



**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA
APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ÉRIKA VASSOLÉR GUERRERO PUCCIA

**EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO COM LUZ VERMELHA
ASSOCIADA A FATORES DE CRESCIMENTO EM
FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS**

São Paulo, SP

2025



ÉRIKA VASSOLÉR GUERRERO PUCCIA

**EFICÁCIA DA FOTOBIMODULAÇÃO COM LUZ VERMELHA
ASSOCIADA A FATORES DE CRESCIMENTO EM
FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS**

**Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho,
para obtenção do título de Mestra em Medicina - Biofotônica.**

Orientadora: Profa. Dra. Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues

São Paulo, SP

2025



FICHA CATALOGRÁFICA

Puccia, Érika Vassolér Guerrero.

Efeitos da fotobiomodulação com luz vermelha associada a fatores de crescimento em fibroblastos dérmicos humanos. / Érika Vassolér Guerrero Puccia. 2025.

77 f.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2025.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues.

1. Fotobiomodulação (660 nm). 2. Fatores de crescimento (TGF- β 3. 3. Fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2). 4. IDP2. 5. IGF.

I. Rodrigues, Maria Fernanda Setúbal Destro. II. Título

CDU 615.831



São Paulo, 28 de novembro de 2025.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Érika Vassolér Guerrero Puccia

Título da Dissertação: “Eficácia da fotobiomodulação com luz vermelha associada à fatores de crescimento em fibroblastos dérmicos humanos”.

Presidente: PROF^a. DR^a. MARIA FERNANDA SETUBAL DESTRO RODRIGUES

Membro: PROF^a. DR^a. RAQUEL AGNELLI MESQUITA FERRARI

Membro: PROF^a. DR^a. LUCYENE MIGUITA LUIZ

DEDICATÓRIA

A Deus, fonte de toda sabedoria e força, por me sustentar em cada passo dessa jornada e por iluminar meu caminho com fé e esperança mesmo nos momentos mais desafiadores.

Ao meu marido Fernando, meu companheiro de vida, pelo amor, apoio incondicional, por acreditar em mim mesmo quando eu duvidava. Sua presença foi essencial em cada conquista.

Ao meu filho Pedro Paulo, razão do meu sorriso diário, por ser minha inspiração e meu maior presente. Que este trabalho seja um exemplo de que com dedicação e esforço, tudo é possível.

Aos meus pais, Vanderlei e Marilú, por todo amor, exemplo, valores e ensinamentos que me formaram. Sou grata por todo o esforço e incentivo durante toda a minha trajetória.

Às minhas irmãs, Monique e Mayara, pelo carinho, pela torcida constante e por estarem sempre ao meu lado, cada uma com seu jeito único, mas sempre com o mesmo amor.

Este trabalho é reflexo de tudo que vocês representam na minha vida. Obrigada, de coração.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação foi possível graças à colaboração, apoio e incentivo de muitas pessoas e instituições, às quais expresso minha sincera gratidão.

À Professora Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues, minha orientadora, pela confiança, orientação, por sua dedicação e por compartilhar comigo seus vastos conhecimentos com paciência e entusiasmo. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

Às minhas companheiras de pesquisa, Roberta e Aline, pela parceria, amizade e troca de experiências ao longo desta caminhada. Juntas enfrentamos desafios, celebramos conquistas e crescemos academicamente e pessoalmente.

À Universidade de São Paulo (USP), pela infraestrutura e suporte que permitiram o desenvolvimento desta pesquisa com excelência.

À Universidade Nove de Julho (UNINOVE), igualmente pela estrutura e recursos disponibilizados, que foram essenciais para a condução dos experimentos e análises.

Aos setores administrativos do Programa de Pós-Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde, pelo suporte constante, organização e empenho em garantir o bom andamento do programa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Biofotônica, cujas disciplinas foram fundamentais para a construção dos conhecimentos teóricos e práticos que embasaram esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro que viabilizou a realização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta pesquisa se tornasse realidade, o meu muito obrigada!

FINANCIAMENTOS

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE) – PROGRAMA DE BOLSAS PARA A FORMAÇÃO DO PESQUISADOR.

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) – PROCESSO: 88887.841290/2023-00 e 88887.911726/2023-00

RESUMO

O envelhecimento cutâneo é um processo multifatorial que envolve alterações estruturais e funcionais da pele, resultando na perda de elasticidade, diminuição da síntese de colágeno e elastina, maior fragmentação da matriz extracelular, e comprometimento da renovação celular. Essas mudanças levam a alterações de sinais clínicos como flacidez, rugas e aspectos mais cansado, impactando não apenas a estética, mas também a qualidade de vida e a autoestima dos indivíduos. Diante desse cenário, diversas estratégias têm sido investigadas com o intuito de modular a atividade dos fibroblastos e restaurar componentes da matriz extracelular. Entre elas, destacam-se os fatores de crescimento, como TGF- β e IGF que desempenham papéis cruciais na proliferação, diferenciação e síntese de colágeno e elastina. Outra abordagem é o uso da fotobiomodulação (FBM) com a luz vermelha (660 nm), capaz de atuar sobre as mitocôndrias, aumentando a produção de ATP, modulando espécies reativas de oxigênio e ativando as vias de sinalização celular que podem levar à maior síntese de colágeno. Entretanto, o efeito da combinação de ambos os tratamentos ainda é desconhecido na literatura. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar, em modelo *in vitro*, o efeito da FBM com luz vermelha (660 nm) associada a fatores de crescimento (TGF- β 3, IDP2 e IGF) na viabilidade celular e na expressão de genes da matriz extracelular dentre eles *COL3A1*, *COL1A1*, *ELASTINA*, *TGF β* , em fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2). **Metodologia:** Fibroblastos da linhagem HFF-2 foram cultivados em meio DMEM e divididos em seis grupos experimentais: controle, fatores de crescimento (1:1 e 1:3), FBM isolada, e combinações de FBM com fatores de crescimento (1:1 e 1:3). A irradiação foi realizada com LED vermelho (660 nm; 5,04 J/cm²). A viabilidade celular foi avaliada pelos ensaios MTS e cristal violeta após 24h, 48h e 72h, e a expressão gênica (*COL1A1*, *COL3A1*, *ELASTINA* e *TGF- β*) foi quantificada por RT-qPCR após 48h. A análise estatística foi conduzida com nível de significância $p < 0,05$.

Resultados: A associação entre fotobiomodulação (FBM – 660 nm) e fatores de crescimento (TGF- β 3, IDP2 e IGF) modulou de forma distinta a viabilidade dos fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2). Nos ensaios de MTS, a viabilidade celular manteve-se semelhante ao controle em 24h, aumentando significativamente nos grupos FG 1:1 e FG 1:3 + FBM em 48h. Em 72h, observou-se elevação da viabilidade nos grupos FG 1:1 e FBM + FG 1:1, enquanto FBM isolado e algumas combinações apresentaram redução. O ensaio de cristal violeta confirmou esse padrão: em 24h, a FBM isolada e associada reduziu o número de células aderentes; em 48h e 72h, a redução manteve-se progressiva, especialmente nas combinações com FBM. Esses achados indicam que a resposta celular depende da proporção de fatores de crescimento, do tempo de exposição e da presença da luz, sugerindo que a interação luz-FC não é linear e exige padronização criteriosa para aplicações estéticas e regenerativas. **Conclusão:** A associação da fotobiomodulação (660 nm) com fatores de crescimento TGF- β 3, IDP2 e IGF induziu a viabilidade e a atividade metabólica dos fibroblastos, além de aumentar a expressão de genes relacionados à síntese de colágeno e elastina. Esses resultados indicam um efeito sinérgico entre as terapias, com potencial aplicação em protocolos de rejuvenescimento e regeneração cutânea.

Palavras-chave: Fotobiomodulação (660 nm), fatores de crescimento (TGF- β 3, IDP2, IGF, fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2), viabilidade celular, expressão gênica.

ABSTRACT

Skin aging is a multifactorial process involving structural and functional alterations of the skin, resulting in loss of elasticity, decreased synthesis of collagen and elastin, greater fragmentation of the extracellular matrix, and impaired cell renewal. These changes lead to clinical signs such as sagging, wrinkles, and a more tired appearance, impacting not only aesthetics but also individuals' quality of life and self-esteem. In this context, several strategies have been investigated to modulate fibroblast activity and restore extracellular matrix components. Among these, growth factors such as TGF- β and IGF stand out, as they play crucial roles in proliferation, differentiation, and the synthesis of collagen and elastin. Another approach is photobiomodulation (PBM) with red light (660 nm), which acts on mitochondria, increasing ATP production, modulating reactive oxygen species, and activating signaling pathways that may enhance collagen synthesis. However, the combined effect of both treatments remains unknown in the literature. Thus, the aim of this study was to evaluate, in an in vitro model, the effect of PBM with red light (660 nm) associated with growth factors (TGF- β 3, IDP2, and IGF) on cell viability and the expression of extracellular matrix genes, including COL3A1, COL1A1, ELASTIN, and TGF- β , in human dermal fibroblasts (HFF-2).

Methodology: HFF-2 fibroblasts were cultured in DMEM medium and divided into six experimental groups: control, growth factors (1:1 and 1:3), PBM alone, and PBM combined with growth factors (1:1 and 1:3). Irradiation was performed using a red LED (660 nm; 5.04 J/cm²). Cell viability was assessed using MTS and crystal violet assays after 24 h, 48 h, and 72 h, and gene expression (COL1A1, COL3A1, ELASTIN, and TGF- β) was quantified by RT-qPCR after 48 h. Statistical analysis was conducted with a significance level of $p < 0.05$.

Results: The association between photobiomodulation (PBM – 660 nm) and growth factors (TGF- β 3, IDP2, and IGF) modulated the viability of human dermal fibroblasts (HFF-2) in distinct ways. In MTS assays, cell viability remained similar to the control group at 24 h, with significant increases observed in the GF1:1 and GF 1:3 + PBM groups at 48 h. At 72 h, increased viability was observed in the GF1:1 and PBM + GF 1:1 groups, while PBM alone and certain combinations demonstrated reduced viability. Crystal violet assays confirmed this pattern: at 24 h, PBM alone and in combination reduced the number of adherent cells; at 48 h and 72 h, this reduction continued, particularly in PBM combinations. These findings indicate that cellular responses depend on the growth factor ratio, exposure time, and presence of light, suggesting that the interaction between PBM and growth factors is not linear and requires careful standardization for regenerative and aesthetic applications.

Conclusion: The association of photobiomodulation (660 nm) with the growth factors TGF- β 3, IDP2, and IGF promoted increased viability and metabolic activity of fibroblasts, as well as enhanced expression of genes related to collagen and elastin synthesis. These results indicate a synergistic effect between the therapies, with potential applications in skin rejuvenation and regenerative protocols.

Keywords: Photobiomodulation (660 nm), growth factors (TGF- β 3, IDP2, IGF), human dermal fibroblasts (HFF-2), cell viability, gene expression.

DESTAQUES

1. **Modelo *in vitro* bem definido:** uso de fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2), garantindo relevância para a pele humana.
2. **Combinação inovadora de tratamentos:** análise do efeito isolado e combinado de FBM (660 nm) e fatores de crescimento (TGF- β 3, IDP2, IGF).
3. **Avaliação da viabilidade e expressão gênica:** mensuração da viabilidade celular e modulação dos genes COL1A1, COL3A1, elastina e TGF β 1, permitindo análise molecular precisa do tratamento.
4. **Estudo do efeito dependente do tempo:** acompanhamento em múltiplos períodos (24, 48 e 72 h), evidenciando dinâmicas temporais de resposta celular.
5. **Relevância estética e clínica:** fornece informações para otimização de protocolos de rejuvenescimento cutâneo, destacando limitações e cautelas na combinação de terapias.

HIGHLIGHTS

1. **Well-defined in vitro model:** use of human dermal fibroblasts (HFF-2), ensuring relevance to human skin.
2. **Innovative combination of treatments:** analysis of the isolated and combined effects of photobiomodulation (660 nm) and growth factors (TGF- β 3, IDP2, IGF).
3. **Assessment of viability and gene expression:** measurement of cell viability and modulation of COL1A1, COL3A1, elastin, and TGF β 1 genes, allowing precise molecular analysis of the treatment.
4. **Study of time-dependent effects:** monitoring at multiple time points (24, 48, and 72 h), highlighting temporal dynamics of cellular responses.
5. **Aesthetic and clinical relevance:** provides insights for optimizing skin rejuvenation protocols, emphasizing limitations and cautions in therapy combination.

RESUMO PARA LEIGOS

Este estudo investigou como tratamentos com luz vermelha e substâncias que estimulam a pele podem influenciar a saúde e a renovação das células da pele humana. O objetivo foi entender se a luz vermelha, sozinha ou combinada com fatores de crescimento (substâncias que ajudam na regeneração celular), poderia melhorar a aparência e a vitalidade da pele, de forma que pudesse ser aplicada futuramente em tratamentos estéticos e de rejuvenescimento. Para isso, os pesquisadores usaram células da pele humana cultivadas em laboratório e testaram diferentes combinações: apenas luz vermelha, apenas fatores de crescimento e a combinação dos dois. Eles observaram a sobrevivência das células e a atividade de genes responsáveis pela produção de colágeno e elastina, componentes essenciais para a firmeza e elasticidade da pele, ao longo de três dias. Os resultados mostraram que os fatores de crescimento, usados sozinhos, mantêm as células saudáveis e estimulam genes importantes para a estrutura da pele. A luz vermelha, embora aumente a produção de colágeno, reduziu a quantidade de células vivas. Quando combinadas, luz e fatores de crescimento não melhoraram os efeitos e, na verdade, diminuíram ainda mais a sobrevivência celular. Por exemplo, os genes ligados à firmeza da pele aumentaram com os fatores de crescimento, mas a combinação com luz não trouxe benefícios adicionais e reduziu a vitalidade das células. Em resumo, este trabalho revela que nem toda combinação de tratamentos é automaticamente melhor. A pesquisa mostra que fatores de crescimento sozinhos podem ser uma estratégia segura para estimular a pele, enquanto a luz vermelha precisa ser aplicada com cuidado. Estes achados são importantes porque ajudam a orientar tratamentos de rejuvenescimento mais eficazes e seguros, com potencial de melhorar a autoestima e a qualidade de vida das pessoas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fenótipos Extrínsecos do envelhecimento da pele	25
Figura 2. Análise da viabilidade celular por MTS após 24h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBM RLT (com LED 660nm. *p<0,05, **p<0.001	51
Figura 3. Análise da viabilidade celular por MTS após 48h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBM RLT com LED 660nm. *p<0,05, **p<0.001	52
Figura 4. Análise da viabilidade celular por MTS após 72h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBMV com LED 660nm. *p<0,05, **p<0.001	53
Figura 5. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 24h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao	54
Figura 6. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 48h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao	54
Figura 7. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 72h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao	55
Figura 8. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de COL1A1 nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle.	56
Figura 9. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de COL31A nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle.	57
Figura 10. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de Elastina nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle.	58

Figura 11. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de TGF β 1 nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros dosimétricos utilizados para a irradiação das células da linhagem celular humana HFF-2	47
Tabela 2. Descrição dos genes avaliados por RT-qPCR, de acordo com a sequência de primers e concentração utilizadas	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGE	–	Advanced Glycation and products
AR	–	Receptor de androgênio
ATP	–	Adenosina Trifosfato
b-FGF	–	Fator de crescimento fibroblástico
CML	–	Carboximetil lisina
COX	–	Ciclo oxigenasse 2
DNA	–	Ácido desoxirribonucleico
EGF	–	Fator de crescimento epidermal
EP	–	Espécies fotossensibilizadoras endógenas
ER	–	Retículo endoplasmático
ER β	–	Receptor de estrogênio
EROS	–	Espécies reativas de oxigênio
Er:YAG	–	Laser de granada de ítrio e alumínio dopado com érbio
FBM	–	Fotobiomodulação
FC	–	Fator de crescimento
FBM RLT	–	Fotobiomodulação luz vermela
HSPs	–	proteínas de choque térmico
IDP2	–	Intracellular Domain Protein 2
IGF	–	Fator de crescimento insulínico
IL-1 α	–	1 α -Interleucina α
IL-1 β	–	1 β -Interleucina β
IL-6	–	Interleucina-6
IL-8	–	Interleucin -8
IV	–	Radiação infravermelha
IR	–	Infravermelho
J	–	Joule
LIP	–	Luz intensa pulsada
LEDs	–	Light emitting diode
LLLT	–	Laser de baixa intensidade

MAPs	–	Mitógenos
MEC	–	Matriz extracelular
MMPs	–	Metaloproteinases da matriz
MTS	–	Materials Testing System
Nm	–	Nanômetro
PRP	–	Plasma rico em plaquetas
RAGE	–	Receptores para AGEs
RNA	–	Ácido ribonucleico
ROS	–	Espécie reativa de oxigênio
Smad	–	Fusão dos genes Sma de <i>Caenorhabditis elegans</i> e <i>Drosophila</i> Mad
SOD	–	Superóxido de desmutase
TGF	–	Fator de transformação de crescimento Beta 3
TNF	–	Fator de necrose tumoral
TNF- α	–	Fator de necrose tumoral alfa
U	–	Unidade
UV	–	Ultravioleta
UVR	–	Radiação ultravioleta proveniente do sol
VEGR	–	Fator de crescimento vascular
Via EGR 1 e 2	–	Via de sinalização
Via MAPK	–	Via de sinalização
Via P13K/AKT	–	Via de sinalização
Via RAS	–	Via de sinalização
W	–	Watts
μ L	–	Microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Pele	19
1.2. Fibroblastos	20
1.3. Envelhecimento cutâneo.....	21
1.4. Fatores de Crescimento	29
1.5. Fotobiomodulação – Luz Vermelha.....	35
2. JUSTIFICATIVA	42
3. OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo Geral	44
3.2 Objetivos Específicos.....	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1. Cultivo celular	45
4.2. Grupos experimentais	45
4.3 Fotobiomodulação.....	46
4.4. Análise da viabilidade celular	47
4.5. Análise de expressão gênica.....	48
4.5.1. Extração de RNA.....	48
4.5.2. Síntese do DNA complementar (cDNA)	48
4.5.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR).....	49
4.6. Análise estatística.....	50
5. RESULTADOS	51
5.1. Viabilidade celular por MTS	51
5.2. Análise de viabilidade celular por cristal violeta	53
5.3. Análise da expressão dos genes COL3A1, COL1A1, ELASTINA, TGFβ.....	55
6. DISCUSSÃO	60
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	67

REFERÊNCIAS 69

1. INTRODUÇÃO

1.1. Pele

A pele é um órgão complexo formado por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme, cada uma desempenhando funções essenciais para a proteção e manutenção da homeostase do organismo. A epiderme, camada mais externa, é composta por queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, responsáveis, respectivamente, pela barreira cutânea, pigmentação, resposta imune e percepção sensorial. A derme, situada abaixo da epiderme, é constituída por tecido conjuntivo denso rico em colágeno, elastina e ácido hialurônico, proporcionando resistência, elasticidade e suporte estrutural à pele, além de conter fibroblastos, mastócitos, vasos sanguíneos, nervos e glândulas sebáceas e sudoríparas, essenciais para a hidratação, defesa e termorregulação. Já a hipoderme, composta por tecido adiposo e conjuntivo frouxo, atua na absorção de impactos, no isolamento térmico e como reserva energética (Baumann et al., 2021).

