



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA -
BIOFOTÔNICA

ROBERTA SILVIA CRUZ BUENO

EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO ASSOCIADA AO
POLIDESOXIRRIBONUCLEICO EM FIBROBLASTOS DÉRMICOS
HUMANOS

São Paulo, SP

2025



ROBERTA SILVIA CRUZ BUENO

**EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO ASSOCIADA AO
POLIDESOXIRRIBONUCLEICO EM FIBROBLASTOS DÉRMICOS
HUMANOS**

**Dissertação apresentada à
Universidade Nove de Julho, para
obtenção do título de Mestre(a) em
Medicina-Biofotônica.**

Orientadora: Profa. Dra. Maria
Fernanda Setúbal Destro Rodrigues

São Paulo, SP

2025



FICHA CATALOGRÁFICA

Bueno, Roberta Silvia Cruz.

Efeitos da fotobiomodulação associada ao polidesoxirribonucleico em fibroblastos dérmicos humanos. / Roberta Silvia Cruz Bueno. 2025. 57 f.

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

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

1. Envelhecimento cutâneo. 2. Fotobiomodulação. 3. Laser infravermelho. 4. Polidesoxirribonucleotídeo. 5. Laser vermelho.

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

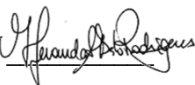
CDU 615.831

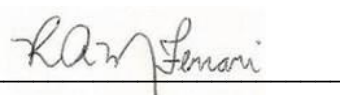
São Paulo, 24 de novembro de 2025.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Roberta Silvia Cruz Bueno

Título da Dissertação: “Efeitos da fotobiomodulação associada ao polidesoxirribonucleico 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. MARIA STELA MOREIRA Maria Stela Moreira

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os profissionais que confiam na ciência e inspiram a busca por tratamentos mais humanos e eficazes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu marido, Ronival Bueno, e ao meu filho, Davi Bueno, que estiveram ao meu lado em cada passo desta jornada, acreditando em mim mesmo quando eu duvidava da minha própria força. Sem o amor, a paciência e o apoio de vocês, este sonho não teria se tornado realidade.

Agradeço também às amigas que este projeto me trouxe, Aline Figueiredo e Erika Vassoler, sem vocês, confesso que teria sido muito mais difícil seguir adiante e, a nossa Professora Doutora Maria Fernanda Setúbal Destro Rodrigues que conduziu brilhantemente esse projeto.

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: 88887.907416 /2023 e 88887.940989 /2024

RESUMO

O envelhecimento da pele é um processo causado por vários fatores, que inclui a redução da atividade dos fibroblastos, a diminuição da produção de colágeno e elastina, o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e a desorganização da matriz extracelular. Essas mudanças levam à perda de firmeza, elasticidade e funcionamento da pele, afetando tanto a aparência quanto a qualidade de vida das pessoas. Por este motivo, é essencial compreender os mecanismos celulares e desenvolver tratamentos que possam melhorar ou reduzir esses efeitos deletérios. Nesse sentido, a fotobiomodulação com luz vermelha (V, 660 nm) e infravermelha (IV, 810 nm) tem se mostrado uma estratégia promissora para a regeneração da pele, pois é capaz de influenciar processos celulares importantes, como proliferação, síntese de matriz extracelular e reparo de danos oxidativos. Paralelamente, o polidesoxirribonucleotídeo (PDRN), um derivado de DNA de baixo peso molecular, apresenta propriedades bioestimuladoras, atuando na ativação de receptores purinérgicos A2A e na indução de fatores de crescimento endógenos, com impacto positivo sobre a cicatrização e a remodelação dérmica. Este estudo avaliou *in vitro*, o efeito da fotobiomodulação com luz vermelha (660 nm) e infravermelha (810 nm) e o polidesoxirribonucleíco, isolados e associados, na viabilidade celular e expressão de genes de componentes da matriz extracelular. As células da linhagem HFF-2 (fibroblastos dérmicos humanos) foram divididas nos seguintes grupos: controle, PDRN 1mg, PDRN 500ug, laser vermelho (V), laser infravermelho (IV) e as combinações V-PDRN1mg, V-PDRN 500ug e IV-PDRN 1mg, e IV-PDRN 500ug. A irradiação foi realizada com LED 660 nm, com energia de 8,16 J e LED 810 nm, com energia de 10,37 J. Os resultados demonstraram que, após 24 h, todos os grupos mantiveram sua viabilidade, sem evidências de citotoxicidade. Em 48 e 72h, observou-se uma diferença estatística, com destaque para a associação IV-PDRN, que apresentou maior viabilidade em comparação aos grupos isolados. Em relação aos componentes de matriz extracelular, verificou-se aumento significativo da expressão de *COL1A1*, *COL3A1*, *TGFβ* e *Elastina* em todos os grupos avaliados quando comparado com o grupo Controle. Em conclusão, os resultados demonstram que tanto o PDRN quanto a irradiação com LED infravermelho promovem efeitos positivos sobre fibroblastos dérmicos humanos, aumentando a viabilidade celular e a síntese de componentes da matriz extracelular. Entretanto, o PDRN isolado apresentou efeito mais consistente e potente quando comparado às associações com LED vermelho ou infravermelho. As combinações não potencializaram os resultados e, em alguns casos, reduziram a resposta celular. Entre as irradiações, nenhuma superou o efeito do PDRN, sendo o LED vermelho menos eficaz para a expressão de *COL3A* e o infravermelho para elastina.

