminui significativamente ($p < 0,05$) o efeito citotóxico do metanol.

Figura 2: Frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho em diferentes fluências e incubadas com metanol (10%) na fase estacionária de crescimento.

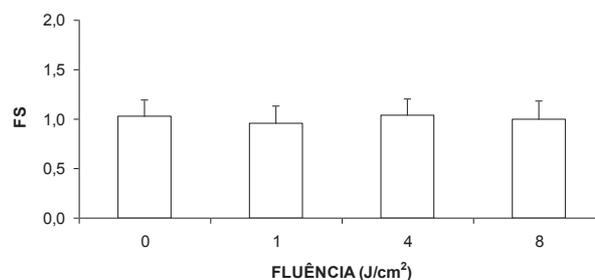


Aliquotas de suspensões de *E. coli* AB1157 na fase estacionária de crescimento ($2 - 5 \times 10^9$ células/mL) foram expostas ao laser vermelho de baixa potência, incubadas com metanol (10 minutos, 37 °C), diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril, semeadas em placas de Petri contendo meio nutritivo e agar, incubadas (18 horas, 37 °C), contadas as unidades formadoras de colônias e as frações de sobrevivência (FS) foram calculadas. Como controles, suspensões bacterianas incubadas com metanol. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle.

Na figura 3, estão apresentadas as frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho (658 nm) em diferentes fluências na fase exponencial de crescimento. Os resultados apresentados nesta figura mostram que a

exposição ao laser vermelho de baixa potência, em todas as fluências avaliadas, não altera significativamente ($p > 0,05$) a sobrevivência nestas culturas.

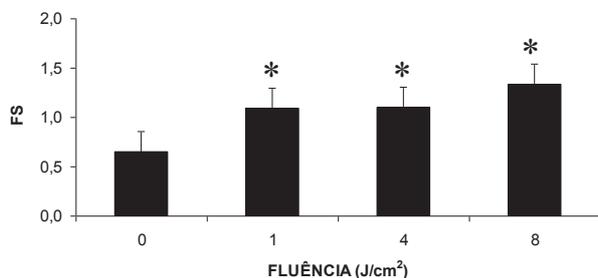
Figura 3: Frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho em diferentes fluências na fase exponencial de crescimento.



Aliquotas de suspensões de *E. coli* AB1157 na fase exponencial de crescimento ($2 - 5 \times 10^8$ células/mL) foram expostas ao laser vermelho de baixa potência, diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril, semeadas em placas de Petri contendo meio nutritivo e agar, incubadas (18 horas, 37 °C), contadas as unidades formadoras de colônias e as frações de sobrevivência (FS) foram calculadas. Como controles, suspensões bacterianas não expostas ao laser vermelho.

As frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho (658 nm) em diferentes fluências e incubadas com metanol na fase exponencial de crescimento estão apresentadas na figura 4. Estes resultados mostram que a incubação com metanol (10%) reduz significativamente ($p < 0,05$) a sobrevivência nestas culturas. Entretanto, resultados nesta figura também mostram que a pré-exposição ao laser vermelho de baixa potência, em todas as fluências avaliadas, diminui significativamente ($p < 0,05$) o efeito citotóxico do metanol.

Figura 4: Frações de sobrevivência de culturas de *E. coli* AB1157 expostas ao laser vermelho em diferentes fluências e incubadas com metanol (10%) na fase exponencial de crescimento.



Aliquotas de suspensões de *E. coli* AB1157 na fase exponencial de crescimento ($2 - 5 \times 10^8$ células/mL) foram expostas ao laser vermelho de baixa potência, incubadas com metanol (10 minutos, 37°C), diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) estéril, semeadas em placas de Petri contendo meio nutritivo e agar, incubadas (18 horas, 37 °C), contadas as unidades formadoras de colônias e as frações de sobrevivência (FS) foram calculadas. Como controles, suspensões bacterianas incubadas com metanol. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a exposição ao laser vermelho (658 nm), em fluências utilizadas em protocolos terapêuticos, não altera a sobrevivência em culturas de *E. coli* AB1157 nas fases estacionária e exponencial de crescimento (Figuras 1 e 3, respectivamente). Esta cepa bacteriana expressa todos os seus mecanismos de reparo do DNA, como o mecanismo de reparo por excisão de bases, destinado ao reparo de lesões oxidativas causadas por radicais livres. Também expressa todos os genes relacionados ao mecanismo de reparo do DNA por excisão de nucleotídeos, que é dedicado principalmente ao reparo de lesões causadas pela radiação ultravioleta, mas também mecanismo de recombinação, importante para reparo de quebras duplas, e as chamadas funções SOS. Estes resultados estão de acordo com resultados obtidos em estudos anteriores realizados em nosso laboratório (FONSECA et al., 2010; DA SILVA SERGIO et al., 2012;