As respostas imunológicas na pele desempenham um papel fundamental na defesa do hospedeiro contra agentes patogênicos e microrganismos, garantindo a integridade e a função da barreira cutânea. No entanto, quando essas reações estão desreguladas, podem desencadear processos inflamatórios crônicos, resultando no desenvolvimento de diversas doenças de pele, como dermatites e psoríase, comprometendo a homeostase cutânea e a qualidade de vida do indivíduo (Abdallah; Pichon, 2017). Além de sua estrutura altamente especializada, a pele desempenha funções vitais, incluindo proteção contra agentes externos, regulação térmica, sensibilidade tátil, síntese de vitamina D e regeneração celular. No âmbito histopatológico, diversas condições podem comprometer sua integridade, como o envelhecimento cutâneo, caracterizado pela redução da produção de colágeno e elastina, processos inflamatórios persistentes, cicatrização anormal, desenvolvimento de neoplasias cutâneas e disfunções na barreira epidérmica. O conhecimento aprofundado sobre a estrutura, funções e respostas imunológicas da pele é essencial para a compreensão dos processos fisiológicos e patológicos que a afetam, permitindo o desenvolvimento de estratégias eficazes para sua preservação e tratamento (Abdallah; Pichon, 2017).

1.2. Fibroblastos

Os fibroblastos são células mesenquimais essenciais para a manutenção da integridade estrutural da pele, desempenhando um papel central na síntese de colágeno, fibras elásticas e outros componentes fundamentais da matriz extracelular (MEC) no tecido conjuntivo. No entanto, sua função vai além da simples deposição de proteínas estruturais, uma vez que apresentam notável heterogeneidade, variando conforme o tipo de tecido e seu estado fisiológico ou patológico (Driskel, 2015).

Com o avanço da idade, há uma redução significativa na população de fibroblastos na pele, comprometendo diretamente sua capacidade de interagir com outras células, como os queratinócitos indiferenciados da junção dermo-epidérmica. Esse declínio celular impacta negativamente a regeneração cutânea e contribui para sinais visíveis do envelhecimento, como a perda de turgor e o aumento da formação de rugas (Quan, 2015).

Na derme, os fibroblastos apresentam características distintas de acordo com sua localização. Os fibroblastos da derme papilar superficial são finos e alongados, enquanto os da derme reticular subjacente são mais robustos e expansivos. Além dessas diferenças morfológicas, esses subtipos apresentam variações na proliferação, contratilidade e resposta a estímulos bioquímicos, incluindo fatores de crescimento e citocinas. Além de sua importância na arquitetura cutânea, os fibroblastos dérmicos desempenham um papel ativo nas respostas imunológicas da pele, na cicatrização de feridas e na comunicação com os sistemas nervoso e vascular (Quan, 2015).

A expressão diferencial dos componentes da matriz extracelular entre esses fibroblastos reforça sua especificidade funcional. Os fibroblastos papilares, por exemplo, expressam em maior quantidade a cadeia alfa-1(IV) do colágeno, essencial para a organização da epiderme, enquanto os fibroblastos reticulares apresentam maior produção de decorina e versican, proteínas que modulam a elasticidade e a hidratação da pele (Xue, 2022).

Estudos sugerem que o envelhecimento afeta de maneira mais intensa os fibroblastos papilares, levando à sua progressiva redução ou comprometimento funcional. Como consequência, há uma menor sustentação para a epiderme, prejudicando a organização das camadas cutâneas e acelerando o surgimento

dos sinais de envelhecimento. Dessa forma, compreender as especificidades dos fibroblastos dérmicos e suas interações com outros componentes celulares é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes em procedimentos estéticos e terapias regenerativas, permitindo abordagens mais precisas no combate ao envelhecimento cutâneo (Langton et al., 2019).

A heterogeneidade funcional dos fibroblastos não é apenas crucial para a homeostase da pele, mas também para a cicatrização de feridas, o envelhecimento cutâneo e a progressão de doenças como o câncer (Driskell et al., 2015).

1.3 Envelhecimento cutâneo

O envelhecimento é um processo definido como a mudança persistente dependente do tempo na funcionalidade e reprodutibilidade de todos os organismos superiores relacionados a uma maior probabilidade de morbidade e mortalidade (Wyles, 2022). A pele humana está constantemente exposta a estímulos internos e externos (fatores extrínsecos e intrínsecos) os quais exercem um importante impacto na sua funcionalidade com a progressão da idade, manifestando-se como enrugamento da pele, desidratação, reduzida integridade de barreira e adelgaçamento da epiderme (Tobin et al., 2017).

O envelhecimento foi descrito pela primeira vez por Rattan et al. (2016) e de Magalhães et al. (2018), os quais demonstraram que fibroblastos primários humanos têm uma capacidade limitada de se dividir. Isso é conhecido como limite de Hayflick e se origina da incapacidade dos telômeros de manter seus comprimentos devido ao processo de replicação. Consequentemente, as células perdem sua capacidade de proliferação e entram em um estado de parada irreversível do ciclo celular, denominado senescência (Wyles et al., 2022), (Hayflick et al., 1961).

As células senescentes são caracterizadas por sua incapacidade de proliferar, resistência à apoptose e secreção de fatores que promovem inflamação e deterioração tecidual (Wyles, 2022). Estudos demonstram que as células senescentes se acumulam com a idade e podem contribuir para o desencadeamento de alterações e doenças da pele (Langton et al., 2019).

O envelhecimento da pele está relacionado a uma deterioração progressiva da estabilidade estrutural e da integridade funcional. Em nível molecular, isso se manifesta por uma redução contínua da capacidade de reserva e da função máxima. A pele, barreira mecanicamente protetora e flexível, é o órgão mais visível, onde todas as alterações, inclusive o envelhecimento, são perceptíveis (Liang, 2023).

Na pele envelhecida intrinsecamente, os sinais típicos incluem rugas finas, ressecamento, palidez e menor elasticidade. Histologicamente, a epiderme torna-se mais fina e a junção derme epidérmica se achata progressivamente, o que aumenta a fragilidade da pele e reduz a eficiência do transporte de nutrientes entre as camadas (Liang, 2023).

Além disso, a força da gravidade age de forma gradativa levando ptose da pele dos tecidos subjacentes (Queiroz, 2019). A derme também sofre alterações significativas com o envelhecimento, incluindo a redução da espessura, vascularização e quantidade de fibroblastos e mastócitos. Além disso, os níveis de ácido hialurônico e glicosaminoglicanos diminuem ao longo do tempo, enquanto a perda de colágeno e elastina leva à desorganização do tecido conjuntivo, contribuindo para o aparecimento de rugas (Mesa-arango, 2017). Para a pele envelhecida extrinsecamente, o fotoenvelhecimento é a forma mais comum, sendo induzido por fatores ambientais. Até 80% do envelhecimento facial prematuro é atribuído à exposição solar a longo prazo.

Os sinais clínicos do fotoenvelhecimento incluem aspereza, ressecamento, rugas profundas, falta de elasticidade e pigmentação irregular, afetando principalmente o rosto, o pescoço e os antebraços dorsais (Krutmann et al. (2021) e Cosgrove et al. (2007). O envelhecimento afeta todas as camadas da pele, incluindo a hipoderme. Alterações específicas do local ocorrem nessa camada, como atrofia e hipertrofia da gordura. Há perda de gordura nas pernas, mãos e rosto, enquanto ocorre acúmulo na região entre os quadris e a caixa torácica (Liang, 2023).

O remodelamento ósseo decorrente do envelhecimento ocasiona alterações das estruturas ósseas, produzindo expansão, protrusão, aumento de profundidade, além da reabsorção de algumas estruturas ósseas (Tedesco, 2019), os músculos da face diminuem de volume e ficam mais

compridos, o tecido adiposo também diminui e com a força da gravidade tende a cair, deixando os vasos sanguíneos ficarem mais aparentes (Tedesco, 2019).

O processo de envelhecimento da pele pode ser descrito como intrínseco e extrínseco. O envelhecimento intrínseco ou cronológico da pele é um processo inevitável de alterações cronológicas e fisiológicas. Estes impulsionam o envelhecimento da pele relacionados com o tempo, fatores genéticos e hormonais (Mesa-arango, 2017). É também reflexo de um processo oxidativo que está relacionado a um declínio progressivo na capacidade antioxidante e um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Hensley et al., 2002).

O envelhecimento extrínseco é restrito principalmente a locais de pele exposta como face, pescoço e mãos, e manifesta-se predominantemente como rugas grosseiras, pigmentação irregular e lentigos (manchas da idade). Fatores ambientais, como tabagismo, poluentes veiculares, consumo de álcool, hábitos alimentares, resíduos industriais e escolhas de estilo de vida, podem contribuir para o envelhecimento. A radiação ultravioleta (UVR) proveniente do sol ou de fontes artificiais tem um efeito deletério sobre as funções da pele e a sobrevivência dos queratinócitos, um processo conhecido como fotoenvelhecimento (Cosgrove et al., 2007).

Em 2005, o epidemiologista americano especializado em câncer, Christopher Wild, introduziu o conceito de expossoma para representar a soma total das exposições ambientais (não genéticas) que um indivíduo sofre desde a concepção até a morte (Wild, 2005). Destacou-se a necessidade de uma compreensão abrangente dessas exposições para entender melhor como o ambiente influencia o corpo humano, seja no desenvolvimento de doenças ou na formação de características fisiológicas normais. (Wild, 2005). Atualmente, existe um consenso de que o expossoma é constituído tanto pelos fatores externos e internos aos quais o organismo é exposto quanto pelas respostas biológicas desencadeadas por essas exposições. No contexto do envelhecimento da pele, com base em reuniões de consenso, o expossoma pode ser definido como o conjunto de fatores externos e internos, além de suas interações, que impactam um indivíduo ao longo de toda a vida e provocam sinais biológicos e clínicos de envelhecimento cutâneo (Wild, 2012).

Esses fatores que compõem o expossoma do envelhecimento da pele podem ser agrupados em seis categorias principais (Krutmann et al., 2017): radiações solares: ultravioleta (UV), luz visível e radiação infravermelha; poluição do ar; exposição à fumaça do tabaco; nutrição; fatores diversos ainda pouco investigados; uso de produtos cosméticos. De maneira geral, o expossoma abrange todas as exposições às quais um indivíduo está sujeito ao longo da vida, considerando tanto sua natureza quanto suas mudanças dinâmicas ao longo do tempo (Wild, 2017) (Figura 1). Para organizar melhor essa complexidade, as exposições podem ser classificadas em três categorias amplas: exposições internas (como processos metabólicos, inflamações e microbiota); exposições externas específicas (agentes ambientais diretos, como poluentes e radiação) e exposições externas gerais (condições sociais, culturais e ecológicas que moldam o estilo de vida e os ambientes nos quais uma pessoa vive) (Krutmann et al., 2017).

Além disso, o expossoma é dinâmico: em cada momento da vida, um indivíduo apresenta um perfil específico de exposições, o qual pode variar de maneira gradual ou sofrer mudanças abruptas, como ocorre ao nascer, migrar ou iniciar um novo tratamento médico. Essa variabilidade torna a caracterização completa do expossoma uma tarefa complexa, exigindo abordagens capazes de integrar múltiplas exposições de forma contínua ou em períodos-chave ao longo do tempo (Wild, 2012).

Por fim, é fundamental distinguir entre a composição do expossoma em si, os efeitos biológicos decorrentes das exposições e as metodologias utilizadas para medi-las. Embora tecnologias como as abordagens “ômicas” (metabolômica, proteômica etc.) tenham ampliado a capacidade de investigar o expossoma, métodos mais abrangentes e integrativos ainda são necessários para captar tanto as exposições conhecidas quanto aquelas ainda não caracterizadas (Wild, 2012).

O exposoma que contribui para o envelhecimento extrínseco da pele envolve luz solar, poluição do ar, fumaça de cigarro, fatores nutricionais, temperatura, estresse e falta de sono (Wild, 2017) (Figura 1). Por isso, o envelhecimento extrínseco depende da intensidade e tempo de exposição a fatores ambientais e no tipo de pele. Poluição e fumaça de cigarro são fatores

externos bem conhecidos que aceleram o envelhecimento da pele (Krutmann et al., 2017).

No entanto, o fator de envelhecimento extrínseco mais relevante ainda é a exposição à radiação ultravioleta (UV), a qual causa dano ao DNA e estresse oxidativo, induzindo a senescência celular (Wang et al., 2018; Farage et al., 2008). Sinais cutâneos, como dermatite, queilite, alopecia e despigmentação, observados durante certas deficiências nutricionais, destacam uma ligação entre nutrição e a pele. Além disso, fatores dietéticos e suplementos nutricionais podem influenciar o envelhecimento da pele (Lee et al., 2012). O calor também é um fator ambiental que pode contribuir para o envelhecimento da pele. O calor é gerado como consequência da radiação infravermelha (IV) durante a exposição ao sol e leva a um aumento da temperatura da pele. A temperatura da pele humana pode atingir mais de 40°C sob radiação infravermelha direta devido à conversão da IR em calor. O choque térmico agudo na pele humana estimula a formação de novos vasos sanguíneos, recruta células inflamatórias e causa danos oxidativos no DNA (Lee et al., 2012).

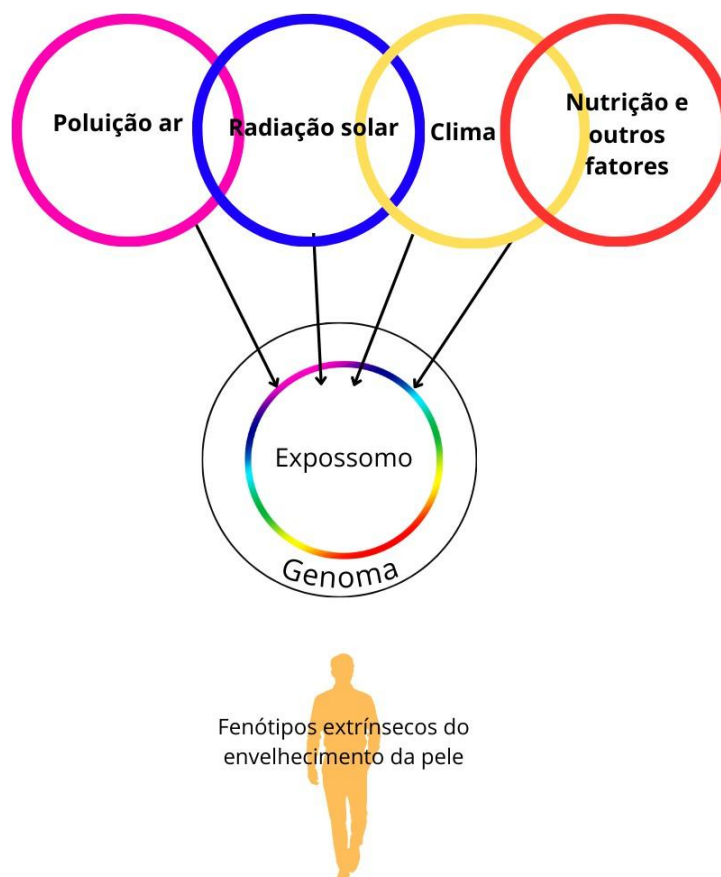


Figura 1. Fenótipos Extrínsecos do envelhecimento da pele

Os fenótipos extrínsecos do envelhecimento da pele resultam da exposição a fatores exposômicos (incluindo poluição, radiação solar, fatores climáticos, nutrição e outros fatores, da sua interação entre si e da sua modificação por fatores genéticos).