Palavras-chave: envelhecimento cutâneo; fotobiomodulação; laser infravermelho; laser vermelho; polidesoxirribonucleotídeo; fibroblastos dérmicos; bioestimulação

ABSTRACT

Skin aging is a multifactorial process characterized by reduced fibroblast activity, decreased collagen and elastin production, accumulation of reactive oxygen species, and disorganization of the extracellular matrix. These changes lead to loss of skin firmness, elasticity, and function, affecting both appearance and quality of life. Therefore, understanding cellular mechanisms and developing treatments capable of minimizing or reversing these deleterious effects is essential. In this context, photobiomodulation with red (R, 660 nm) and infrared (IR, 810 nm) light has emerged as a promising strategy for skin regeneration, as it can modulate key cellular processes such as proliferation, extracellular matrix synthesis, and repair of oxidative damage. In parallel, polydeoxyribonucleotide (PDRN), a low-molecular weight DNA derivative, exhibits biostimulatory properties by activating purinergic A2A receptors and inducing endogenous growth factors, positively impacting wound healing and dermal remodeling. This in vitro study evaluated the effects of red (660 nm) and infrared (810 nm) photobiomodulation and polydeoxyribonucleotide (PDRN), applied alone or in combination, on cell viability and the expression of genes related to extracellular matrix components. Human dermal fibroblasts (HFF-2 cell line) were divided into the following groups: control, PDRN 1 mg, PDRN 500 µg, red light (R), infrared light (IR), and the combinations R-PDRN 1 mg, R-PDRN 500 µg, IR-PDRN 1 mg, and IR-PDRN 500 µg. Irradiation was performed using a 660 nm LED with an energy of 8.16 J and an 810 nm LED with an energy of 10.37 J. The results demonstrated that after 24 h all groups maintained cell viability, with no evidence of cytotoxicity. At 48 and 72 h, a statistically significant difference was observed, with the IR-PDRN combination showing higher viability compared to the isolated treatment groups. Regarding extracellular matrix components, a significant increase in the expression of COL1A1, COL3A1, TGFβ, and elastin was observed in all treated groups compared with the control group. In conclusion, the findings indicate that both PDRN and infrared LED irradiation exert positive effects on human dermal fibroblasts, enhancing cell viability and the synthesis of extracellular matrix components. However, PDRN alone showed a more consistent and potent effect compared with its combinations with red or infrared light. The combined treatments did not potentiate the effects and, in some cases, reduced the cellular response. Among the light sources, none surpassed the effects of PDRN, with red light being less effective for COL3A expression and infrared light less effective for elastin expression.

Keywords: skin aging; photobiomodulation; infrared laser; red laser; polydeoxyribonucleotide (PDRN); dermal fibroblasts; biostimulation; PDRN

DESTAQUES

Compreensão do envelhecimento cutâneo, associado à redução da atividade dos fibroblastos, perda de colágeno e elastina, e o estresse oxidativo, os quais comprometem firmeza, elasticidade e função da pele, impactando esteticamente e na qualidade de vida.

Potencial da fotobiomodulação com luz infravermelha em modular processos celulares essenciais, incluindo proliferação de fibroblastos, síntese de matriz extracelular e reparo de danos oxidativos, promovendo regeneração tecidual.

Potencial da fotobiomodulação com luz vermelha em estimular a síntese de colágeno, especialmente o tipo III, promovendo regeneração da matriz dérmica e contribuindo para a firmeza e elasticidade da pele.

Propriedades bioestimuladoras do PDRN ativa receptores purinérgicos A2A e estimula a síntese de fatores de crescimento, favorecendo reparo tecidual, remodelação dérmica e aumento da viabilidade celular.

Efeito sinérgico da combinação PDRN + fotobiomodulação mostra que a associação das duas terapias pode potencializar a proliferação de fibroblastos, a deposição de colágeno tipo I e III, melhora a organização da matriz extracelular e reduz o estresse oxidativo.

A aplicação clínica e estética indica que a associação dessas terapias representa uma estratégia inovadora para combater o envelhecimento cutâneo e avançar em tratamentos regenerativos e estéticos baseados em evidências científicas.

HIGHLIGHTS

Understanding skin aging, associated with reduced fibroblast activity, loss of collagen and elastin, and oxidative stress, which compromise skin firmness, elasticity, and function, impacting both aesthetics and quality of life.

Potential of photobiomodulation with infrared light to modulate essential cellular processes, including fibroblast proliferation, extracellular matrix synthesis, and repair of oxidative damage, thereby promoting tissue regeneration.

Potential of photobiomodulation with red light to stimulate collagen synthesis, particularly type III collagen, promoting dermal matrix regeneration and contributing to skin firmness and elasticity.