CANUTO et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2014; FONSECA et al., 2015) utilizando lasers vermelhos e infravermelhos de baixa potência. Desta forma, se estas radiações são capazes de causar danos ao DNA, estes seriam reparados pelos mecanismos de reparo do DNA nestas células. De fato, foi demonstrado que estes lasers são capazes de reduzir a sobrevivência em culturas de *E. coli* deficientes em mecanismo de reparo de lesões oxidativas (DA SILVA SERGIO et al., 2012; MARCIANO et al., 2012; CANUTO et al., 2013) e em culturas de *E. coli* deficientes em mecanismo de reparo de lesões causadas pela radiação ultravioleta (FONSECA et al., 2015).

Outros resultados obtidos em nosso laboratório têm reforçado a hipótese de que a exposição a radiações vermelha e infravermelha emitidas por lasers de baixa potência aumenta a sobrevivência em culturas bacterianas submetidas a condições de estresse (ROSS et al., 2013; SANTOS et al., 2014; GONÇALVES et al., 2016). Nossos resultados mostram que a incubação com metanol na concentração de 10% foi capaz de reduzir a sobrevivência em culturas de *E. coli* AB1157 (Figura 1). Este efeito citotóxico do metanol foi modificado em culturas pré-expostas ao laser vermelho. De fato, a pré-exposição ao laser vermelho de baixa potência, na menor fluência avaliada (1 J/cm²) diminuiu o efeito citotóxico do metanol em culturas de *E. coli* AB1157 na fase estacionária de crescimento (Figura 3). Entretanto, este efeito do laser vermelho sobre a citotoxicidade do metanol parece depender da fase de crescimento da cultura bacteriana, pois a pré-exposição ao laser aumentou a sobrevivência em culturas *E. coli* na fase exponencial de crescimento em todas as fluências avaliadas (Figura 4). Outros resultados obtidos em nosso laboratório sugeriam que os efeitos dos lasers de baixa potência dependem das condições da cultura bacteriana. Assim, culturas de *E. coli* em fase estacionária de crescimento apresentam maior viabilidade celular após a exposição ao laser infravermelho de baixa potência (CANUTO

et al., 2013) em fluências utilizadas em protocolos terapêuticos. Os efeitos dos lasers vermelho e infravermelho de baixa potência em culturas de *E. coli* submetidas ao estresse térmico também são dependentes da fase de crescimento da cultura bacteriana (GONÇALVES et al., 2016). Tomados em conjunto, os resultados obtidos mostram que os efeitos do laser vermelho de baixa potência dependem das condições da cultura bacteriana, ou seja, se esta está na fase estacionária ou na fase exponencial de crescimento. Adicionalmente, estes resultados poderiam contribuir para explicar a ausência de efeitos em alguns estudos e a presença de efeitos destes lasers em outros estudos, uma vez que os efeitos induzidos pelos lasers de baixa potência dependeriam das condições das células.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que, nas fluências avaliadas, a exposição ao laser vermelho de baixa potência não altera a sobrevivência em culturas de *E. coli*. Entretanto, a pré-exposição a este laser diminui o efeito citotóxico do metanol em culturas de *Escherichia coli* AB1157 nas fases estacionária e exponencial de crescimento.