O processo de envelhecimento, seja intrínseco ou extrínseco, resulta em várias alterações histológicas na pele, como a diminuição de sua espessura, o achatamento da junção dérmico-epidérmica, o afinamento da hipoderme, a redução dos apêndices pilossebáceos e a diminuição do número e da atividade dos fibroblastos. Além disso, surgem lesões benignas, a distribuição não homogênea da pigmentação melânica, dilatação e maior fragilidade dos capilares sanguíneos (Queiroz, 2019). Bioquimicamente, observa-se a redução do ácido hialurônico e dos glicosaminoglicanos, além da desorganização e diminuição das fibras colágenas e elásticas, redução da vascularização, hidratação e conteúdo lipídico (Kang, 2001). A matriz extracelular dérmica (MEC)

também exibe alterações, como mudanças na proporção de colágeno tipo I/III (Gao, J.; Guo et al., 2023), prejuízos na síntese da MEC, (Gao et al., 2023) e alterações na organização das fibras elásticas (Bogusław; Machalinski et al., 2024). Estudos imuno-histoquímicos demonstram que a expressão do receptor de estrogênio β (ER β) e do receptor de androgênio (AR) diminui com o envelhecimento, sendo essa redução mais pronunciada no envelhecimento extrínseco (Seleit, 2016).

No processo de envelhecimento, ocorre também diminuição das atividades antioxidantes de algumas enzimas, enquanto os radicais livres, produzidos nas reações de degradação celular de oxirredução, se acumulam ao longo do tempo e desnaturam muitos constituintes celulares (Queiroz, 2019). Na epiderme, ocorre a diminuição da estrutura papilar na junção dérmico-epidérmica e diminuição dos melanócitos, enquanto na derme há a redução do remodelamento e por conseguinte da produção de colágeno devido a uma diminuição do número de fibroblastos (Queiroz, 2019). O acúmulo excessivo de fibroblastos senescentes contribui significativamente para o envelhecimento da pele, pois essas células apresentam perda de identidade celular (Solé Boldo, 2020).

O envelhecimento é marcado pela presença de uma inflamação sistêmica persistente e de baixo grau, conhecida como *inflammaging*, que está associada a diversos efeitos prejudiciais do envelhecimento. A pele, por ser a interface entre o meio interno e externo, atua como uma barreira essencial contra agentes nocivos, ao mesmo tempo que mantém substâncias vitais no organismo (Agrawal, 2023). Sendo o maior órgão do corpo, qualquer comprometimento dessa barreira pode desencadear não apenas inflamação cutânea, mas também inflamação sistêmica, um fator comum em várias doenças inflamatórias da pele.

Embora o envelhecimento seja um processo natural, seus mecanismos ainda não são completamente elucidados. Pesquisadores identificaram diversos fatores que influenciam esse processo, chamados de pilares do envelhecimento, muitos dos quais também desempenham um papel na origem de diversas doenças. Entre eles, destaca-se a disfunção proteostática, que leva ao acúmulo de proteínas anormais, comprometendo funções celulares, e a inibição da autofagia, que reduz a capacidade da célula de renovar seus componentes e eliminar estruturas danificadas (Agrawal, 2023).

A degradação eficiente de proteínas defeituosas é essencial para a homeostase celular. No entanto, quando a autofagia é prejudicada, ocorre um acúmulo de mitocôndrias disfuncionais, resultando em um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). O excesso dessas moléculas promove estresse oxidativo, interagindo com proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, o que leva à toxicidade celular e ao aumento da inflamação. O estresse oxidativo ativa diversas vias inflamatórias, incluindo a regulação do fator nuclear kappa β (NF- κ B), que estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias. Esse mecanismo perpetua um ciclo inflamatório crônico, promovendo o envelhecimento celular e contribuindo para o desenvolvimento de doenças relacionadas à idade (Wójcik et al., 2021). Notavelmente, as células senescentes que se acumulam na pele durante o envelhecimento têm um papel central na condução da inflamação da pele (Lee et al.; Young et al., 2021). Ainda, a inflamação da pele pode ser potencializada por fatores extrínsecos, como o tabagismo, acelerando o envelhecimento da pele por meio da elevação da expressão de metaloproteinases (MMPs), envolvidas na degradação do colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos (Lee et al.; Hyunji et al., 2021). Citocinas como IL-1 α e IL-1 β desempenham um papel central na indução da síntese de IL-6 derivada de fibroblastos e de MMP-1, responsável pela quebra do colágeno intersticial dérmico no fotoenvelhecimento (Chao; Feng et al., 2024).

A glicação é um processo não enzimático associado ao envelhecimento da pele, no qual moléculas de açúcar se ligam covalentemente a proteínas, lipídios ou ácidos nucleicos. Os produtos da glicação avançada (AGEs) são compostos complexos resultantes da reação entre açúcares redutores, como glicose e frutose, e biomoléculas, desencadeando modificações químicas que levam à formação de ligações cruzadas entre proteínas. Esse processo contribui para o escurecimento dos tecidos e o aumento de sua fluorescência. Com o tempo, os AGEs podem interagir por meio de cadeias laterais, formando estruturas de alto peso molecular que são resistentes à degradação. Além disso, diversas células, como macrófagos, fibroblastos, células mesenquimais e endoteliais, possuem receptores específicos para AGEs, influenciando sua funcionalidade e promovendo respostas inflamatórias (Zheng, 2019).

A preocupação em retardar o envelhecimento cutâneo associada ao aumento na expectativa de vida, faz com que as pessoas busquem cada vez

mais tratamentos faciais a fim de não apenas retardar o envelhecimento, mas também promover o rejuvenescimento. Nesse sentido, a área da estética tem crescido amplamente, na busca de tratamentos que permitam corrigir os efeitos

CGIDP2 (decapeptídeo 4) do tempo e principalmente de promover o retardo no envelhecimento (Palmieri et al., 2016).

Existem diversos tratamentos disponíveis para retardar o envelhecimento, atuando na regeneração celular, estímulo à produção de colágeno e redução do estresse oxidativo (Palmieri et al., 2016). Entre eles, destaca-se o uso de fatores de crescimento, como o TGF β 3, o IDP2 e o IGF, os bioestimuladores e produtos derivados de plaquetas, incluindo o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), que promovem a renovação celular e melhoram a qualidade da pele. Além disso, antioxidantes tópicos e sistêmicos, como vitamina C, vitamina E, resveratrol e coenzima Q10, desempenham um papel essencial na neutralização dos radicais livres, reduzindo o estresse oxidativo e retardando o envelhecimento celular. Terapias a laser e luz pulsada, como o laser fracionado, luz intensa pulsada (LIP) e radiofrequência, são eficazes na estimulação da produção de colágeno e melhora da firmeza da pele (Palmieri et al., 2016).

Os preenchimentos e bioestimuladores, incluindo ácido hialurônico, hidroxiapatita de cálcio e policaprolactona, ambos auxiliam na restauração do volume facial e na sustentação da pele, Guida et al. (2024), Palmieri et al. (2016). A aplicação de toxina botulínica também é amplamente utilizada para suavizar rugas dinâmicas, prevenindo a formação de marcas de expressão (Satriyasa, 2019). A suplementação de colágeno, por meio do consumo de colágeno hidrolisado e peptídeos bioativos, contribui para a manutenção da elasticidade da pele. Já os cremes e dermocosméticos, formulados com retinoides, peptídeos, ácido hialurônico e niacinamida, oferecem benefícios significativos na hidratação, renovação celular e na prevenção dos sinais do envelhecimento. Essas abordagens, quando combinadas, proporcionam resultados eficazes na manutenção da saúde e juventude da pele, prevenindo os efeitos do envelhecimento precoce (Satriyasa, 2019).

1.4. Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento (FC) englobam uma ampla variedade de moléculas de natureza proteica, biologicamente ativas, cuja principal função é a

regulação do ciclo celular (Park, 2017). Em conjunto com citocinas e moléculas sinalizadoras, os FC desempenham um papel essencial no processo de reparação de feridas cutâneas, influenciando o crescimento, a migração, a diferenciação e a proliferação celular, além de estarem envolvidos na síntese de proteínas. Costa Amara (2020), Park et al. (2017). Dessa maneira, os FC são fundamentais para a regulação de múltiplas funções celulares, promovendo o aumento da taxa de crescimento celular no organismo por meio proliferação celular. Além disso, estão envolvidos na morfogênese de tecidos e órgãos desde a embriogênese até a vida adulta, assim como na produção e distribuição de elastina e colágeno (Costa Amaral et al., 2020).

A aplicação dos fatores de crescimento (FC) e de outras citocinas na regeneração cutânea, observada em estudos clínicos, marcou o início da investigação sobre seus benefícios para tratamentos estéticos voltados ao rejuvenescimento e à prevenção do fotoenvelhecimento. Em 2003, Fitzpatrick et al. e Rostan conduziram um dos primeiros estudos que comprovaram a eficácia dos FC no rejuvenescimento da pele foto danificada. Os resultados demonstraram que o uso contínuo por 60 dias de um gel contendo uma combinação de FC estimulou a proliferação de fibroblastos e queratinócitos, com aumento na produção de colágeno, espessamento da epiderme e melhorias na textura da pele, bem como na redução de rugas (Fitzpatrick et al., 2003).

Os fatores de crescimento são amplamente utilizados na estética facial para estimular a regeneração celular, a produção de colágeno e a melhora da qualidade da pele (Ulusal, 2017). Eles podem ser aplicados de diversas maneiras para potencializar tratamentos de rejuvenescimento e regeneração tecidual (Ulusal, 2017).

Uma das abordagens mais comuns é a bioestimulação com PRP (Plasma Rico em Plaquetas), que contém fatores de crescimento derivados das plaquetas do próprio paciente. Esse método promove renovação celular, estimula os fibroblastos e aumenta a produção de colágeno e elastina, sendo utilizado em procedimentos como microagulhamento e injeção direta na pele para tratar rugas finas, cicatrizes de acne e flacidez (Ulusal, 2017). Outra maneira de aplicação é por meio do uso de dermocosméticos formulados com fatores de crescimento derivados de biotecnologia, como o EGF (Fator de crescimento epidermal) e o TGF β (Fator de crescimento transformador beta). Esses produtos ajudam na

reparação cutânea, na hidratação e na firmeza da pele, sendo indicados especialmente para potencializar tratamentos após-laser, *peeling* e microagulhamento (Gomes et al., 2021).

O microagulhamento com *drug delivery* é outra técnica eficaz, na qual os fatores de crescimento são aplicados durante o procedimento para aumentar sua absorção e otimizar a regeneração celular. Essa abordagem acelera a cicatrização e potencializa os resultados do tratamento (Hou et al., 2017). Além disso, os fatores de crescimento são frequentemente utilizados após procedimentos estéticos invasivos, como laser fracionado, *peeling* químico e radiofrequência microagulhada, para auxiliar na recuperação da pele, reduzindo o tempo de *downtime* e melhorando os efeitos do tratamento (Meephansan et al., 2018). Por fim, alguns bioestimuladores e preenchedores já contêm fatores de crescimento em sua composição, promovendo uma regeneração mais eficiente da pele e estimulando a produção de colágeno a longo prazo (Chernoff; Greg, 2023).

O uso dos fatores de crescimento na harmonização facial é uma estratégia inovadora que melhora a qualidade da pele, acelera a cicatrização e potencializa os resultados dos tratamentos estéticos, uma vez que promove a proliferação e migração dos fibroblastos, tornando-se um grande aliado para quem busca rejuvenescimento e revitalização facial (Chen et al., 2020).

O TGF- β (fator de crescimento transformador beta) é uma citocina multifuncional da superfamília do TGF- β , que inclui três isoformas principais: TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3, além das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) e activinas (Park, 2025). Em mamíferos, essas três isoformas representam as principais formas do TGF- β , sendo o TGF- β 1 o predominante na cicatrização de feridas cutâneas (Park, 2025). Essas moléculas são produzidas por macrófagos, fibroblastos, queratinócitos e plaquetas, atuando por meio da ligação a um complexo de receptores heteroméricos (tipo I e tipo II, serina-treonina quinases), com auxílio de um receptor tipo III, que apresenta o ligante ao receptor tipo II. Após ativação dos receptores, a sinalização prossegue por meio da família de fatores de transcrição Smad (Langton et al., 2019).

O TGF- β 1 é essencial para o reparo tecidual, participando da inflamação, formação de tecido de granulação, angiogênese, reepitelização e remodelação da matriz extracelular. Atua recrutando células inflamatórias, estimula a

produção de colágeno e VEGF, facilitando a contração da ferida por meio da indução da expressão de actina de músculo liso alfa nos fibroblastos e sua diferenciação em miofibroblastos, além de modular a migração dos queratinócitos (Vallée, 2019). Dependendo da fase, o TGF- β 1 pode inibir ou estimular a proliferação dos queratinócitos, e seu excesso leva à fibrose e formação de cicatrizes hipertróficas ou queloides, enquanto níveis mais baixos, como observado em feridas fetais, estão associados à cicatrização sem cicatriz (Lichtman, 2016).

O TGF- β 2 é essencial para manter a estrutura, firmeza, elasticidade e reparo da pele, atuando na síntese e proteção da matriz extracelular, modulação da inflamação e equilíbrio celular dérmico (Yuan et al., 2022).

O TGF- β 3 exerce funções distintas e essenciais tanto na pele íntegra quanto durante o processo de reparo de feridas. Em condições normais, o TGF- β 3 participa da manutenção da homeostase tecidual, controlando o ciclo celular dos queratinócitos e limitando sua proliferação excessiva (Luo, 2015). Em resposta a lesões, promove a re-epitelização, regula a resposta inflamatória, estimula a angiogênese e contribui para a formação do tecido de granulação (Luo, 2015; Barrientos et al., 2008). Além disso, o TGF- β 3 facilita o recrutamento de células inflamatórias e fibroblastos, promove a migração dos queratinócitos, estimula a neovascularização e o rearranjo vascular (Park, 2025). Em contraste com o TGF- β 1 e o TGF- β 2, o TGF- β 3 inibe a formação de cicatrizes, favorecendo uma organização mais adequada das fibras colágenas e proporcionando uma cicatrização mais estética (Yuan et al., 2022). Em feridas crônicas, a diminuição dos níveis de TGF- β 3 pode comprometer sua atividade regenerativa (Barrientos et al., 2008).

Na estética e na harmonização facial, o TGF β 3 vem sendo amplamente estudado pelo seu potencial de melhorar a qualidade da pele. Sua utilização associada a bioestimuladores como hidroxiapatita de cálcio e tecnologias como a FBM potencializa os efeitos de rejuvenescimento e reparação, promovendo uma regeneração otimizada (Junior, 2023).

O CG IDP-2, classificado como um decapeptídeo-4 de última geração, é um fragmento sintético do fator de crescimento de insulina, desenvolvido com tecnologia nano encapsulada para assegurar maior biodisponibilidade e ação direcionada nas três camadas da pele: epiderme, derme e hipoderme (Pai,

2017). Sua atuação envolve a proliferação de queratinócitos e fibroblastos, o estímulo à produção de matriz extracelular e o fortalecimento da arquitetura cutânea (Dieamant et al., 2012). Tais efeitos são validados por estudos clínicos e histopatológicos que evidenciam o aumento da densidade celular e a síntese de colágeno, especialmente na derme papilar (Dieamant et al., 2012).

Os peptídeos, exercem uma variedade de funções biológicas, atuando principalmente como moléculas sinalizadoras e reguladoras em diversos processos fisiológicos, como defesa, imunidade, estresse, crescimento, homeostase e reprodução (Pai, 2017). Entrar com o idp2 aqui. Essas propriedades têm sido amplamente exploradas nas áreas da dermatologia e cosmetologia, com o desenvolvimento de peptídeos curtos, sintéticos e estáveis voltados para a modulação da matriz extracelular, pigmentação, imunidade inata e inflamação (Pai, 2017). Além disso, os peptídeos são considerados fragmentos funcionais de fatores de crescimento, com alta especificidade de ação, sendo amplamente aplicados em formulações cosmecêuticas e terapêuticas de forma concentrada (Pai, 2017).