Bio-stimulating properties of PDRN, which activates purinergic A2A receptors and stimulates the synthesis of growth factors, favoring tissue repair, dermal remodeling, and increased cell viability.

Synergistic effect of the combination PDRN + photobiomodulation, showing that the association of these two therapies can enhance fibroblast proliferation, type I and III collagen deposition, improve extracellular matrix organization, and reduce oxidative stress.

Clinical and aesthetic application indicates that combining these therapies represents an innovative strategy to combat skin aging and advance regenerative and aesthetic treatments based on scientific evidence.

RESUMO PARA LEIGOS

O envelhecimento da pele é um processo natural que causa a perda de firmeza, elasticidade e eficiência na sua função. Esses efeitos não afetam apenas a aparência, mas também podem impactar a qualidade de vida das pessoas. Por isso, é essencial buscar formas de ajudar a pele a manter-se saudável e com aspecto mais jovem. Neste estudo, investigamos duas abordagens que podem estimular a regeneração da pele: o uso da luz infravermelha e vermelha, que promovem a multiplicação das células da pele e a produção de colágeno, e o polidesoxirribonucleotídeo (PDRN), uma substância inovadora que estimula a produção de fatores que auxiliam na cicatrização e no fortalecimento da pele. Foi observado por meio do uso de células da pele que as duas terapias podem aumentar a atividade celular, melhorar a produção de colágeno, e reduzir os danos causados pelo processo de envelhecimento quando aplicadas isoladamente. Não houve benefício da associação da luz com o PDRN em relação à viabilidade celular e expressão de moléculas importantes para o rejuvenescimento da pele. Em resumo, a combinação da luz infravermelha com o PDRN é uma estratégia promissora para o cuidado da pele, ajudando a manter sua firmeza e elasticidade, com potencial para oferecer tratamentos estéticos e regenerativos seguros e eficazes. Nossos estudos mostraram resultados positivos, especialmente ao combinar luz vermelha e infravermelha com o PDRN. No entanto, o PDRN usado sozinho parece ser mais eficaz para estimular a produção de colágeno. O PDRN também teve efeito importante na estimulação de colágeno, elastina e *TGF β 1*, reforçando seu papel como um agente que ajuda na regeneração da pele. Quando combinado com a luz (fotobiomodulação), ele apresentou um efeito sinérgico, ajudando principalmente a manter a saúde das células, embora, em alguns casos, o PDRN sozinho tenha se mostrado mais eficiente em melhorar a estrutura da pele. Esses resultados indicam que essas terapias têm grande potencial para tratamentos de rejuvenescimento e regeneração estética da pele. Ainda assim, é preciso testar esses métodos em estudos com pessoas para confirmar sua eficácia e definir a melhor forma de aplicá-los.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 24h	37
Figura 2.	Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 48h.	38
Figura 3.	Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 72h.	38
Figura 4.	Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 24h.	39
Figura 5.	Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 48h.	40
Figura 6.	Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 72h.	41
Figura 7.	Análise da expressão do gene <i>COL1A1</i> após 48h de tratamento com PDRN e fotobiomodulação (V e IV), isolados e associados	42
Figura 8.	Análise da expressão do gene <i>COL3A1</i> após 48h do tratamento com PDRN e fotobiomodulação (V e IV), isolado e associados.	43
Figura 9.	Análise da expressão do gene <i>Elastina</i> após 48h do tratamento com PDRN e FBM (V e IV), isolado ou associados.	44
Figura 10.	Análise da expressão do gene <i>TGFβ1</i> após 48h do tratamento com PDRN e FBM (V e IV), isolado ou associados.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Parâmetros dosimétricos utilizados para a irradiação das células de linhagem HFF-2	34
Tabela 2.	Descrição dos genes avaliados por RT-qPCR, de acordo com a sequência de <i>primers</i> e concentração utilizadas.	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AGEs** - Advanced Glycation and products
- ATP** - Adenosina Trifosfato
- BCA** - Bicinconínico
- CCK8** - Cell Counting Kit-8
- CML** - Carboximetil lisina
- COL1A1** - Colágeno Tipo I cadeia alfa
- COL3A1** - Colágeno Tipo III cadeia alfa
- DBPS** - Dulbecco's Phosphate Buffered Saline
- DNA** - Ácido desoxirribonucleico
- ELN** - Elastina
- ERK** - Quinase regulada por sinal extracelular.
- EROs** - Espécies reativas de oxigênio
- FBS** - Soro fetal bovino
- FBM** - Fotobiomodulação
- HDF** - Fibroblastos Dérmicos Humanos
- HEK** - Queratinócitos epidérmicos humanos
- LEDs** - Light Emitting Diode
- LLLT** - Low-Level Laser Therapy
- LOXL1** - Lisil Oxidase Semelhante a 1
- MEC** - Matriz extracelular
- MMPs** - Metaloproteinases da Matriz Extracelular
- ml** - Mililitros
- nm** - Nanômetro
- NF- κ B** - Fator nuclear kappa B
- PDRN** - Polidesoxirribonucleotídeo