REFERÊNCIAS

- AMARILLAS-ESCOBAR, E. D.; TORANZO-FERNÁNDEZ, J. M.; MARTÍNEZ-RIDER, R.; NOYOLA-FRÍAS, M. A.; HIDALGO-HURTADO, J. A.; SERNA, V. M.; GORDILLO-MOSCOSO, A.; POZOS-GUILLÉN, A. J. Use of therapeutic laser after surgical removal of impacted lower third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* v.68 p:319-324, 2010.
- ANTUNES, H. S.; DE AZEVEDO, A. M.; DA SILVA BOUZAS, L. F.; ADÃO, C. A.; PINHEIRO, C. T.; MAYHE, R.; PINHEIRO, L. H.; AZEVEDO, R.; D'AIUTO DE MATOS, V.; RODRIGUES, P. C.; SMALL, I. A.; ZANGARO, R. A.; FERREIRA, C. G. Low-power laser in the prevention of induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients: a randomized trial. *Blood* v.109 p:2250-2255, 2007.
- BARBOZA, L. L.; CAMPOS, V. M. A.; MAGALHÃES, L. A. G.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Low-intensity red and infrared laser effects at high fluences on *Escherichia coli* cultures. *Braz J Med Biol Res* v. 48 p:945-952, 2015.
- BAEK, W. Y.; BYUN, I. H.; YUN, I. S.; KIM, J. Y.; ROH, T. S.; LEW, D. H.; KIM, Y. S. The effect of light-emitting diode (590/830 nm)-based low-laser therapy on posttraumatic edema of facial bone fracture patients. *J Craniomaxillofac Surg.* v. 45 p:1875-1877 2017.
- CANUTO, K. S.; SERGIO, L. P. S.; MARCIANO, R. S.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. DNA repair in bacterial cultures and plasmid DNA exposed to infrared laser for treatment of pain. *Laser Phys Lett* v. 10 p:065606, 2013.
- 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.
- FERNANDES, K. P.; ALVES, A. N.; NUNES, F. D.; SOUZA, N. H.; SILVA, J. A. JR.; BUSSADORI, S. K.; FERRARI, R. A. Effect of photobiomodulation on expression of IL-1beta in skeletal muscle following acute injury. *Lasers Med Sci.* v.28 p:1043-1046, 2013.
- 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.

FONSECA, A. S.; MAGALHÃES, L. A. G.; MENCALHA, A. L.; GELLER, M.; PAOLI, F. Low intensity infrared laser affects expression of oxidative DNA repair genes in mitochondria and nucleus. *Laser Phys* v. 24 p:115605, 2014a.

FONSECA, A. S.; MAGALHÃES, L. A. G.; MENCALHA, A. L.; MACHADO, S. C. F.; GELLER, M.; PAOLI, F. Low-intensity red and infrared lasers on XPA and XPC gene expression. *Laser Phys Lett* v. 11 p:095601, 2014b.

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.

GONÇALVES, E. M.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Low-level laser effects on bacterial cultures submitted to heat stress. *Laser Phys* v.26, p:065601, 2016.

HELKIGLE, C.; DE CARVALHO, P. D.; CASALECHI, H. L.; LEAL-JUNIOR, E. C.; FERNANDES, G. H.; HELKIGEL, 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, 2015.

HEIDARI, M.; PAKNEJAD, M.; JAMALI, R.; NOKHBATOLFOGHAEI, H.; FEKRAZAD, R.; MOSLEMI, N. Effect of laser photobiomodulation on wound healing and postoperative pain following free gingival graft: A split-mouth triple-blind randomized controlled clinical trial. *J Photochem Photobiol B* v. 172 p:109-114, 2017.

HERPICH, C. M.; LEAL-JUNIOR, E. C.; AMARAL, A. P.; TOSATO, J. D. E. 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, P. D. E. T.; BUSSADORI, S. K.; GONZALEZ, T. D. E. 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.

KARU, T. I. Low-Power Laser Therapy. In: VO-DINH, Tuan. *CRC Biomedical Photonics Handbook*. Crc Press: Boca Raton, p. 48-1-48-25, 2003.

KAZEM SHAKOURI, S.; SOLEIMANPOUR, J.; SALEKZAMANI, Y.; OSKUIE, M. R. Effect of low-level laser therapy on the fracture healing process. *Lasers Med Sci* v.25 p:73-77, 2010.