O CGIDP-2 tem se mostrado promissor na cicatrização de feridas extensas, no tratamento de úlceras varicosas, queimaduras, lipodistrofias e na prevenção de quelóides pós-cirúrgicos (Polentini, 2021). Na harmonização facial e em procedimentos estéticos, o IDP2 tem sido estudado por seu potencial de otimizar tratamentos de rejuvenescimento, graças às suas propriedades antirrugas, efeito *lifting* e estímulo ao crescimento capilar (Polentini, 2021). Também exerce funções importantes no crescimento e regeneração da pele, favorecendo os processos de cicatrização e reparação tecidual.

Sua capacidade de estimular a renovação celular contribui para a prevenção de linhas de expressão e melhora da textura cutânea. O CG-IDP2, uma de suas formas aplicadas, é amplamente utilizado em formulações voltadas aos cuidados dermatológicos e capilares. Por suas propriedades regenerativas e moduladoras, o IDP2 se mostra um aliado promissor na estética, promovendo uma pele mais firme, revitalizada e com aparência saudável (Polentini, 2021). Essa amplitude de aplicações destaca seu valor como um recurso biotecnológico de ponta na medicina regenerativa.

O IGF (Fator de crescimento insulínico) é um fator de crescimento semelhante à insulina, essencial para a regeneração celular, o crescimento

tecidual e a manutenção da pele (Gan, 2021). Ele possui duas principais formas, o IGF-1 e o IGF-2, ambas fundamentais para a induzir a proliferação e diferenciação celular, contribuindo diretamente para a reparação da pele e dos tecidos conjuntivos (Gan, 2021). Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) são produzidos principalmente pelas células hepáticas em resposta aos hormônios hipofisários, formando um circuito de retroalimentação com a hipófise, o fígado e a liberação do hormônio liberador do hormônio de crescimento pelo hipotálamo (Nurwidya et al., 2016).

A atividade dos IGFs é cerca de 1% da atividade da insulina no que se refere ao metabolismo da glicose, lipídios e proteínas. Além disso, os IGFs desempenham um papel fundamental na diferenciação de tecidos mioblásticos ou osteoblásticos em músculo e osso (Fernandez et al., 2017). Para além de seu papel como mediadores do metabolismo, o IGF-1 também está envolvido em distúrbios do desenvolvimento e em diversas doenças, além dos distúrbios metabólicos e câncer (Fernandez et al., 2017).

A via de sinalização do IGF é composta por três ligantes (IGF-1, IGF-2 e insulina), três receptores (receptor do IGF-1, IGF-1R, IGF-2R e receptor de insulina, IR) e uma superfamília de seis proteínas ligantes de IGF (IGFBPs 1–6) (Baxter, 2024). O IGF-1 e o IGF-2 são os dois únicos membros dos IGFs identificados até o momento. Em relação aos mecanismos moleculares, alterações transcriptômicas, como a modulação de genes envolvidos na vascularização, crescimento celular, morfogênese e vias como MAPK/Wnt, são observadas. A repressão da expressão de IGF-1 por Ezh2 é crítica para a diferenciação adequada das células basais, enquanto o IGF-1 ativa as vias AKT e ERK1/2 em células basais humanas, promovendo diferenciação epitelial. Além disso, o IGF-1 tem efeitos específicos em fibroblastos, como estimular sua proliferação e diferenciação, inibir a apoptose de miofibroblastos, levando ao acúmulo de matriz extracelular (ECM), e ativar diversas vias, como IRS2/PI3K/Akt, Ras, MAPK, EGR-1/2 (Warnken, 2020). O bloqueio do IGF-1R pode induzir a apoptose de fibroblastos, resultando em uma melhora na fibrose (Hernandez et al., 2020).

O efeito anti-apoptótico do IGF-1 pode ser mediado pela ativação das vias ras, FOS, EGR-1, EGR-2, PI3K/Akt e/ou MAPK, e pode ser bloqueado por anticorpos ou siRNA direcionados ao IGF-1R (Hernandez et al., 2020). A via de

sinalização do IGF-1 está fortemente associada à ativação, proliferação, migração e sobrevivência de fibroblastos e miofibroblastos pulmonares, efeitos esses que contribuem diretamente para o acúmulo de matriz extracelular e a persistência da fibrose, sugerindo um papel funcional crucial no processo fibrótico (Kapoor et al., 2006). Existem alguns estudos que avaliaram o efeito do IGF-1 nos fibroblastos, queratinócitos, bulbo capilar dentre outros (Hou et al., 2015) porém são poucas as informações sobre o uso do IGF-1 em fibroblastos humanos e seus efeitos nessas células (Hou et al., 2015).

Apesar de sua ampla aplicação na dermatologia e na harmonização facial, os fatores de crescimento continuam sendo, majoritariamente, utilizados de forma isolada, cada um visando efeitos específicos sobre proliferação celular, síntese de matriz extracelular ou reparação tecidual. Embora haja estudos avaliando combinações entre diferentes fatores de crescimento e, mais recentemente, associações com tecnologias como a fotobiomodulação, os resultados permanecem heterogêneos e, em muitos casos, inconclusivos. A ausência de padronização quanto a concentrações, formulações, modelos experimentais e protocolos de aplicação dificulta a identificação de reais efeitos sinérgicos. Dessa forma, embora apresentem grande potencial terapêutico, as evidências científicas atuais ainda são insuficientes para definir com precisão os benefícios das combinações de fatores de crescimento, reforçando a necessidade de estudos controlados que elucidem seus mecanismos, interações e eficácia.

1.5 Fotobiomodulação – Luz Vermelha

A FBM anteriormente conhecida como terapia com luz de baixa intensidade (LLLT) ou fototerapia com laser, utiliza luz monocromática ou quase monocromática, na faixa óptica de aproximadamente 600 a 1000 nm, para promover tratamentos não térmicos e não destrutivos em diversas condições envolvendo tecidos moles e neurológicos, interagindo com as células e tecidos, sendo capaz de promover a proliferação celular, modulação inflamatória, modulação do sistema linfático e reparação tecidual (Karu, 2013).

Tanto os lasers de baixa intensidade quanto os LEDs podem ser empregados na FBM. A principal diferença entre esses dispositivos está na coerência do feixe

de luz emitido. Enquanto os lasers produzem luz monocromática, colimada e coerente, ou seja, com ondas alinhadas em fase os LEDs emitem luz de forma não colimada e, portanto, incoerente. Apesar dessa diferença física, estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que ambos os dispositivos são eficazes no estímulo à proliferação de fibroblastos, à síntese de colágeno e à angiogênese, processos fundamentais para o reparo tecidual. Assim, tanto o laser quanto o LED são considerados apropriados para aplicações terapêuticas na FBM (Maghfour et al., 2024).

O mecanismo de ação da FBM pode ser dividido em primário e secundário. Os efeitos biológicos da FBM resultam da interação entre os fótons emitidos por lasers e LEDs terapêuticos de baixa potência e cromóforos endógenos específicos, também chamados de fotorreceptores. Quando um fotorreceptor absorve um fóton, sua energia é elevada do estado fundamental para um estado excitado (Pourhajibagher, 2025). Como esse estado é instável, o fotorreceptor retorna ao seu estado original, liberando o excesso de energia para outras moléculas, o que desencadeia uma série de reações biológicas, como o aumento da transferência de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial, produção de radicais livres e modulação da força motriz de prótons e do potencial da membrana mitocondrial (Karu, 2014).

Essas reações compõem os mecanismos primários da FBM, que envolvem principalmente a absorção de fótons por cromóforos celulares sendo a mitocôndria o principal deles. Os cinco principais mecanismos primários descritos são: (1) alteração nas propriedades redox dos componentes da cadeia respiratória após excitação; (2) liberação de óxido nítrico do centro catalítico da citocromo c oxidase; (3) formação de oxigênio singleto; (4) aquecimento transitório local dos cromóforos; e (5) aumento na produção de ânion superóxido, seguido pelo aumento das espécies reativas derivadas de sua dismutação (Passarella, S.; Karu, T., 2014). Já os mecanismos secundários correspondem às respostas biológicas desencadeadas por essas alterações iniciais, incluindo (1) modificação do metabolismo celular; (2) aumento da síntese de colágeno por fibroblastos; (3) elevação do potencial de ação em células nervosas; e (4) estímulo à formação de DNA e RNA no núcleo celular (Luna, 2020).

O LED possui alguns comprimentos de onda com diferentes graus de absorção, espalhamento e reflexão. Entre eles, destaca-se o LED azul, que

emite feixes de luz com propriedades bactericidas, com comprimento de onda de 470 nm, sendo sensível à membrana plasmática bacteriana, o que impede as trocas metabólicas e induz à autodestruição da célula. Já os LEDs verdes (530 nm) apresentam efeitos anti-inflamatórios, atuando diretamente em células como monócitos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Os LEDs âmbar, com comprimento de onda de 590 nm, estimulam a produção de colágeno e promovem aumento da circulação sanguínea e da nutrição cutânea. Por sua vez, os LEDs vermelhos (660 nm) atuam na inibição de mediadores químicos envolvidos na cascata inflamatória. Finalmente, o LED infravermelho, com comprimento de onda de 808 nm, contribui para o aumento da absorção energética celular, promovendo a ativação das células e favorecendo a recepção de ativos (Sorbellini, 2018).

Diferentes comprimentos de onda podem ser produzidos dependendo da composição do semicondutor utilizado, e os sistemas de LED podem emitir luz tanto de forma contínua quanto pulsada. Os comprimentos de onda empregados em FBM variam de 400 a 1200 nm, sendo que os comprimentos de onda maiores têm maior capacidade de penetração nos tecidos, de acordo com Catão et al. (2013) e Baldassarro et al. (2023).

A pele apresenta uma janela de comprimento de onda óptico entre 600 e 1.300 nm, na qual os coeficientes de absorção da melanina, hemoglobina e água são relativamente baixos. Com o aumento do comprimento de onda, as reações que favorecem a formação de oxidantes reativos tendem a diminuir, uma vez que há uma redução na quantidade de espécies fotossensibilizadoras endógenas (EP) presentes na pele humana nesse intervalo de ondas.

A FBM influencia a pele de acordo com os princípios da hormese, que postula que um agente, substância ou estímulo pode gerar uma resposta bifásica em relação à dose (Felician et al., 2023). Em intensidades de luz mais baixas, observa-se uma resposta estimulante, enquanto em intensidades mais altas, os efeitos tendem a ser inibitórios. Além disso, diferentes células e tecidos absorvem luz em diferentes comprimentos de onda, o que está diretamente relacionado à profundidade de penetração que esses comprimentos devem atingir. Os fotossensibilizadores endógenos, presentes em concentrações e localizações específicas, são responsáveis por absorver a radiação e gerar estados excitados e oxidantes reativos, responsáveis pelas diferentes respostas

da pele durante e após a exposição solar ou protocolos de irradiação (Bastos et al., 2023). Entre esses fotossensibilizadores endógenos estão pequenas moléculas como vitaminas (nicotinamida, flavina, folato), aminoácidos, cofatores, bilirrubina, β -caroteno, bem como macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, glicanos e opsinas (de Assis et al., 2021).

Nesse contexto, a luz vermelha (630–700 nm) destaca-se por sua capacidade de alcançar a derme, ativando fibroblastos e aumentando a expressão de fatores de crescimento como o procolágeno tipo 1 e a metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9) (Travi, 2013). Comparada à luz azul e verde, a luz vermelha penetra mais profundamente na pele, uma vez que seus fótons são menos dispersos e absorvidos pelos fotossensibilizadores endógenos (de Assis et al., 2021). Como resultado, ocorre uma formação reduzida de estados excitados e oxidantes reativos, diminuindo o risco de dano à arquitetura biológica da pele, a quantidade total de oxidantes induzidos por essa faixa de luz é até sete vezes menor do que em outras regiões do espectro visível (Zastrow et al., 2009). Essa menor absorção permite que a pele experimente de forma mais efetiva os efeitos bioestimulantes da interação luz-pele, incluindo a ativação de vias de sinalização, como a via Nrf2, que promove alterações metabólicas favoráveis dentro das células (de Assis et al., 2021).

A FBM, portanto, exerce efeitos que dependem diretamente do estado fisiológico do tecido-alvo e da maneira como cada comprimento de onda é absorvido pelos diferentes tipos de tecidos (Soberlini, 2018). Na pele, a FBM tem sido amplamente utilizada para promover cicatrização, alívio da dor, redução de edema e prurido, além de estimular a produção de colágeno e elastina, contribuindo para maior firmeza, elasticidade e diminuição de rugas e linhas finas (Bensadoun, 2018).

Recentemente, diversos estudos vêm explorando protocolos específicos de irradiação com foco especial nas aplicações estéticas da luz vermelha (600–700 nm). Evidências demonstram que doses entre 15–20 J/cm² promovem melhorias significativas na qualidade da pele, incluindo aumento da elasticidade e densidade cutânea, redução da aspereza e do diâmetro dos poros, além da regulação da produção de sebo (Couturaud et al., 2023). A luz vermelha também tem papel importante na repitelização e retração de feridas, sobretudo nas fases

finais da cicatrização (Simões et al., 2020), favorecendo a restauração da função de barreira da pele (Abe et al., 2019).

Um dos efeitos mais marcantes da FBM é a estimulação da proliferação celular, observada em vários tipos celulares sob exposição a fontes de luz entre 600 e 900 nm (Tang et al., 2023). Esses benefícios estão fortemente associados à ação da luz vermelha sobre os fibroblastos, resultando em maior atividade metabólica (George et al., 2018) e aumento da síntese de colágeno, elastina e ácido hialurônico (Kim Y. et al., 2015; Kim B. et al., 2019). Além disso, a luz vermelha também contribui para processos celulares fundamentais, como a reparação do DNA em fibroblastos (Kim H. et al., 2017).

Alguns estudos avaliaram modulação da atividade dos fibroblastos através de alguns fatores de crescimento, em associação à luz vermelha, representando uma abordagem promissora para otimizar os processos de cicatrização, reparo tecidual e rejuvenescimento, segundo Teodoro et al. (2020), Costa Amaral et al. (2020), Guo et al. (2020).

Estudos recentes têm investigado a ação da luz vermelha sobre fibroblastos dérmicos, células essenciais na manutenção da homeostase da matriz extracelular e fundamentais nos processos de cicatrização (Mamalis, 2016). Durante a regeneração tecidual, a síntese de proteínas estruturais é ativada, sendo a desregulação desse processo um fator chave em patologias como a fibrose cutânea (Andrews et al., 2016). A exposição à luz vermelha tem demonstrado acelerar o processo de reparo (Felician et al., 2023) e modular a expressão de genes relacionada à matriz extracelular, como metaloproteinases (MMPs), seus inibidores (TIMPs) e colágeno (COL) (Li et al., 2020).

Em protocolos frequentemente utilizados na fotobiomodulação (FBM), emprega-se luz vermelha de 660 nm associada a uma fluência de 5 J/cm², geralmente aplicada em dose única sobre culturas celulares, com avaliação dos desfechos em diferentes tempos pós-irradiação (24, 48 e 72 horas). Nesses modelos, observou-se redução na expressão de MMP3 e MMP9, além de aumento na expressão de COL1A1 e TIMP1, tanto em fibroblastos normais quanto em condições adversas, como hipóxia ou diabetes (Ayuk et al., 2018). Kim et al. (2015) também relataram diminuição na expressão de MMP1 e MMP2, acompanhada de aumento na expressão de COL1A1, embora sem alteração na quantidade da proteína colágeno tipo I, sugerindo modulações em etapas pós-

transcricionais. Por outro lado, alguns estudos apresentam resultados divergentes. Lee et al. (2024) observaram aumento simultâneo na expressão de MMP1, MMP3 e COL1A1 após exposição à luz de 628 nm com fluência de 6 J/cm², indicando que o comportamento celular pode variar conforme o comprimento de onda, a fluência e o contexto experimental.

Na literatura, os protocolos de fotobiomodulação mais frequentemente aplicados em modelos *in vitro*, em fibroblastos humanos, utilizam luz vermelha na faixa de 630–660 nm, com fluências em torno de 5–6 J/cm², demonstrando aumento da síntese de colágeno e redução da expressão de metaloproteinases (Guo et al., 2015; Ayuk et al., 2018; Lee et al., 2024). Em modelos *in vivo*, destacam-se aplicações no infravermelho próximo, como 808 nm com 5 J/cm², que promovem aceleração da cicatrização, epitelização e deposição de colágeno em feridas cutâneas (Lau et al., 2015). Já em ensaios clínicos, protocolos com LEDs de 633–830 nm, aplicados em sessões de 20 minutos, duas vezes por semana, têm mostrado aumento da atividade fibroblástica, da síntese de colágeno e elastina, além da modulação de citocinas e inibidores de metaloproteinases (Lee et al., 2007; Choi et al., 2019).