ROS - Espécie reativa de oxigênio

TGF β 1 - Fator de Crescimento Transformador Beta 1

TIMP1 - Inibidor Tecidual das Metaloproteinases tipo 1

UV - Ultravioleta

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

μ g – Microgramas

SUMÁRIO

1. Introdução	18
1.1 O envelhecimento cutâneo	18
1.2 PDRN na dermatologia e estética	21
1.3 Fotobiomodulação – Luz Infravermelha e Luz Vermelha	24
2. Justificativa	30
3. Objetivos	32
3.1 Objetivos Gerais	32
3.4 Objetivos específicos	32
4. Materiais e métodos	33
4.1 Cultivo celular	33
4.2 Grupos experimentais	33
4.3 Análise da viabilidade celular	34
4.4 Análise de expressão gênica	35
4.4.1 Extração de RNA	35
4.4.2 Síntese do DNA complementar	36
4.4.3 PCR quantitativo em tempo real (qPCR)	36
4.5 Análise estatística	37
5. Resultados	38
5.1 Viabilidade celular por MTS	38
5.1.2 Avaliação de viabilidade celular por cristal violeta	40
5.1.3 Análise da expressão dos genes <i>COL1A1</i> , <i>COL3A</i> , <i>Elastina</i> e <i>TGFβ1</i>	42
6. Discussão	47
7. Limitações do estudo e perspectivas futuras	51
8. Conclusão	52
9. Referências	53

1. INTRODUÇÃO

1.1 O envelhecimento cutâneo

O corpo humano é uma estrutura complexa, constituído de uma infinidade de células responsáveis por desempenhar inúmeras funções necessárias para a manutenção da vida. O conjunto dessas células, moléculas e demais componentes exercem um papel indispensável na formação dos tecidos, órgãos e sistemas (AMABIS, 2016). Dentre os sistemas que constituem o corpo humano, podemos destacar o sistema tegumentar. Composto por pele e seus anexos cutâneos, este sistema desempenha um papel essencial para preservação do equilíbrio interno do corpo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2023).

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano. Sua estrutura anatômica é composta por duas camadas distintas, são elas: epiderme e derme. Cada camada possui estrutura e função específicas que, de forma conjunta, trabalham para proteger, regular e manter a homeostase corporal. (RAVARA *et al.*, 2018). Formada por um epitélio estratificado pavimentoso e queratinizado, a epiderme é a camada mais superficial da pele. As células mais abundantes em sua estrutura são os queratinócitos. Esta camada da pele não possui um sistema próprio de irrigação sanguínea, sendo necessário receber suprimentos diretos da derme. Dentre as principais funções desempenhadas pela epiderme, é possível destacar a função de barreira protetora que evita a entrada de micro-organismos patógenos e agressores capazes de alterar a homeostase do corpo (HARRIS, 2016).

A epiderme é subdivida em cinco estratos o estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinhoso e o estrato germinativo. O estrato córneo, ou camada de célula morta como é popularmente conhecido, é o estrato mais superficial e atua como importante barreira contra radiação, além de auxiliar na retenção de água e evitar a desidratação da pele. Já o estrato germinativo, ou também conhecido como estrato basal, é a subcamada mais profunda da epiderme, formada de células-tronco, é nessa porção que ocorre o processo de renovação e divisão celular responsável por manter a integridade da pele. Porém, a condição de saúde da pele pode ser afetada por um processo natural

e gradual denominado envelhecimento (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2023) (HARRIS, 2016).

O conceito de envelhecimento foi inicialmente descrito por Hayflick e Moorhead, em 1961. Estes pesquisadores demonstraram a capacidade proliferativa limitada de fibroblastos humanos primários. Esse fenômeno é conhecido como limite de Hayflick e resulta da incapacidade dos telômeros de manterem seus comprimentos devido ao processo de replicação celular. Como consequência, as células perdem sua capacidade de divisão e entram em um estado de senescência, caracterizado por uma parada irreversível do ciclo celular (HOHN *et al.*, 2017); (CAMPISI, 2013); (CHILDS *et al.*, 2014).

As células senescentes são definidas por três características principais: a perda da capacidade de proliferação, a resistência à apoptose (morte celular programada) e a secreção de fatores pro-inflamatórios que contribuem para a deterioração tecidual e a inflamação crônica (CAMPISI & FAGAGNA, 2007). O envelhecimento celular está associado ao avanço da idade do indivíduo e pode contribuir para a degradação dos tecidos e órgãos ao longo do tempo (TRIANA *et al.*, 2016).

Assim como os demais órgãos do corpo humano, a pele também está sujeita ao processo de envelhecimento. Com o passar dos anos, a pele passa por uma série de fenômenos biológicos complexos e multifatoriais capazes de gerar alterações estruturais, funcionais e bioquímicas. Estes eventos ocorrem porque a pele humana, em particular, está sujeita a uma variedade de estímulos intrínsecos e extrínsecos que impactam significativamente no metabolismo celular com o avançar da idade (HOHN *et al.*, 2017).