MARCIANO, R. S.; SÉRGIO, L. P. S.; POLIGNANO, G. A. C.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, S.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Laser for treatment of aphthous ulcers on bacteria cultures and DNA. *Photochem Photobiol Sci* v.11 p:1476-1483, 2012.

MARTINS, W. A.; POLIGNANO, G. A. C.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA AS. Dichromatic laser radiation effects on DNA of *Escherichia coli* and plasmids. *Laser Phys* v. 25 p:045603, 2015.

MIGLIARIO, M.; PITTARELLA, P.; FANULI, M.; RIZZI, M.; RENÒ, F. Laser-induced osteoblast proliferation is mediated by ROS production. *Lasers Med Sci* v. 29 p:1463-1467, 2014.

MOSKVIN, S. V.; GEYNITZ, A. V.; ASKHADULIN, E. V. Efficiency of a New Combined Laser Therapy in Patients With Trophic Ulcers of Lower Extremities and Chronic Venous Insufficiency. *J Lasers Med Sci* v. 8 p:132-135, 2017.

NAUSHEEN, S.; MOIZ, J. A.; RAZA, S.; SHAREEF, M. Y.; ANWER, S.;

ALGHADIR, A. H. Preconditioning by light-load eccentric exercise is equally effective as low-level laser therapy in attenuating exercise-induced muscle damage in collegiate men. *J Pain Res.* v.10 p:2213-2221, 2017.

NIEMZ, M. H. Laser-tissue interactions: Fundamentals and applications. Springer-Verlag: New York, 2007.

ORHAN, K.; AKSOY, U.; CAN-KARABULUT, D. C.; KALENDER, A. Low-level laser therapy of dentin hypersensitivity: a short-term clinical trial. *Lasers Med Sci.* v.26 p:591-598, 2011.

PINHEIRO, C. C.; BARBOZA, L. L.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Low-level lasers affect cultures in hyperosmotic stress. *Laser Phys.* v.25 p:085602, 2015.

ROOS, C.; SANTOS, J. N.; GUIMARÃES, O. R.; GELLER, M.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S.

The effects of a low-intensity red laser on bacterial growth, filamentation and plasmid DNA. *Laser Phys.* v.23 p:075602, 2013.

SANTOS, J. N.; ROOS, C.; BARBOZA, L. L.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. Low intensity red laser action on *Escherichia coli* cultures submitted to stress conditions. *Laser Phys.* v.24 p:125603, 2014.

SERGIO, L. P. S.; SILVA, A. P. A.; AMORIM, P. F.; CAMPOS, V. M. A.; MAGALHÃES, L. A. G.; PAOLI, F.; FONSECA, A. S. DNA damage in blood cells exposed to low-level lasers. *Lasers Surg Med* v. 47 p:361-368, 2015.

SILVEIRA, P. C.; SILVA, L. A.; FRAGA, D. B.; FREITAS, T. P.; STRECK, E. L.; PINHO, R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B* v.95 p:89-92, 2009.

SVELTO, O.; HANNA, D. C. Principles of Laser. Plenum Press: New York, 1998.

TEIXEIRA, G. R.; SERGIO, 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.

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.

TRAJANO, E. T. L.; MENCALHA, A. L.; MONTE-ALTO-COSTA, A.; PORTO, L. C. S.; FONSECA, A. S. Expression of DNA repair genes in burned skin exposed to low-level red laser. *Lasers Med Sci* v. 29 v:1953-1957, 2014.

TRAJANO, E. T. L.; TRAJANO, L. A. S. N.; SILVA, M. A. S.; VENTER, N. G.; PORTO, L. C. S.; FONSECA, A. S.; MONTE-ALTO-COSTA, A. Low-level red laser improves healing of second-degree burn when applied during proliferative phase. *Lasers Med Sci.* v.30 p:1297-1304, 2015.

WEBER, J. B. B.; CAMILOTTI, R. S.; JASPER, J.; CASAGRANDE, L. C. O.; MAITO, F. L. D. M. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. *J Biomed Opt.* v. 22 p:58001, 2017.

Contato:

Nome: Adenilson Souza Fonseca, Michael Ronan Sampaio Freitas
e-mail: adnfonseca@gmail.com

Apoio financeiro: PICPq - Programa de Iniciação Científica e Pesquisa do UNIFESO