De forma geral, os achados confirmam que a fluência e o comprimento de onda são determinantes para os efeitos celulares e teciduais, reforçando a necessidade de otimização da dosimetria em protocolos voltados à estética e rejuvenescimento.

Um recente estudo utilizou o fator de crescimento epidérmico e a associação da luz vermelha com objetivo de investigar os efeitos do EGF associado à FBM sobre o processo de cicatrização em modelo experimental de feridas cutâneas em ratos de acordo com Costa e Busanello et al. (2023). No estudo, foram utilizados 40 ratos Wistar, divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: grupo controle (sem tratamento), grupo tratado com EGF tópico, grupo tratado com FBMT-LED e grupo com tratamento combinado EGF + PBMT. A aplicação dos tratamentos iniciou-se imediatamente após a indução da ferida e foi realizada diariamente por oito dias consecutivos. A terapia com LED foi aplicada previamente ao EGF, em um único ponto central da lesão. A avaliação dos efeitos terapêuticos incluiu análises macroscópicas, histológicas, morfométricas e imunohistoquímicas, com foco na expressão de marcadores relacionados à inflamação (COX-2), angiogênese (VEGF) e remodelação

tecidual (TGF- β). Os resultados demonstraram que a associação entre EGF e FBMT proporcionou o maior índice de cicatrização. Morfologicamente, todos os grupos tratados apresentaram melhora nos parâmetros inflamatórios e regenerativos, porém o grupo EGF + PBMT destacou-se com maior extensão de neoepitélio e aumento exclusivo da expressão de TGF- β , além da redução de COX-2 e elevação de VEGF. Com base nesses achados, concluiu-se que tanto o EGF quanto a FBMT-LED atuam de forma efetiva na modulação da resposta inflamatória e na estimulação da angiogênese. No entanto, a terapia combinada demonstrou um efeito superior, sugerindo-se como uma estratégia promissora para otimizar o tratamento de feridas cutâneas em contextos clínicos (Costa; Busanello et al., 2023).

Um outro estudo avaliou a combinação do laser Er:YAG de 2940 nm com o fator de crescimento fibroblástico e o led vermelho em estrias albas. De acordo com Shen et al. (2017), o uso do rb-bFGF reduziu o tempo de cicatrização e acelerou a regeneração da ferida, o que foi benéfico para diminuir o risco de infecção. Uma semana após o tratamento com o laser Er:YAG AFL, os pacientes receberam sessões de LED-RL a cada 7 dias, por três sessões, entre os dois tratamentos com o laser Er:YAG de 2940 nm, reduzindo a vermelhidão causada por inflamações ou irritações cutâneas após os tratamentos com laser de alta potência (Shen et al., 2017).

Existem evidências em protocolos corporais, como relatado por Disphanurat (2020), que demonstram os benefícios do uso de fatores de crescimento em gel associados a lasers de alta potência na melhora da textura da pele em estrias albas, com resultados observados após 30 dias de tratamento. Entretanto, ainda são escassas na literatura científica as investigações sobre protocolos faciais que combinem fatores de crescimento com a aplicação de luz vermelha. Sabe-se, entretanto, que a luz vermelha estimula a atividade mitocondrial e eleva a produção de ATP, o que potencializa a ação dos fatores de crescimento ao promover a proliferação celular e acelerar o processo de reparo tecidual. Essa sinergia confere à associação um grande potencial terapêutico em tratamentos como estrias, cicatrizes, rejuvenescimento cutâneo e recuperação pós-procedimentos a laser (Disphanurat, 2020).

2. JUSTIFICATIVA

O envelhecimento cutâneo é um processo biológico inevitável e multifatorial, marcado por mudanças estruturais e funcionais na pele, que resultam na perda da elasticidade, firmeza e luminosidade da mesma. Com o passar dos anos, a capacidade da pele de regenerar e reparar-se diminui, principalmente devido à redução na produção de colágeno e elastina, proteínas fundamentais para a sustentação e aparência da pele. Fatores internos, como genética e alterações hormonais, juntamente com fatores externos, como a exposição crônica ao sol, poluição e estresse, aceleram esse processo de envelhecimento, tornando-se o principal desafio para a medicina estética. Além disso, o envelhecimento cutâneo não se limita apenas a uma mudança estética, mas também está relacionado a uma diminuição funcional da pele, impactando sua resistência a agressões e sua capacidade de regeneração.

A busca por alternativas eficazes para retardar os sinais do envelhecimento tem sido um dos principais focos da medicina estética. Nos últimos anos, diversas abordagens têm sido estudadas, incluindo tratamentos tópicos, procedimentos invasivos e não invasivos, com o objetivo de estimular a regeneração celular, melhorar a produção de colágeno e restaurar a saúde e aparência da pele. Entre essas alternativas, os fatores de crescimento (FC) têm mostrado grande potencial devido à sua capacidade de estimular processos celulares cruciais para a regeneração da pele, como a proliferação, migração e diferenciação celular, além de promoverem a síntese de novas fibras de colágeno e elastina. Fatores de crescimento como o TGF- β 3 e IGF têm sido amplamente estudados na estética clínica devido à sua capacidade de modular processos de cicatrização, rejuvenescimento e reparação tecidual.

Na medicina estética, a FBM tem se destacado como uma abordagem não invasiva promissora para o tratamento de diversos sinais do envelhecimento cutâneo. A luz vermelha, com comprimento de onda em torno de 660nm, tem sido amplamente utilizada devido ao seu potencial em promover a regeneração celular, melhorar a circulação sanguínea local e estimular a produção de colágeno nos fibroblastos dérmicos. Esse efeito é mediado pela absorção da luz pelas mitocôndrias, que induz a produção de ATP (energia celular), ativando vias celulares responsáveis pelo reparo e rejuvenescimento da pele. A combinação

da FBM com fatores de crescimento, como o TGF- β 3, IDP2 e IGF, representa uma estratégia inovadora para potencializar os efeitos regenerativos da luz, criando um ambiente propício à regeneração da pele.

No entanto, embora esses tratamentos tenham mostrado resultados promissores de forma isolada, o efeito combinado dos fatores de crescimento TGF- β 3, IDP2 e IGF com a FBM utilizando luz vermelha (660nm) em fibroblastos dérmicos humanos ainda é amplamente desconhecido. Este é um ponto crucial, pois a interação entre essas terapias pode proporcionar uma abordagem sinérgica, potencializando ainda mais os efeitos regenerativos e rejuvenescimento da pele. Portanto, é fundamental investigar como essa combinação pode influenciar a atividade dos fibroblastos, a produção de colágeno e elastina, e os mecanismos moleculares envolvidos no processo de reparação e rejuvenescimento cutâneo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito da FBM com comprimento de onda de 660nm na presença de fatores de crescimento TGF- β 3, IDP2 e IGF em fibroblastos dérmicos humanos.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a viabilidade de fibroblastos dérmicos humanos após 24h, 48h e 72h de tratamento com a FBM associada aos fatores de crescimento Nanofatores TGF β 3+IDP2+IGF (1%).
- Avaliar a expressão dos genes COL3A1, COL1A1, ELASTINA, TGF- β após 48h de tratamento com a FBM associada aos fatores de crescimento Nanofatores TGF β 3+IDP2+IGF (1%).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Cultivo celular

Células da linhagem celular humana HFF-2 (ATCC), derivadas de fibroblastos dérmicos humanos, foram cultivadas em meio de cultura DMEM (Dubelco's modified eagle médium – Gibco-Thermo Fisher, EUA) contendo solução antimicótica e antibiótica 1% e suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS – Invitrogen, EUA), 1% de L-glutamina, 1% de piruvato de sódio e 1% de aminoácidos não-essenciais. As células foram mantidas em frascos ou placas de cultura a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO₂ e 95% de umidade até atingirem confluência de 60-70% e utilizadas para os experimentos.

4.2. Grupos experimentais

As células da linhagem HFF-2 foram divididas nos seguintes grupos experimentais:

- **Controle:** células submetidas a nenhum tratamento.
- **Fator de crescimento FC (1:1):** células submetidas ao tratamento com fator de crescimento TGF-β3, IDP2 e IGF (PHD do Brasil), diluído 1:1 em meio de cultura completo com 10% de FBS.
- **Fator de crescimento FC (1:3):** células submetidas ao tratamento com fator de crescimento TGF-β3, IDP2 e IGF (PHD do Brasil), diluído 1:3 em meio de cultura completo com 10% de FBS.
- **FBMV:** células submetidas ao tratamento com FBM em comprimento de onda vermelho (LEDbox BioLambda, São Paulo, Brasil) com comprimento de onda de 660nm), de acordo com os parâmetros dosimétricos descritos na Tabela 1.
- **Fator de crescimento FC (1:1) + FBMV:** células submetidas ao tratamento com fator de crescimento TGF-β3, IDP2 e IGF (PHD do Brasil) e FBM em comprimento de onda vermelho de acordo com os parâmetros dosimétricos descritos na Tabela 1.
- **Fator de crescimento FC (1:3) + FBMV:** células submetidas ao tratamento com fator de crescimento TGF-β3, IDP2 e IGF (PHD do Brasil)

e FBM em comprimento de onda vermelho de acordo com os parâmetros dosimétricos descritos na Tabela 1.

4.3. Fotobiomodulação

O equipamento utilizado para a terapia de fotobiomodulação foi o LED Box® (BioLambda, Brasil), desenvolvido para aplicações em biofotônica e fotomedicina. O sistema opera por meio de emissores de LEDs de alta potência, disponibilizando diferentes comprimentos de onda na faixa do vermelho visível (630–660 nm). O dispositivo permite o ajuste preciso dos parâmetros de irradiação, incluindo potência de saída (mW), densidade de energia (J/cm²), tempo de exposição (s ou min) e área do feixe (cm²), garantindo padronização dos protocolos e reprodutibilidade experimental Tabela 1. O equipamento emite luz vermelha (660 nm) com densidade de energia de 5,04 J/cm², apresentando feixe homogêneo (>90%) e área de irradiação de 163 cm². As irradiações foram realizadas posicionando-se as placas de cultura contendo fibroblastos da linhagem HFF-2, $3,84 \times 10^6$ encostados na fonte emissora, assegurando distribuição homogênea da luz sobre toda a área da amostra. O procedimento foi conduzido em ambiente estéril, dentro de capela de fluxo laminar, com o equipamento previamente calibrado por espectrômetro certificado. A irradiação foi realizada uma única vez, 24 horas após a colocação dos fatores de crescimento, de forma pontual e uniforme sobre cada poço, conforme o protocolo experimental definido para os grupos submetidos à fotobiomodulação isolada e combinada aos fatores de crescimento. Durante o processo, a temperatura foi monitorada e mantida constante, evitando aquecimento da amostra. Após a irradiação, as células foram retornadas à estufa (37 °C, 5% CO₂) até os períodos de análise de 24 h, 48 h e 72 h para os ensaios de viabilidade celular e expressão gênica.

Tabela 1. Parâmetros dosimétricos utilizados para a irradiação das células da linhagem celular humana HFF-2

Parâmetros	Tipo fonte (laser/LED)
Comprimento de onda [nm]	660
Largura espectral [nm]	±20
Modo de operação	Contínuo
Potência radiante média [mW]	0,098
Potência pico [mW]	0,080
Irradiância no alvo [W/cm ²]	0,0494
Duração da exposição [s]	102
Exposição radiante [J/cm ²]	5,04
Energia radiante [J]	8,16
Técnicas de aplicação	Em contato
Número e frequência das sessões de tratamento	1

Fonte: autora, 2026.

4.4. Análise da viabilidade celular

A irradiação das placas foi feita colocando-se a placa diretamente sobre a fonte de luz. As placas do grupo controle permaneceram da incubadora pelo mesmo período de irradiação. A irradiação foi feita imediatamente após a colocação dos fatores de crescimento. A viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico com o reagente MTS e cristal violeta. A metodologia do MTS baseia-se na redução do sal tetrazólio MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5-(3-carboximetoxifenil) -2-(4-sulfofenil) -2H-tetrazólio) por enzimas mitocondriais ativas em células metabolicamente funcionais, resultando na formação de um produto solúvel em meio aquoso, cuja concentração é proporcional ao número de células viáveis. Para isto, foram semeadas 4×10^4 células da linhagem HFF-2 por poço em placas de 96 poços e mantidas em incubadora a 37°C por 24 horas. Após este período, as células foram tratadas de acordo com os grupos experimentais descritos acima e incubadas por 24h, 48h e 72h. Após cada período de incubação, o meio de cultura foi removido, os poços foram lavados com PBS e 10 µL de MTS foi adicionado em 90 µL de DMEM sem FBS por poço. As células foram incubadas no escuro por 2h a 37°C. Após este período, a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro Synergy H1 (BioTek) em comprimento de onda de 490 nm. Os valores obtidos foram utilizados para comparar a viabilidade celular entre os grupos experimentais, sendo expressos como percentual em relação ao grupo controle no período de 24h. Após a análise

da absorbância do ensaio de MTS, a viabilidade celular foi confirmada por meio do ensaio de cristal violeta, técnica baseada na coloração de proteínas e DNA das células por este reagente, sendo proporcional à densidade de células aderidas. Para isto, cada poço da placa de 96 poços foi lavado por 2 vezes com 150 μ L de PBS e, posteriormente, foi adicionado 150 μ L de paraformaldeído a 4% por 20 minutos. Em seguida, os poços foram lavados com 150 μ L de PBS e foi adicionado 50 μ L de cristal violeta 0,5% por 15 minutos. A placa foi então lavada em água corrente 4 vezes e mantida por 24h em temperatura ambiente para secagem. Após este período, foi adicionado 100 μ L de álcool metílico por poço e a placa foi mantida em agitação por 20 minutos em temperatura ambiente no equipamento Red Rocker (Hoefer). A análise da viabilidade celular com cristal violeta foi avaliada por meio de absorbância em comprimento de onda de 570 nm, utilizando-se o equipamento Synergy H1 (BioTek). Os valores obtidos foram utilizados para comparar a viabilidade celular entre os grupos experimentais, sendo expressos como percentual em relação ao grupo controle no período de 24h.

4.5. Análise de expressão gênica

4.5.1. Extração de RNA

O RNA total foi purificado utilizando-se o reagente Trizol (Invitrogen), de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade e a pureza do RNA obtido foram avaliadas por meio do Nanodrop (ThermoFisher, Massachusetts, E.U.A.), utilizando-se como padrão os valores de referência especificados na literatura (concentração de RNA, relação 260/280 e relação 260/230).

4.5.2. Síntese do DNA complementar (cDNA)

Um total de 1 μ g de RNA foi utilizado para a síntese do cDNA. As amostras de RNA total foram tratadas com 1 μ g de DNase I Amplification Grade (Invitrogen) por 15 min à temperatura ambiente para eliminação do DNA genômico contaminante. Posteriormente, foi adicionado 1 μ L de EDTA e as amostras foram incubadas a 65°C no termociclado DNase 15 minutos temperatura ambiente, depois EDTA para inativação da DNase por 10 minutos a 65°C. Posteriormente, a síntese do cDNA foi realizada utilizando-se o kit Revert Aid, de acordo com as

recomendações do fabricante, seguido de incubação no termociclador QuantStudio 1 por 5 min a 25 °C e 60 min a 42 °C. Em seguida, as amostras foram armazenadas a -20°C até o momento de sua utilização.

4.5.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

As reações de qPCR foram realizadas no termociclador QuantStudio 1 utilizando-se o reagente SYBR Green (Applied Biosystems) e *primers* específicos para os genes *COL3A1*, *COL1A1*, *ELASTINA*, *TGF-β* e o gene constitutivo *RPL41*. Para a amplificação específica dos transcritos a partir do cDNA de cada amostra, as reações foram realizadas em volume final de 10uL, sendo 1 µl de cDNA (10ng), 5µl de Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems), primers específicos para cada alvo, de acordo com a concentração descrita na Tabela 2 e água. Em seguida, as amostras foram incubadas no equipamento QuantStudio por 2min a 50°C, 10 min a 95°C e 40 ciclos de 95°C por 15s, 62°C por 30s e 72°C por 40s. A quantificação da expressão gênica foi realizada de acordo com o método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Zhu et al. ,2019).

Tabela 2. Descrição dos genes avaliados por RT-qPCR, de acordo com a sequência de primers e concentração utilizadas

Gene	Primers (5'-3')	Concentração (nM)	Tm(°C)
<i>COL3A1</i>	F: AATCAGGTAGACCCGGACGA R: TTCGTCCATCGAAGCCTCTG	75	62
<i>COL1A1</i>	F: 5' GGCCCTCAAGGTTTCCAAGG 3' R: 5' CACCCTGTGGTCCAACAACCTC 3'	200	62
<i>ELASTINA</i>	F: AGGTATCCCATCAAGGCCCC R: TTTCCCTGTGGTGTAGGGCA	100	62
<i>TGF-β</i>	F: CAGAAATACAGCAACAATTCCTGG R: TTGCAGTGTGTATCCGTGCTGTC	400	62

Fonte: autora, 2026.