Os fatores intrínsecos, também conhecidos como fatores cronológicos da pele, fazem relação aos eventos fisiológicos, fatores genéticos e alterações hormonais. Outro aspecto importante é o aumento do estresse oxidativo nas células da pele, causado pelo acúmulo de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS). Vale ressaltar que todos os organismos vivos produzem espécies reativas de oxigênio (ROS) como subproduto natural do metabolismo celular. Porém, estes organismos também possuem defesas antioxidantes, como enzimas, proteínas e vitaminas, para neutralizar os efeitos nocivos das ROS.

Contudo, devido ao processo de envelhecimento, pode ocorrer um declínio na capacidade antioxidante do organismo ou um acúmulo excessivo dessas espécies reativas de oxigênio provenientes de uma superprodução ou derivada de uma falha no sistema de defesa antioxidante. Isso leva ao estado de "estresse oxidativo" (ALMEIDA *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo é capaz de causar um desequilíbrio nas atividades celulares. As ROS podem causar danos importantes a nível celular que induzem a redução da taxa de renovação celular, de síntese de colágeno, elastina e ácido hialurônico (FARAGE *et al.*, 2008). Além disso, é possível observar uma redução da vascularização e do conteúdo lipídico no tecido cutâneo (ZHANG *et al.*, 2024). Outra estrutura afetada pelo processo de senescência é a matriz extracelular (MEC). Durante o processo de degradação da MEC os fibroblastos também são afetados. Os fibroblastos são células presentes na derme, responsáveis pela síntese e manutenção das fibras de proteínas, fundamentais para a estrutura e elasticidade da pele, são elas: colágeno e elastina (QUAN *et al.*, 2015). Consequentemente, a disfunção dos fibroblastos compromete a integridade mecânica do tecido conjuntivo da pele. Além disso, a liberação de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, pode acelerar o processo de envelhecimento cutâneo (BORG *et al.*, 2013).

Os fatores extrínsecos, por sua vez, estão associados a fatores ambientais como hábitos de vida a exemplo da alimentação, qualidade do sono, quantidade de ingestão hídrica e sedentarismo. Também está relacionado ao uso de cigarros, consumo de álcool e exposição a agentes poluentes. Porém, um dos principais exemplos de causadores do envelhecimento extrínseco está associado a uma fotoproteção ineficiente ou inexistente que favorece o aumento na produção de radicais livres no organismo (WANG & DREESSEN, 2018). Os radicais livres, são responsáveis por causar danos significativos ao DNA da célula, proteínas e outros constituintes da pele.

Duas proteínas de grande relevância que podem sofrer impactos importantes provenientes da exposição à radiação são o colágeno e a elastina. Estas proteínas têm suas fibras facilmente degradadas, ao longo dos anos, em casos prolongados de exposição solar. Como consequente, a estes eventos, é possível observar mudanças nas características da pele, onde a mesma irá

apresentar um aspecto mais fino, flácido, elástico, pouco resistente e suscetível a enrugamento. O conjunto desses e outros aspectos podem ser denominados como envelhecimento da pele (HARRIS, 2016); (ORIÁ *et al.*, 2023).

O envelhecimento cutâneo pode ser classificado em três níveis, com base nas manifestações observadas. O primeiro nível refere-se a alterações na pigmentação e na textura da epiderme. O segundo engloba modificações de coloração em nível epidérmico e dérmico, a presença de queratoses actínica e seborreica e rugas finas. Já no terceiro nível de envelhecimento, é possível visualizar rugas severas, alterações de pigmentação, presença de comedões e poros mais dilatados. Além disso, se torna mais comum a presença de lesões malignas. Outra característica importante da pele envelhecida é frouxidão tecidual, o ressecamento e a palidez. Também pode ser observado um aumento no surgimento das telangiectasia decorrente do enfraquecimento das paredes dos vasos, derivadas do processo de envelhecimento (HARRIS, 2016).

Em suma, o envelhecimento da pele é um processo progressivo caracterizado por uma combinação de alterações celulares e extracelulares que comprometem a integridade estrutural e funcional do tecido cutâneo, refletindo na sua aparência. Desta forma, o envelhecimento cutâneo pode exercer um impacto negativo significativo na autoestima e na qualidade de vida dos indivíduos, uma vez que as mudanças estéticas associadas a esse fenômeno frequentemente influenciam a percepção de si mesmo e a interação social. A deterioração de aspectos relacionados a aparência da pele, a exemplo das rugas, flacidez e perda de elasticidade, pode gerar sentimento de insegurança e insatisfação pessoal, afetando o bem-estar psicossocial (LETA *et al.*, 2000); (SILVA *et al.*, 2018).

Nesse contexto, a realização de estudos que investiguem alternativas seguras e eficazes de tratamento para retardar o envelhecimento cutâneo torna-se fundamental, pois oferecem possibilidades de intervenção que podem melhorar a autoestima e promover uma melhor qualidade de vida, contribuindo para o envelhecimento saudável e com maior satisfação pessoal.