4.6. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata ou quadruplicata e um mínimo de três experimentos independentes foram conduzidos. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio do software GraphPad Prism, versão 7.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). A verificação da distribuição dos dados foi realizada utilizando-se o teste de normalidade One Sample t Test. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal, empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos. Nos casos em que os dados apresentaram distribuição normal, foi aplicada a análise de variância (ANOVA) one-way. Adotou-se um nível de significância de $p < 0,05$ para todas as análises.

5. RESULTADOS

5.1. Viabilidade celular por MTS

Após 24 horas (Figura 2), foi observado que a viabilidade celular dos diferentes grupos experimentais foi semelhante ao grupo controle, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos.

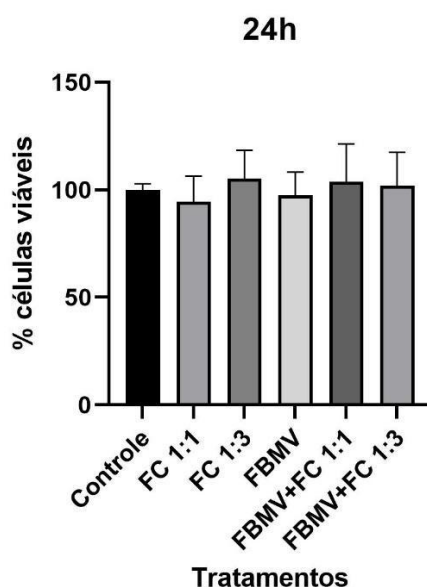


Figura 2. Análise da viabilidade celular por MTS após 24h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBM com LED 660nm. * $p < 0,05$, ** $p < 0.001$

Após 48h foi observada uma diferença significativa apenas ao comparar os grupos FC 1:1 e FC 1:3+FBMV, sendo o último a apresentar maior viabilidade celular, não havendo diferença significativa entre os demais grupo e quando comparados com grupo controle (Figura 3).

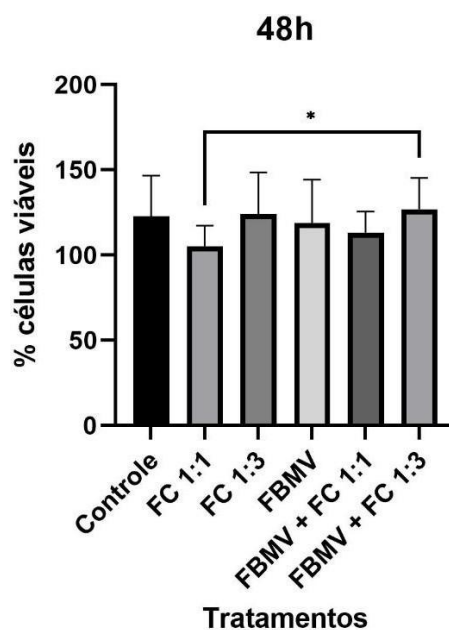


Figura 3. Análise da viabilidade celular por MTS após 48h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBM RLT com LED 660nm. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$.

Em 72h, houve redução estatística significativa da viabilidade celular entre o grupo controle quando comparado com o grupo FC 1:1 ($p < 0,001$) e FBMV + FC 1:1 ($p < 0,05$) (Figura 4), não trazendo benefícios as células. Adicionalmente, foi observado menor viabilidade celular no grupo FBMV + FC 1:1 em relação ao grupo FBMV ($p < 0,001$). Além disso, o grupo FBMV + FC 1:3 apresentou maior viabilidade celular quando comparado com o grupo FBMV + FC 1:1 ($p < 0,05$).

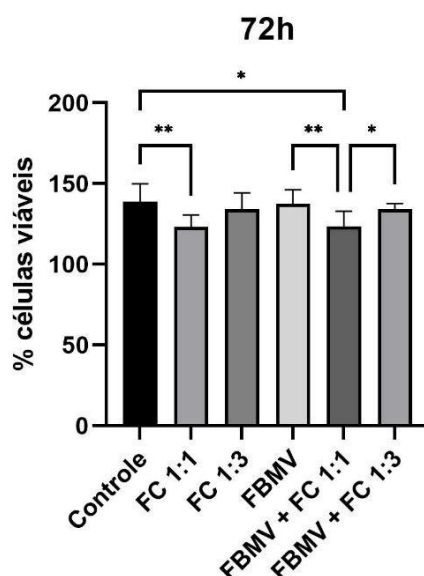


Figura 4. Análise da viabilidade celular por MTS após 72h do tratamento com FC nas proporções 1:1 e 1:3, associados ou não à FBMV com LED 660nm. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$

5.2 Análise de viabilidade celular por cristal violeta

A viabilidade celular também foi avaliada por meio do ensaio de cristal violeta, que quantifica a aderência e o número total de células viáveis após os diferentes tratamentos. Os mesmos procedimentos estatísticos descritos anteriormente foram adotados nesta análise.

Com 24 horas de exposição (Figura 5), os grupos tratados com FC (1:1 e 1:3) apresentaram resultados comparáveis ao grupo controle. Entretanto, o FBMV isolado, e especialmente suas combinações com FC, promoveram redução significativa no número de células viáveis.

Após 48 horas e 72 horas (Figura 6 e 7), os resultados obtidos foram consistentes com os observados no ensaio de MTS. O FBMV, principalmente quando combinado ao FC, promoveu uma redução mais acentuada da viabilidade celular ao longo do tempo. As reduções observadas foram estatisticamente significativas, indicadas por * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$.

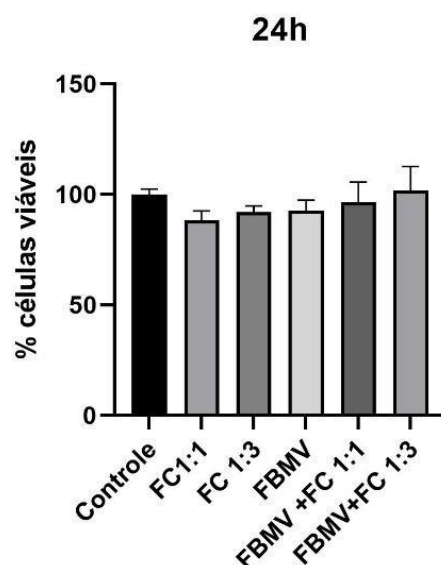


Figura 5. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 24h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p < 0,05$, ** $p < 0.001$ (One-way ANOVA seguido do teste de Kruskal-Wallis).

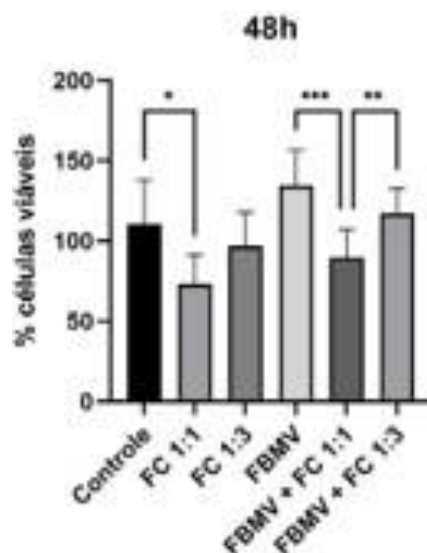


Figura 6. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 48h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo

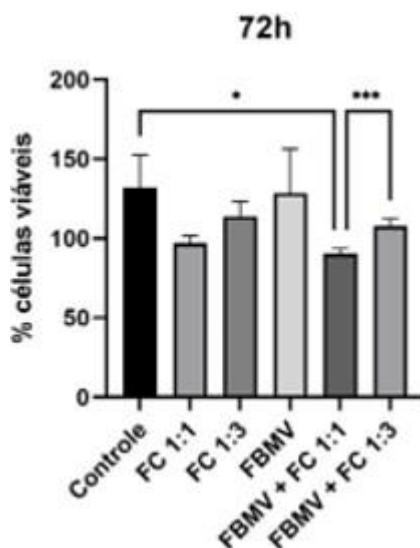


Figura 7. Análise da viabilidade celular por meio do ensaio de cristal violeta na linhagem HFF-2 após 72h do tratamento com FC 1:1, FC 1:3, FBMV, FBMV+FC 1:1, FBMV + FC 1:3. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ (One-way ANOVA seguido do teste de Kruskal-Wallis).

5.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES COL3A1, COL1A1, ELASTINA, TGF β

Como foi observada a redução da viabilidade celular com o parâmetro FC 1:1 no período de 48h e 72h, a análise da expressão gênica foi realizada nos grupos FC 1:3, FBMV e FBMV+FC 1:3.

Na análise da expressão do gene *COL1A1*, houve um aumento significativo em todos os grupos avaliados quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). Interessantemente, houve uma redução dos níveis de mRNA de *COL1A1* no grupo FBMV + FC 1:3 em relação ao grupo FBMV ($p < 0,001$) (Figura 8).

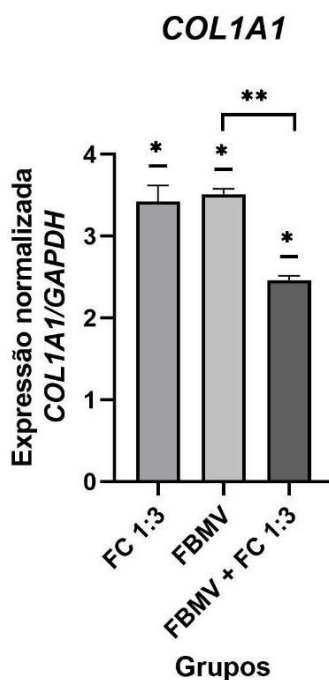


Figura 8. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de COL1A1 nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle. One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos. ** $p < 0,001$; * $p < 0,05$ e entra o grupo controle.

Todos os tratamentos aumentaram a expressão de COL1A1 em relação ao Controle ($p < 0,05$), sendo que a combinação FBMV + FC 1:3 apresentou níveis significativamente menores que o FBMV isolado (** $p < 0,001$). A diferença entre os grupos foi determinada por meio dos testes estatísticos One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos, * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Em relação ao COL3A, todos os tratamentos também levaram a um aumento significativo em comparação ao controle ($p < 0,05$), sem diferenças estatísticas relevantes entre os grupos FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, como evidenciado pela ausência de marcações de significância entre eles. (Figura 9).

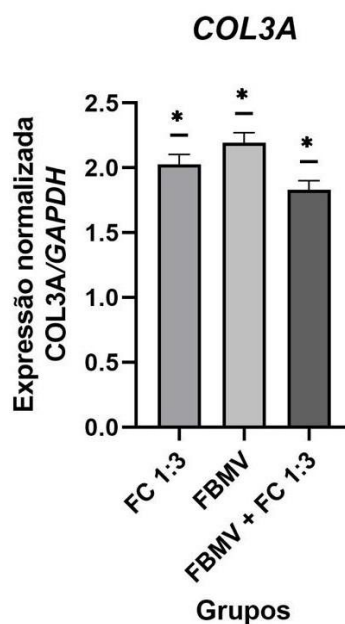


Figura 9. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de COL3A nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle. One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos.

Todos os tratamentos aumentaram todos os grupos tratados apresentaram aumento significativo em relação ao Controle ($p < 0,05$), sem diferenças entre os protocolos. A diferença entre os grupos foi determinada por meio dos testes estatísticos One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos, * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Na análise da *Elastina*, verificou-se apenas uma tendência de aumento com o FBMV e com a combinação, sendo que somente o grupo FC 1:3 apresentou incremento significativo em relação ao controle ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre os três grupos tratados (Figura 10).

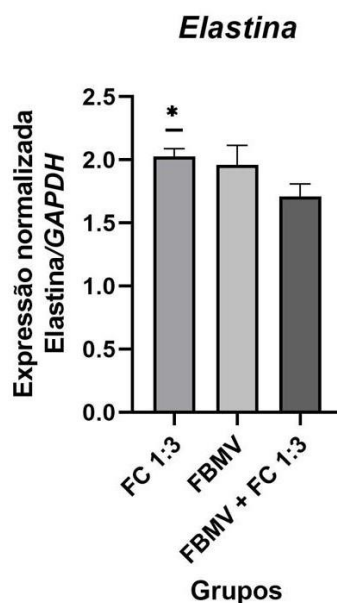


Figura 10. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de Elastina nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle. One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos. ** $p < 0,001$; ** $p < 0,001$.

Observou-se aumento significativo apenas no grupo FC 1:3 em relação ao Controle ($p < 0,05$), enquanto os demais grupos não apresentaram diferenças relevantes. A diferença entre os grupos foi determinada por meio dos testes estatísticos One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos, * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Todos os tratamentos elevaram a expressão de TGF β 1 em relação ao controle ($p < 0,05$), sem diferenças estatísticas entre os grupos ativo (Figura 11).

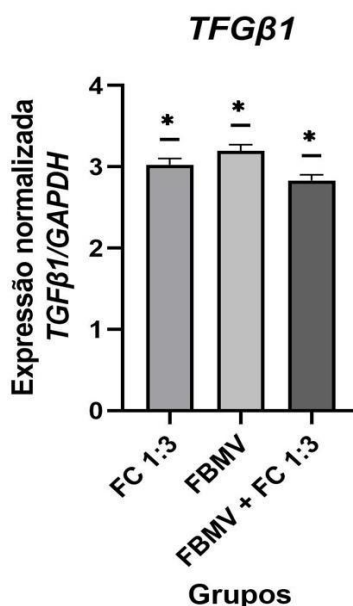


Figura 11. Análise da expressão gênica por PCR em tempo real (qPCR) de TGFβ1 nos grupos tratados com FC 1:3, FBMV e FBMV + FC 1:3, em comparação ao grupo Controle. One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos. *p<0,05; **p<0,001.

Todos os grupos tratados apresentaram aumento significativo em relação ao Controle (p<0,05), sem diferenças estatísticas entre os protocolos avaliados. A diferença entre os grupos foi determinada por meio dos testes estatísticos One Sample t Test, utilizado para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle, e One Way ANOVA, empregado para a comparação múltipla entre os grupos, *p<0,05; **p<0,001.

Os genes *COL1A1*, *COL3A1* e *TGFβ1* apresentaram aumento significativo de expressão em todos os grupos tratados em comparação ao controle. Para *elastina*, apenas o grupo tratado com FC 1:3 mostrou elevação significativa, enquanto os demais apresentaram apenas tendência de aumento sem alcançar significância estatística. A associação FBMV + FC 1:3 não potencializou os efeitos observados; pelo contrário, no caso de *COL1A1*, a expressão foi menor do que no tratamento com FBMV isolado.

6. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou o efeito da FBM com luz vermelha de 660 nm, isolada e associada aos fatores de crescimento TGF- β 3, IDP2 e IGF em fibroblastos dérmicos humanos. Ressalta-se que, embora os fatores de crescimento e a FBM sejam amplamente estudados isoladamente no reparo tecidual e estética, o efeito da combinação específica destes fatores e a FBM com 660 nm em fibroblastos permanece pouco conhecido na literatura.

Considerando *COL1A1*, *COL3A* e *TGF β 1*, qualquer tratamento testado modulou positivamente a expressão gênica (vs. controle). Para *elastina*, o aumento significativo ocorreu apenas com FC 1:3; nos demais houve tendência positiva sem significância. A combinação não aumentou o efeito de nenhum alvo; em *COL1A1*, foi inclusive inferior ao FBMV isolado.

O uso da FBM vermelha e de FC tem sido descrito na literatura como estratégia para estimular os fibroblastos dérmicos, promovendo aumento da viabilidade celular, síntese de colágeno e elastina e reguladores relacionados a angiogênese e à resposta inflamatória, além da modulação de mediadores envolvidos na cicatrização, remodelamento da matriz extracelular e rejuvenescimento cutâneo. Enquanto a FBMV atua principalmente por ativação mitocondrial e da modulação de vias de sinalização intracelulares, os FCs exercem efeitos diretos sobre a proliferação, diferenciação e metabolismo dos fibroblastos. Entretanto, apesar do potencial promissor de ambas as abordagens, ainda existe uma lacuna importante no conhecimento sobre os efeitos combinados da FBMV e dos FCs (Simonassi-Paiva et al., 2024).

No ensaio de viabilidade celular por MTS, os fibroblastos tratados com FC 1:1 mostraram redução da viabilidade celular no período de 72h em relação ao grupo controle e ainda, no grupo FBMV + FC 1:1 quando comparado ao grupo FBMV. Entretanto, na avaliação por Cristal Violeta no período de 48h, o grupo FC 1:1 apresentou viabilidade celular reduzida em relação ao grupo controle bem como o grupo FBMV + FC 1:1 em relação ao grupo FBMV. No período de 72h, somente o grupo FBMV + FC 1:1 mostrou redução da viabilidade celular quando comparado com o grupo controle. Vale ressaltar que após 24h, não houve alteração da viabilidade celular, independentemente do tratamento. Para a análise da expressão dos genes *COL3A1*, *COL1A1*, *Elastina*, *TGF β* , *RPL41* por

RT-qPCR foi observada que os genes *COL1A1*, *COL3A1* e *TGFβ1* tiveram expressão aumentada em todos os tratamentos. A *elastina* só apresentou aumento significativo com FC 1:3, enquanto os demais mostraram apenas tendência positiva. A combinação FBMV + FC 1:3 não potencializou os efeitos e, para *COL1A1*, reduziu a expressão em relação ao FBMV isolado.

Esses achados vão de acordo com alguns estudos prévios que demonstram a resposta bifásica da fotobiomodulação em que diferentes doses de energia podem estimular ou inibir a viabilidade celular. Em fibroblastos humanos, doses de 660 nm (5 J/cm²) resultaram em uma maior proliferação e diferenciação em miofibroblastos, enquanto doses muito baixas ou elevadas não apresentaram o mesmo efeito benéfico (Mokoena et al., 2020; Simonassi-Paiva et al., 2024). De forma semelhante, Herrera et al. (2019) relataram que a resposta celular segue um padrão dose-dependente, com efeitos positivos em faixas específicas de energia e perda de efeito ou inibição fora dessa janela terapêutica. O número de irradiação e o intervalo entre elas também é destacado como um fator determinante. De acordo com Paiva et al. (2024), observou-se que três sessões de laser consecutivas (7,5 J totais) aumentaram a viabilidade de fibroblastos e síntese de colágeno tipo I e III, sem nenhum prejuízo celular. Em contraste, doses únicas elevadas podem induzir o stress celular, justificando parcialmente os resultados de redução de viabilidade observados na associação FBMV + FC 1:1 no presente estudo. Além disso, condições adversas, como hipoxia, inflamação ou stress oxidativo, modulam a resposta celular à FBM. Ayuk et al. (2018) e Karimi et al. (2024) demonstraram que os fibroblastos sobre condições de estresse respondem melhor a doses moderadas e repetidas do que doses únicas, sugerindo que a combinação de estímulos como (FBMV+ Fcs) pode gerar efeitos distintos, inclusive redução da viabilidade, como observado em nossos resultados. Lee et al. (2024) observaram aumento da expressão de *COL1A1*, *MMP1* e *MMP3* em fibroblastos humanos após exposição a 6 J/cm² de 628 nm, evidenciando que a dose empregada pode determinar tanto estimulação da matriz quanto remodelação enzimática.

No presente estudo, optou-se por utilizar as concentrações de FCs estabelecidas diretamente pelo fabricante a fim de aproximar os resultados experimentais à máxima da realidade clínica. Essa estratégia metodológica reflete a formulação e forma de uso que são efetivamente aplicadas na prática

profissional garantindo maior relevância dos achados. Observamos que tais concentrações foram suficientes para estimular a expressão de genes relacionados a matriz extracelular (*COL1A1*, *COL3A1*, *TGF- β 1*), *embora* em alguns cenários tenham sido associados à redução de viabilidade celular, como evidenciado em nossos ensaios de MTS e Cristal violeta. Na literatura, os FCs são descritos em determinadas concentrações que podem ser suficientes para estimularem a síntese de componentes da matriz extracelular, como colágeno e elastina, sem necessariamente promover aumento da viabilidade celular, sendo inclusive associada a sua redução como observados em nossos resultados.

É importante ressaltar que os produtos a base de FCs são usualmente empregados em associação com técnicas que induzem microlesão tecidual controlada como o microagulhamento ou lasers fracionados, contexto com que a resposta inflamatória local pode modificar os efeitos sobre os fibroblastos. Merati et al. (2020) demonstraram melhora significativa na textura cutânea quando fatores de crescimento foram aplicados após o microagulhamento, em comparação ao procedimento isolado. De forma muito semelhante, um estudo retrospectivo mostrou melhora dos sinais do fotoenvelhecimento com o uso tópico de FCs após *microneedling* (Merati et al., 2020). Resultados consistentes também foram observados em protocolos combinados de FCs com laser de CO₂ fracionado, nos quais houve maior remodelação tecidual e menor tempo de recuperação em cicatrizes de acne (Yuan et al., 2023). Por outro lado, quando utilizados de forma isolada, os FCs podem apresentar efeito neutro ou mesmo inibitório sobre a viabilidade celular, como evidenciado tanto em nosso estudo quanto em outros modelos experimentais (Mahmoudian et al., 2024).

A resposta dos fibroblastos a FBM é fortemente dependente da dosimetria completa, ou seja, não só do comprimento de onda, mas da combinação fluência (J/cm²), irradiância (mW/cm²), potência de saída (mW), área irradiada (cm²), tempo de exposição (s), e número de aplicações e intervalos entre elas. Estudos de base indicam um comportamento bifásico (curva Arndt–Schulz) em que faixas energéticas ótimas promovem estímulo de proliferação e síntese de matriz, enquanto doses insuficientes ou excessivas podem ser ineficazes ou até inibitórias (Herrera et al., 2021). Alguns protocolos e parâmetros relatados na literatura permitem comparação direta com o protocolo aplicado neste trabalho e ajudam a interpretar as divergências observadas:

Estudos prévios demonstraram que a FBM em fibroblastos gengivais usando 635 nm e 808 nm com potência reportada de 100 mW e densidade de energia de 4 J/cm², aplicadas em quatro sessões em esquema clínico. Esses autores descreveram aumento da viabilidade, redução do estresse oxidativo e modulação de marcadores de apoptose (P53, CASP9, BAX) e de mesenquimalidade (CD90, CD105), sugerindo efeito protetor sob as condições e sequência adotadas (Kocherova et al., 2021).

Ayuk et al. (2018), utilizaram 660 nm com fluência de 5 J/cm², um parâmetro frequentemente referido na literatura como pró-regenerativo reportaram efeitos positivos sobre a expressão de matriz (aumento de COL1A1 e TIMP-1 e redução de MMPs) em fibroblastos em modelos “*wounded*”, diabético ou hipóxico. Em alguns relatos, a irradiância associada a 5 J/cm² foi aproximadamente 1 mW/cm², o que corresponde a tempo de exposição na ordem de 7-8 minutos para entregar 5 J/cm², dependendo da área irradiada e da potência do emissor (Ayuk et al., 2018).

Mokoena et al. (2020) utilizaram 660 nm, 5 J/cm² e observaram estímulo em relação à diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, além de aumento de marcadores de reparo; novamente, a viabilidade não foi prejudicada nessas condições de estudo. Esses estudos convergem para que 660 nm a 5 J/cm², com irradiâncias moderadas, sejam frequentemente protetores/estimuladores.

Paiva et al. (2024) reportaram um protocolo *in vitro* com três sessões (cada sessão 2,5 J/cm², totalizando 7,5 J/cm² após 72 h), aplicadas com intervalo de 24 h, que resultou em aumento de proliferação e produção de colágeno tipos I e III, sem efeito deletério na viabilidade. Esse dado indica que exposições repetidas de baixa/moderada energia pode ser benéficas quando corretamente espaçadas.

Em contraste, estudos que empregaram fluências muito elevadas registraram efeitos deletérios. Por exemplo, análises transcriptômicas e experimentais com faixas energéticas extraordinariamente altas mostraram aumento de espécies reativas e redução na contagem celular (Austin et al., 2021), experimentos com fluências em ordens muito superiores às usadas clinicamente, evidenciando que excesso de energia promove estresse oxidativo e perda de viabilidade.

O *COL1A1* é responsável pela síntese de colágeno tipo I, principal proteína fibrilar da pele, conferindo resistência e firmeza ao tecido cutâneo. Sua diminuição está associada ao processo de envelhecimento e a perda de integridade estrutural da matriz extracelular. No presente estudo observou-se o aumento significativo da expressão de *COL1A1* em todos os grupos tratados, sugerindo que tanto a FBM quanto os FCs estimulam vias anabólicas relacionadas a remodelação da MEC. Este resultado é consistente com estudos prévios que demonstraram que FBM em comprimentos de onda vermelho e infravermelho promove aumento da expressão de colágeno em fibroblastos humanos (Kocherova et al., 2021; Ayuk et al., 2018).

O *COL3A1* codifica o colágeno tipo III, componente fibrilar essencial para a flexibilidade e elasticidade da pele. Assim como o *COL1A*, apresentou aumento significativo de expressão em todos os tratamentos avaliados, corroborando a de FBM e FC em modular positivamente a produção de colágeno e contribuir para a manutenção estrutural da pele. Esse efeito reforça a ideia de que tais intervenções podem atenuar alterações degenerativas da MEC observadas no envelhecimento cutâneo (Ayuk et al., 2018).

A *elastina* é a principal proteína responsável pela elasticidade e resiliência da pele, permitindo que o tecido retorne a sua forma após deformações mecânicas. No estudo apenas o grupo tratado com FC 1:3 apresentou aumento significativo da expressão de elastina, enquanto dos demais grupos demonstraram apenas tendência positiva. Estes achados indicam que a concentração de FC é determinante para estimular a elastogênese, em concordância com estudos que relacionam fatores de crescimento à melhora da elasticidade cutânea em protocolos combinados com microlesões induzidas por laser ou microagulhamento (Merati et al., 2020; Yuan et al., 2023).

O *TGFβ1* atua como mediador fundamental da regeneração cutânea, modulando a síntese de colágeno e elastina, além de influenciar a diferenciação fenotípicas de fibroblastos. Observou-se aumento significativo da expressão de *TGFβ1* em todos os grupos tratados, indicando que tanto a FBM quanto os FC podem ativar vias regenerativas da MEC. Esse efeito é consistente com a literatura, que evidencia o papel do *TGFβ1* na promoção de reparo tecidual e remodelação cutânea (Merati et al., 2020).

Nosso protocolo (660 nm; 1,5 J/cm²) insere-se na janela óptica cutânea (600–1300 nm), mas os efeitos de viabilidade observados com FBMV/FBMV+FC sugerem que contexto celular e combinação com bioativos podem alterar o sentido da resposta. Em fibroblastos, há registros de efeitos pró-proliferativos e bioestimulantes da luz vermelha (600–900 nm), com aumento de COL1A1, redução de MMPs e elevação de TIMP1 em certas condições (660 nm, 5 J/cm²) (Ayuki et al., 2017). Outros trabalhos encontraram resultados divergentes (aumento do *MMP1/3* e aumento *COL1A1* com 628 nm, 6 J/cm²), reforçando que parâmetros e contexto modulam a direção do efeito. (Karrer et al, 2003). Assim, o aumento de COL1A1/COL3A1 aqui observado com FBM alinha-se à parte da literatura, enquanto a ausência de aumento significativo de elastina com FBM e a queda de viabilidade nas combinações destacam a dependência de dose, tempo e associação com ativos.

Em relação a viabilidade celular, o tratamento combinado de FBMV+ FCs 1:1 não promoveu aumento de viabilidade, apresentando efeito redutor em 48h e 72h em comparação a FBM isolada. Esse resultado indica que, sob as condições testadas, a associação da FBMV com os FCs não confere benefícios e pode comprometer a capacidade regenerativa dos fibroblastos. Diferentemente de observações clínicas, nas que os FCs aplicados após microlesões (como microagulhamento ou laser fracionado), potencializam a remodelação da MEC (Merati et al., 2020; Yuan et al., 2023), em modelos *in vitro*, a ausência de inflamação e microlesões parece reduzir a responsividade aos FCs. Além disso, diferenças em irradiância, sequência de aplicação, número de sessões e intervalos entre tratamentos podem justificar os resultados divergentes encontrados na literatura, mesmo com fluência total semelhante (ex.: 5 J/cm² a 660 nm).

Dessa forma, os achados do presente estudo demonstraram que ambos os tratamentos com a FBM, seja ela de forma isolada ou combinada é capaz de aumentar significamente a expressão dos genes *COL1A1* e *COL3A1*, reforçando seu papel na promoção da síntese de colágeno e manutenção da integridade estrutural da pele. No entanto, a análise dos resultados referentes a *elastina* e a viabilidade celular evidencia que esses efeitos são altamente dependentes dos parâmetros utilizados como irradiância, fluência, número de sessões, intervalo entre aplicações e combinações terapêuticas com fatores de crescimento (FC).

Observou-se que embora a FBMV isolada estimule a expressão de colágeno, a associação da FBM+ FCs 1:1 não aumentou a viabilidade celular, chegando até a reduzi-la em determinados períodos, o que sugere que a combinação de terapias nem sempre produz efeito sinérgico e pode, sob certas condições, comprometer a função celular. Portanto, considerando os dados experimentais, e a literatura existente não justifica a utilização das terapias combinadas FBMV+ FCs como estratégia para tratamento do envelhecimento, sendo necessário avaliar criteriosamente os parâmetros de cada intervenção para garantir efeitos regenerativos seguros e eficazes.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas. O modelo experimental foi restrito a fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2) cultivados *in vitro*, condição que, embora permita controle rigoroso das variáveis, não reproduz integralmente o microambiente cutâneo *in vivo*, onde fatores como inflamação, vascularização e interação celular influenciam a resposta regenerativa. A análise de expressão gênica foi realizada no período de 48 horas, escolhido estrategicamente por representar um ponto relevante para a detecção de alterações moleculares, não configurando, portanto, uma limitação metodológica. Em relação aos fatores de crescimento (FC), testou-se apenas a proporção 1:3, selecionada porque não apresentou impacto negativo sobre a viabilidade celular em nenhum dos períodos avaliados. Ainda assim, reconhece-se que, na prática clínica, o FC costuma ser aplicado em associação com outras terapias, como microagulhamento e laser fracionado, condições que não podem ser reproduzidas no presente modelo *in vitro*.

Outra limitação importante refere-se aos parâmetros fixos de fotobiomodulação (660 nm; 1,5 J/cm²), sem variação de dose, irradiância ou modo de emissão. A literatura demonstra que a resposta celular à FBM pode variar significativamente em função desses parâmetros, de modo que estudos futuros devem incluir curvas dose-resposta, diferentes potências e tempos de exposição, além de investigar possíveis efeitos da sequência e da combinação com FC.

Esses achados reforçam a capacidade da luz vermelha em modular a síntese de colágeno por fibroblastos, mas também evidenciam que o direcionamento da resposta celular, bioestimulação ou inibição, depende fortemente dos parâmetros adotados e do contexto experimental. Nesse sentido, torna-se essencial otimizar protocolos experimentais e clínicos, validando os resultados em modelos tridimensionais, equivalentes teciduais e ensaios *in vivo*, antes de recomendar a associação entre FBMV e FC em procedimentos estéticos.

8. CONCLUSÃO

Os achados demonstram que tanto a FBMV (660 nm) quanto os FCs são capazes de modular a viabilidade celular e a expressão de genes relacionados à matriz extracelular, mas os efeitos observados dependem fortemente da proporção dos fatores e da associação entre as terapias.

Embora *COL1A1*, *COL3A1* e *TGFβ1* tenham sido estimulados em todos os tratamentos, a síntese de *elastina* foi limitada, com resposta significativa apenas para o grupo FC 1:3.

A combinação FBMV + FCs, em especial na proporção 1:3, não potencializou os efeitos benéficos da FBMV isolada o contrário, reduziu a expressão de *COL1A1*, indicando possível interação desfavorável.

Dessa forma, os resultados não justificam a utilização das terapias combinadas para o tratamento do envelhecimento, reforçando que os parâmetros de fotobiomodulação e a escolha da proporção de fatores de crescimento devem ser criteriosamente definidos para evitar respostas indesejadas.

REFERÊNCIAS

- Abe, Y. et al. (2019). Red light-promoted skin barrier recovery: Spatiotemporal evaluation by transepidermal potential. *Plos one*, 14(7), e0219198.
- Abdallah, F., Mijouin, L., & Pichon, C. (2017). Skin immune landscape: inside and outside the organism. *Mediators of inflammation*, 2017(1), 5095293.
- Abraham NG, Kappas A. Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase. *Pharmacol Rev.* 2008;60(1):79-127.
- Agrawal, R., Hu, A., & Bollag, W. B. (2023). The skin and inflamm-aging. *Biology*, 12(11), 1396.
- Ayuk, S. M., Abrahamse, H., & Houreld, N. N. (2018). Photobiomodulation alters matrix protein activity in stressed fibroblast cells *in vitro*. *Journal of biophotonics*, 11(3), e201700127.
- Baldassarro, V. A. et al. (2023). Nerve growth factor promotes differentiation and protects the oligodendrocyte precursor cells from *in vitro* hypoxia/ischemia. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1111170.
- Barrientos, S. et al. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*, 16(5), 585-601.
- Bastos, E. L., Quina, F. H., & Baptista, M. S. (2023). Endogenous photosensitizers in human skin. *Chemical Reviews*, 123(16), 9720-9785.
- Baxter, R. C. (2024). Endocrine and cellular physiology and pathology of the insulin-like growth factor acid-labile subunit. *Nature Reviews Endocrinology*, 20(7), 414-425.
- Bensadoun, R. J. (2018). Photobiomodulation or low-level laser therapy in the management of cancer therapy-induced mucositis, dermatitis and lymphedema. *Current opinion in oncology*, 30(4), 226-232.
- Busanello-Costa, M. et al. (2020). Benefícios do Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) associado a terapia de fotobiomodulação a LED no reparo tecidual de feridas cutâneas. *Research, Society and Development*, 9(10), e9909109369-e9909109369.
- Catão, M. et al. (2013). Avaliação da eficácia do laser de baixa intensidade no tratamento das disfunções têmporo-mandibular: estudo clínico randomizado. *Revista CEFAC*, 15, 1601-1608.
- Chen Q. et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death Differ.* 2016;23(7):1128-39.