1.2 PDRN na dermatologia e estética

O polidesoxirribonucleotídeo (PDRN) é uma substância composta de ácido desoxirribonucleico (DNA) de cadeia longa, obtidos, principalmente, de espécies marinhas de peixes, a exemplo do salmão. Neste caso, a molécula de DNA, é extraída do esperma do salmão. Nela é possível coletar informações genéticas importantes para o desenvolvimento e bom funcionamento das estruturas que compõem os tecidos, órgãos e sistemas presentes nos seres vivos. O PDRN atua principalmente por meio da ativação do receptor de adenosina A2A, promovendo a liberação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Essa ativação estimula processos de angiogênese, proliferação celular, síntese de colágeno e regeneração do tecido epitelial, além de exercer efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. Essas ações conferem ao PDRN uma capacidade notável de promover a reparação tecidual, melhorar a elasticidade da pele e reduzir sinais de envelhecimento cutâneo (KIM *et al.*, 2017); (KHAN *et al.*, 2022).

Os benefícios do PDRN já veem sendo explorados, amplamente, por diversas áreas da saúde. Inicialmente, o PDRN foi investigado e utilizado na medicina ortopédica para o tratamento de lesões musculoesqueléticas, como tendinites e lesões ligamentares, devido às suas propriedades cicatrizantes e anti-inflamatórias. Seu alto potencial regenerativo favoreceu a sua aplicabilidade em alterações oftalmológicas, especialmente em casos de lesões na córnea, favorecendo o processo de cicatrização. Além disso, foram encontrados registros do uso do PDRN na medicina regenerativa como terapia adjuvante no tratamento de feridas crônicas. (EDIRISINGHE *et al.*, 2022). Outro aspecto promissor do PDRN na medicina regenerativa é sua capacidade de estimular a proliferação de pré-adipócitos humanos (RAPOSIO *et al.*, 2008). Como o tecido adiposo é uma fonte rica em células-tronco adultas, o PDRN pode ser utilizado para fins terapêuticos, regenerativos e proliferativos abrindo novas perspectivas no tratamento de doenças e lesões (SQUADRITO *et al.*, 2017).

Atualmente, o PDRN tem ganhado ainda mais notoriedade na área da saúde, devido seu conhecido potencial estético. Dentre as suas aplicabilidades, o PDRN vem sendo utilizado em procedimentos de rejuvenescimento facial, tratamento de cicatrizes, estrias, e na melhora da textura e firmeza da pele. Isto

porque o PDRN atua como um agonista indireto do receptor de adenosina A2A, levando à ativação dessa via de sinalização. Neste contexto, o processo de formação de novos vasos, induzidos pelos mecanismos já descritos anteriormente, irá promover um aumento do fluxo sanguíneo local, favorecendo uma maior oferta de nutrientes e oxigênio às células, presentes no tecido (KHAN *et al.*, 2022); (KIM *et al.*, 2020); (GALEANO *et al.*, 2008).

O uso do PDRN estimula a proliferação de fibroblastos, células que participam ativamente do processo de síntese de componentes da matriz extracelular. A ativação dos fibroblastos leva ao aumento na produção de colágeno tipo I e III, elastina e ácido hialurônico, componentes, o colágeno tipo I, principal proteína estrutural da derme, é responsável pela resistência mecânica e sustentação tecidual, enquanto o colágeno tipo III contribui para a organização fibrilar e para a elasticidade inicial do tecido, a elastina, por sua vez, confere propriedades elásticas à pele, permitindo a deformação e o retorno à forma original após estímulos mecânicos. Essa ativação resulta na melhora da firmeza, elasticidade e textura da pele, além de reduzir sinais de envelhecimento, como rugas e linhas finas de expressão. A integridade dessas proteínas é essencial para a manutenção estrutural e hidratação da pele. (SHIN *et al.*, 2023).

Além disso, o PDRN também é um importante modulador da resposta inflamatória e pode ser utilizado com a finalidade de reduzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, além de ser capaz de diminuir o estresse oxidativo por meio de mecanismos antioxidantes. Este processo se dá, também, pela ativação da adenosina A2A. Este receptor inibe as vias de sinalização NF-κB e MAPK, que são ativadas pelos ROS. A inativação da via do NF-κB estimula a liberação de citocinas anti-inflamatórias e aumenta a concentração de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC). O AMPC atua como segundo mensageiro intracelular que desempenha um papel fundamental na sinalização celular e na regulação de diversos processos fisiológicos. Ou seja, o uso do PDRN é capaz de bloquear, de forma efetiva, uma série de eventos desencadeados pelas ROS e que causariam efeitos deletérios a nível celular, além de acelerar o surgimento de sinais visíveis do envelhecimento tecidual (KHAN *et al.*, 2022).

Vale ressaltar que o PDRN pode desempenhar, também, um papel importante na proteção e reparo do DNA em células expostas à radiação UVB. Ao promover a manutenção da integridade genômica, o PDRN pode ajudar a reduzir os efeitos nocivos da radiação UVB, contribuindo assim para a saúde e função celular. Desta forma, sua aplicação clínica é vastamente utilizada pelos profissionais da área da estética. Seu uso pode ser feito por meio de aplicações intradérmica ou tópicas. Sua utilização vem sendo descrita como segura e com baixa incidência de reações adversas. Isso se dá devido à sua origem biológica e o seu perfil de biocompatibilidade. Sendo assim, o PDRN vem sendo considerado uma alternativa segura e eficaz para tratamentos minimamente invasivos, com finalidade regenerativa e rejuvenescedora, devido ao seu baixo índice de reações adversas (SQUADRITO *et al.*, 2017).

Em suma, o PDRN representa uma inovação na medicina regenerativa, com uma vasta trajetória de uso, bem documentado na literatura científica, evoluindo para aplicações clínicas diversas, incluindo a área da Estética, onde sua capacidade de promover a regeneração celular e melhorar a qualidade da pele o torna uma ferramenta valiosa para tratamentos de rejuvenescimento cutâneo.

1.3 Fotobiomodulação – Luz Infravermelha e Luz Vermelha

A palavra *laser* corresponde ao acrônimo de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Essa tecnologia é amplamente empregada em modalidades terapêuticas não invasivas, sendo também denominada fotobiomodulação (FBM). O termo é frequentemente associado à expressão laser de baixa intensidade ou laser de baixa potência (LLLT – Low-Level Laser Therapy) e também diodos emissores de luz (LEDs), este recurso é uma modalidade de tratamento que utiliza de seus efeitos fotofísicos ou fotoquímicos para desencadear ou inibir processos biológicos celulares e teciduais. Essa técnica baseia-se na capacidade da luz, de comprimentos de onda específicos, de interagir com componentes celulares, desencadeando cascatas de reações bioquímicas. Devido ao seu amplo efeito terapêutico este recurso tem ganhado

cada vez mais visibilidade na comunidade científica e por profissionais da área da saúde (SOUZA et al., 2024).

Tanto os lasers de baixa intensidade quanto os diodos emissores de luz (LEDs) têm sido amplamente empregados na FBM. A principal diferença entre esses dispositivos está relacionada à coerência do feixe luminoso. Enquanto os lasers emitem luz monocromática, colimada e coerente, caracterizada por ondas alinhadas em fase, os LEDs produzem luz policromática, divergente e incoerente (KARU, 1999). Apesar dessa distinção física, estudos experimentais e clínicos evidenciam que ambos os dispositivos são eficazes na estimulação da proliferação de fibroblastos, no aumento da síntese de colágeno e na promoção da angiogênese, processos essenciais para a regeneração e reparo tecidual (HAMBLIN, 2010; HUANG *et al.*, 2011). Nesse sentido, tanto os lasers quanto os LEDs são considerados apropriados para aplicações terapêuticas em FBM, sendo a escolha do dispositivo dependente do protocolo clínico e dos objetivos terapêuticos.

Descrito pela primeira vez em 1960, por Theodoro Maiman, os primeiros registros apontaram para o laser de arseneto de gálio e de hélio-neônio (HeNe) (ANDRADE *et al.*, 2014); (ANEROTH *et al.*, 1988). No entanto, foi o trabalho de Endre Mester, em 1967, que revolucionou a compreensão e o uso dessa tecnologia (HOON *et al.*, 2012). Neste estudo, Mester demonstrou que o efeito da luz, em um comprimento de onda de 694nm, era capaz de acelerar o processo de crescimento de pelos em ratos e auxiliar no processo de reparo de feridas cutâneas (MESTER *et al.*, 1971). Essas descobertas marcaram o início do uso da FBM, que posteriormente foi aplicada em seres humanos e teve seu uso documentado, principalmente na medicina regenerativa (HOON *et al.*, 2012).

Em um estudo experimental, publicado por Souza e colaboradores, em 2024, a FBM foi aplicada em feridas cutâneas, padronizadas, localizadas no dorso de ratos. O estudo evidenciou, por meio de uma análise termográfica, que comparado ao grupo controle, os animais tratados com FBM (AlGaAs, 9 mW, 670 nm, 0.031 W/cm² diodo laser com emissão contínua e área ativa da ponta de 0,28 cm²) apresentaram um aumento na vascularização local, fato este que favoreceu o aumento da oxigenação e nutrição tecidual, repercutindo em uma melhor resposta no processo de cicatrização. Isto porque a FBM é capaz de

estimular a liberação de fatores de crescimento, a exemplo do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Estes eventos favorecem a angiogênese e a regeneração tecidual. Além disso, a FBM é capaz de desencadear alguns efeitos fisiológicos como a redução da dor, a diminuição da inflamação, o aumento da circulação sanguínea local e a aceleração dos processos de cicatrização e reparo tecidual (SOUZA *et al.*, 2024); (PEREIRA *et al.*, 2014).