Chernoff, G. (2023). Combining topical dermal infused exosomes with injected calcium hydroxylapatite for enhanced tissue biostimulation. *Journal of cosmetic dermatology*, 22, 15-27.

Choi S. H. et al. (2019). Light-emitting diode irradiation using 660 nm promotes human fibroblast HSP90 expression and changes cellular activity and morphology. *Journal of Biophotonics*, 12(9), e201900063.

Cosgrove, M. C. et al. (2007). Dietary nutrient intakes and skin-aging appearance among middle-aged American women. *The American journal of clinical nutrition*, 86(4), 1225-1231.

Costa Amaral, I. C et al. (2020). Revisão Do Uso De Fatores De Crescimento E Suas Evidências Clínicas Em Procedimentos Estéticos Antienvelhecimento. *Brazilian Journal Of Surgery & Clinical Research*, 31(2).

Couturaud, V. et al. Reverse skin aging signs by red light photobiomodulation. *Skin Research and Technology*, 29(7), e13391.

de Assis, L. V. M. et al. (2021). How does the skin sense sun light? An integrative view of light sensing molecules. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 47, 100403.

de Magalhães, J. P., & Passos, J. F. (2018). Stress, cell senescence and organismal ageing. *Mechanisms of ageing and development*, 170, 2-9.

Dieamant, G. et al. (2012). Avaliação *in vitro* do perfil de segurança de cosmeceúticos contendo fatores de crescimento e seus análogos. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, 4(3), 229-236.

Disphanurat, W., Kaewkes, A., & Suthiwartnarueput, W. (2020). Comparison between topical recombinant human epidermal growth factor and Aloe vera gel in combination with ablative fractional carbon dioxide laser as treatment for striae alba: a randomized double-blind trial. *Lasers in surgery and medicine*, 52(2), 166-175.

Driskell R. R. et al. Distinct fibroblast lineages determine dermal architecture in skin development and repair. *Nature*. 2013;504(7479):277-81.

Farage, M. A. et al. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International journal of cosmetic science*, 30(2), 87-95.

Felician, M. C. P. et al. (2023). Photobiomodulation: Cellular, molecular, and clinical aspects. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 17, 100197.

Feng, C. et al. (2024). Matrix metalloproteinases on skin photoaging. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 23(12), 3847-3862.

Fernandez, A. M. et al. (2017). Insulin regulates astrocytic glucose handling through cooperation with IGF-I. *Diabetes*, 66(1), 64-74.

Fitzpatrick, R. E. et al. (2003). Reversal of photodamage with topical growth factors: a pilot study. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 5(1), 25-34.

Flores Luna, G. L. et al. (2020). Biphasic dose/response of photobiomodulation therapy on culture of human fibroblasts. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery*, 38(7), 413-418.

Gan, Q. F. et al. (2021). Understanding the Role of IGF-1 in Regenerative Medicine for Skin Regeneration, the Future of Wound Healing: A Systematic Review. *Rigeo*, 11(7).

George, S., Hamblin, M. R., & Abrahamse, H. (2018). Effect of red light and near infrared laser on the generation of reactive oxygen species in primary dermal fibroblasts. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 188, 60-68.

Gomes, D. L. A. et al. (2021). os efeitos no microagulhamento em envelhecimento cutâneo facial. *Scientia Generalis*, 2(Supl. 1), 81-81.

Guida, J. L. et al. (2024). Associations of seven measures of biological age acceleration with frailty and all-cause mortality among adult survivors of childhood cancer in the St. Jude Lifetime Cohort. *Nature cancer*, 5(5), 731-741.

Guo, H. et al. (2021). TGF- β 1-induced EMT activation via both Smad-dependent and MAPK signaling pathways in Cu-induced pulmonary fibrosis. *Toxicology and applied pharmacology*, 418, 115500.

Hensley, K. et al. (2002). Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: a look back, a look ahead. *Archives of biochemistry and biophysics*, 397(2), 377-383.

Hernandez, D. M. et al. (2020). IPF pathogenesis is dependent upon TGF β induction of IGF-1. *The FASEB Journal*, 34(4), 5363-5388.

Herrera, M.V. R. et al. (2021). Hypoxia as a stimulus for the maturation of meniscal cells: highway to novel tissue engineering strategies? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6905.

Hou, C. et al. (2015). Collagenase IV plays an important role in regulating hair cycle by inducing VEGF, IGF-1, and TGF- β 1 expression. *Drug design, development and therapy*, 5373-5383.

Júnior, J. C. M., Suguihara, R. T., & Muknicka, D. P. (2023). Bioestimuladores de colágeno na harmonização orofacial. *Research, Society and Development*, 12(7), e19912742716-e19912742716.

Kapoor, K. M. et al. (2021). Treating aging changes of facial anatomical layers with hyaluronic acid fillers. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 1105-1118.

- Karimi, M. R. et al. (2024). Investigating the Effect of Photobiomodulation Therapy with Different Wavelengths of Diode Lasers on the Proliferation and Adhesion of Human Gingival Fibroblast Cells to a Collagen Membrane: An In Vitro Study. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 15, e53.
- Karu, T. I. (2013). Cellular and molecular mechanisms of photobiomodulation (low-power laser therapy). *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 20(2), 143-148.
- Kim, H. S. et al. (2015). Continuous irradiation with a 633-nm light-emitting diode exerts an anti-aging effect on human skin cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(2), 383-390.
- Kim, H. S. et al. (2019). Transcriptomic analysis of human dermal fibroblast cells reveals potential mechanisms underlying the protective effects of visible red light against damage from ultraviolet B light. *Journal of Dermatological Science*, 94(2), 276-283.
- Kim, Y. J. et al. (2017). A protective mechanism of visible red light in normal human dermal fibroblasts: enhancement of GADD45A-mediated DNA repair activity. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(2), 466-474.
- Kocherova, I. et al. (2021). Photobiomodulation with red and near-infrared light improves viability and modulates expression of mesenchymal and apoptotic-related markers in human gingival fibroblasts. *Materials*, 14(12), 3427.
- Krutmann, J. et al. (2021). Environmentally-induced (extrinsic) skin aging: Exposomal factors and underlying mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 141(4), 1096-1103.
- Langton, A. K. et al. (2019). Ageing significantly impacts the biomechanical function and structural composition of skin. *Experimental Dermatology*, 28(8), 981-984.
- Lee, Y. I. et al. (2024). Exploring the safety and efficacy of organic light-emitting diode in skin rejuvenation and wound healing. *Yonsei medical journal*, 65(2), 98.
- Lee, S. Y. et al. (2007). A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blinded, and split-face clinical study on LED phototherapy for skin rejuvenation: clinical, profilometric, histologic, ultrastructural, and biochemical evaluations and comparison of three different treatment settings. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology*, 88(1), 51-67.
- Lee, Y. I. et al. (2024). Exploring the safety and efficacy of organic light-emitting diode in skin rejuvenation and wound healing. *Yonsei medical journal*, 65(2), 98.
- Lichtman, M. K., Otero-Vinas, M., & Falanga, V. (2016). Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound repair and regeneration*, 24(2), 215-222.

- Luo, Z. et al. (2015). Mechano growth factor (MGF) and transforming growth factor (TGF)- β 3 functionalized silk scaffolds enhance articular hyaline cartilage regeneration in rabbit model. *Biomaterials*, 52, 463-475.
- Maghfour, J. et al. (2024). Photobiomodulation CME part I: Overview and mechanism of action. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 91(5), 793-802.
- Mahmoudian, A. et al. (2024). Effect of fibroblast growth factor 2 and low-level laser therapy on the adhesion and proliferation of periodontal ligament stem cells. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 15, e17.
- Mamalis, A., Siegel, D., & Jagdeo, J. (2016). Visible red light emitting diode photobiomodulation for skin fibrosis: key molecular pathways. *Current dermatology reports*, 5(2), 121-128.
- Meephansan, J. et al. (2018). Efficacy of 1,550-nm erbium-glass fractional laser treatment and its effect on the expression of insulin-like growth factor 1 and Wnt/ β -catenin in androgenetic alopecia. *Dermatologic Surgery*, 44(10), 1295-1303.
- Merati, M. et al. (2020). An assessment of microneedling with topical growth factors for facial skin rejuvenation: a randomized controlled trial. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 13(11), 22.
- Mesa-Arango, A. C., Flórez-Muñoz, S. V., & Sanclemente, G. (2017). Mechanisms of skin aging. *Iatreia*, 30(2), 160-170.
- Mokoena, D. R. et al. (2020). Photobiomodulation at 660 nm stimulates fibroblast differentiation. *Lasers in surgery and medicine*, 52(7), 671-680.
- Nurwidya, F. et al. (2016). Implications of insulin-like growth factor 1 receptor activation in lung cancer. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*, 23(3), 9.
- Pai, V. V., Bhandari, P., & Shukla, P. (2017). Topical peptides as cosmeceuticals. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 83, 9.
- Palmieri, F. L. et al. (2016). Laser ablation surface preparation for adhesive bonding of carbon fiber reinforced epoxy composites. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 68, 95-101.
- Poletini, L. G. R. M., & Teston, A. P. M. (2021). Utilização de creme contendo nanofatores na cicatrização de feridas em equino: relato de caso Use of cream containing nanofactors in the healing of equine wounds: case report. *Brazilian Journal of Development*, 7(10), 101422-101429.

Quan, T., & Fisher, G. J. (2015). Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini-review. *Gerontology*, 61(5), 427-434.

Queiroz, Talita. *Arquitetura da Face*, volume 1. São Paulo: Napoleão, 2019.

Rattan, S. I. (2016). Origins of the Hayflick system, the phenomenon and the limit. In *Cellular ageing and replicative senescence* (pp. 3-14). Cham: Springer International Publishing.

Satriyasa, B. K. (2019). Botulinum toxin (Botox) A for reducing the appearance of facial wrinkles: a literature review of clinical use and pharmacological aspect. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 223-228.

Shen, J. et al. (2017). Combination of a 2940 nm Er: YAG laser with recombinant bovine basic fibroblast growth factor (rb-bFGF) and light-emitting diode-red light (LED-RL) for the treatment of striae alba: A pilot study. *Journal of cosmetic dermatology*, 17(2), 176-183.

Simões, T. M. S. et al. (2020). Photobiomodulation of red and green lights in the repair process of third-degree skin burns. *Lasers in medical science*, 35(1), 51-61.

Simonassi-Paiva, B. et al. (2024). Identification of eccDNA in Extracellular Vesicles Derived from Human Dermal Fibroblasts Through Nanopore Sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4144.

Sorbellini, E., Rucco, M., & Rinaldi, F. (2018). Photodynamic and photobiological effects of light-emitting diode (LED) therapy in dermatological disease: an update. *Lasers in Medical Science*, 33(7), 1431-

Sundaram H, Voigts B, Beer K, Meland M. Comparison of fillers for midface volumization: clinical evaluation and patient satisfaction. *Dermatol Surg*. 2010;36(Suppl 3):1849-56.

Tang, L. et al. (2023, March). Effects of pulsed red and near-infrared light on neuroblastoma cells—pilot study on frequency and duty cycle. In *Photonics* (Vol. 10, No. 3, p. 315). MDPI.

Teodoro, G. et al. (2020). PHTALOX® antimicrobial action and cytotoxicity: in vitro study. *J Dent Res*, 99(Suppl A).

Tedesco, A. *Harmonização facial, a nova fase da Odontologia*. São Paulo: Napoleão, 2019.

Ulusal, B. G. (2017). Platelet-rich plasma and hyaluronic acid—an efficient biostimulation method for face rejuvenation. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 16(1), 112-119.

- Vachirammon V., Wongpiyabovorn J. & Chanprapaph K. Fractional CO₂ laser resurfacing for the treatment of acne scars in Asians: a prospective study. *J Dermatolog Treat.* 2012;23(4):262-6.
- Vallée, A. & Lecarpentier, Y. (2019). TGF- β in fibrosis by acting as a conductor for contractile properties of myofibroblasts. *Cell & bioscience*, 9(1), 98.
- Von Felbert V, Thiele JJ, Elsner P. The role of lasers in non-invasive skin rejuvenation. *Clin Dermatol.* 2007;25(6):573-81.
- Wang F, Shen X & Li S. Fractional CO₂ laser combined with platelet-rich plasma in treatment of acne scars: clinical and histological evaluation. *Lasers Med Sci.* 2017;32(1):119-25.
- Wang G, Zhao D & Jiang H. Effects of low-level laser therapy on human dermal fibroblasts in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2014;32(6):318-24.
- Wanitphakdeedecha R & Manuskiatti W. Fractional CO₂ laser treatment of atrophic acne scars: a clinical and histological study. *Dermatol Surg.* 2009;35(11):1739-46.
- Weiss RA & McDaniel DH. Skin rejuvenation using nonablative lasers: a review. *J Drugs Dermatol.* 2004;3(6):589-96.
- Whitworth JM, McDaniel DH & Weiss RA. Comparison of nonablative and ablative laser treatments for photodamage. *Dermatol Surg.* 2005;31(7 Pt 2):884-91.
- Wild, C. P. (2012). The exposome: from concept to utility. *International journal of epidemiology*, 41(1), 24-32.
- Wlaschek, M., Maity, P., Makrantonaki, E. & Scharffetter-Kochanek, K. (2021). Connective tissue and fibroblast senescence in skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*, 141(4), 985-992.
- Won, C. H. et al. (2017). The basic mechanism of hair growth stimulation by adipose-derived stem cells and their secretory factors. *Current stem cell research & therapy*, 12(7), 535-543.
- Wójcik, P. et al. (2021). Oxidative stress and lipid mediators modulate immune cell functions in autoimmune diseases. *International journal of molecular sciences*, 22(2), 72
- Wyles, S. P., Tchkonina, T. & Kirkland, J. L. (2022). Targeting cellular senescence for age-related diseases: path to clinical translation. *Plastic and reconstructive surgery*, 150, 20S-26S.
- Xu F, Wang X & Li X. Low-level laser therapy for wound healing: an update. *Photomed Laser Surg.* 2014;32(12):637-46.

Xue, M., Zhao, R., March, L. & Jackson, C. (2022). Dermal fibroblast heterogeneity and its contribution to the skin repair and regeneration. *Advances in Wound Care*, 11(2), 87-107.

Yalcin B., Saglam O. & Erol O. Fractional CO₂ laser treatment of striae distensae: a clinical and histological study. *J Cosmet Dermatol*. 2014;13(2):91-6.

Yang X.Y., Zhu J.Y. & Li Q. Effects of fractional CO₂ laser on skin rejuvenation: a histological study. *Lasers Med Sci*. 2012;27(1):99-105.

Yoon H.H., Choi J.W. & Kim Y.J. Non-ablative fractional laser for periorbital wrinkles: a clinical study. *J Cosmet Laser Ther*. 2014;16(6):291-6.

Yuan, C. et al. (2023). Therapeutic Efficacy of Bovine Basic Fibroblast Growth Factor Combined with Ultrapulsed Fractional CO₂ Laser in Acne Scars: Randomized Controlled Trial. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2813-2819.

Yuan, Z. M. et al. (2022). Effects of Platelet Rich Fibrin (PRF) and Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ADMSCs) on Wound Healing: Regulating Macrophage Polarization Mechanism. *latin american journal of pharmacy*, 41(2), 448-454.

Yun J. et al. Fractional CO₂ laser combined with topical growth factors for acne scars: a clinical study. *J Cosmet Dermatol*. 2015;14(1):24-31.

Zasada M & Budzisz E. Fractional CO₂ laser in the treatment of atrophic acne scars: clinical and histopathological evaluation. *J Cosmet Dermatol*. 2013;12(4):281-8.

Zastrow, L. et al. (2009). The missing link—light-induced (280–1,600 nm) free radical formation in human skin. *Skin pharmacology and physiology*, 22(1), 31-44.

Zeng, C. et al. (2019). Clinical/translational aspects of advanced glycation end-products. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 30(12), 959-973.

Zhu, C. et al. (2019). A lab-on-a-chip device integrated DNA extraction and solid phase PCR array for the genotyping of high-risk HPV in clinical samples. *Micromachines*, 10(8), 537.