Além da sua aplicabilidade na medicina regenerativa, a FBM vem sendo amplamente utilizada com finalidade estética. Em um estudo de caso realizado por Cerqueira e colaboradores, em 2021, a FBM foi associada a outras terapias com a finalidade de tratar uma paciente com alopecia areata. Para a fotobiomodulação a laser, foi utilizado um laser vermelho com comprimento de onda de 660 nm, potência de 100 mW e densidade de energia de 3 J/cm², aplicado diretamente nas áreas acometidas do couro cabeludo. Adicionalmente, foi empregado um dispositivo de LED âmbar com comprimento de onda de 590 nm e potência de 200 mW, aplicado por 1 minuto e 30 segundos em toda a região do couro cabeludo. Os resultados evidenciaram uma melhora importante no quadro da paciente. Após algumas sessões de tratamento foi possível observar um crescimento capilar significativo na área tratada. (CERQUEIRA *et al.*, 2021). Em outro estudo de caso, publicado em 2025, por Cerqueira e colaboradores, a FBM foi descrita como uma ferramenta importante no controle e tratamento da acne, de uma mulher, com acne adulta. Os registros evidenciaram uma melhora significativa no quadro inflamatório da pele da paciente, em apenas 48 horas após a aplicação da FBM. Ademais, em 2020, Khalkhal e colaboradores, descreveram os efeitos do uso da FBM no processo de rejuvenescimento cutâneo. (CERQUEIRA *et al.*, 2025)

Em um estudo conduzido por Li *et al.* (2021), os autores investigaram os efeitos da combinação de LED vermelho (640 nm) e infravermelha próxima (830 nm), ambas de baixa intensidade, sobre a expressão de proteínas estruturais na pele humana. Utilizando modelos *in vitro* de culturas de fibroblastos dérmicos e explantes de pele humana, os pesquisadores aplicaram irradiação luminosa com potência de 0,5 mW/cm² por 10 minutos diários, totalizando uma fluência de 0,3 J/cm² por sessão. Os resultados demonstraram um aumento significativo na

expressão gênica de marcadores associados à matriz extracelular, como *LOXL1* (lisil oxidase-like 1), *ELN* (elastina), *COL1A1* (colágeno tipo I) e *COL3A1* (colágeno tipo III). Paralelamente, verificou-se um incremento na síntese proteica de pró-colágeno tipo I e elastina, além de maior formação de fibras estruturais e crosslinks entre as mesmas, tanto nas culturas celulares quanto nos explantes de pele. (LI, *et al.*, 2021)

Kreisler et al. (2002) investigaram o efeito da irradiação com laser de diodo de 809 nm sobre a proliferação *in vitro* de fibroblastos gengivais humanos. As culturas celulares foram submetidas a diferentes densidades de energia — aproximadamente 1,96 J/cm², 3,92 J/cm² e ≥7,84 J/cm² — por meio de aplicações em modo contínuo, distribuídas em três sessões com intervalos de 24 horas. A viabilidade metabólica e taxa de proliferação celular foram analisadas por meio do ensaio Alamar Blue, com medições realizadas em 24, 48 e 72 horas pós-tratamento. Os resultados indicaram que, no tratamento com FBM e exposição radiante de 1,96 J/cm² e 3,92 J/cm², houve aumento significativo da proliferação celular logo após 24 horas. Doses maiores ou igual a 7,84 J/cm² mantiveram a atividade proliferativa elevada até 48 horas. Notavelmente, os grupos que receberam tratamentos repetidos com 1,96 J/cm² exibiram crescente atividade proliferativa entre 24 e 48 horas após a irradiação, sugerindo um efeito cumulativo. Em síntese, o estudo fornece evidências de que laser de diodo a 809 nm, em faixas específicas de fluência, estimula a proliferação de fibroblastos gengivais, destacando sua aplicabilidade potencial em contextos clínicos-odontológicos ou estéticos ligados à regeneração tecidual. (KREISLER, *et al.*, 2002)

A luz vermelha (630–700 nm) destaca-se por sua capacidade de penetrar na derme, ativando fibroblastos e estimulando a expressão de fatores de crescimento, como o procolágeno tipo I e a metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9) (Travi, 2013). Seus fótons apresentam menor dispersão e absorção por fotossensibilizadores endógenos, o que reduz a formação de estados excitados e de espécies reativas oxidantes, minimizando o risco de danos à arquitetura biológica da pele (ZASTROW *et al.*, 2009). Como consequência, os efeitos bioestimulantes da interação luz-pele tornam-se mais efetivos, incluindo a ativação de vias de sinalização intracelulares. (SANTOS, 2010).

Contudo, a luz infravermelha próxima sobressai-se pela sua maior capacidade de penetração dérmica comparada a luz vermelha. Essa penetração mais profunda permite que a luz alcance camadas dérmicas onde residem fibras de colágeno e componentes essenciais da matriz extracelular, ativando vias biológicas relacionadas à síntese de colágeno, regeneração tecidual e modulação de estresse oxidativo. Além disso, por apresentar menor absorção por cromóforos epidérmicos, a luz infravermelha causa menos dispersão e danos térmicos superficiais, tornando-se uma opção não invasiva favorável para estimular mecanismos regenerativos sem comprometer a integridade epitelial. (SOBERLINNI *et al*, 2018); (ABLON, 2018).

Sendo assim, neste contexto estético, o mecanismo de ação da FBM está fundamentalmente relacionado à absorção de fótons por moléculas cromóforas presentes nas células, sendo a principal a citocromo c oxidase, uma enzima do complexo IV da cadeia respiratória mitocondrial. A absorção de luz nesse nível aumenta a atividade enzimática, resultando na elevação da produção de ATP (adenosina trifosfato), o que melhora a função celular e promove a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e células endoteliais. Além disso, a ativação do citocromo c oxidase leva à modulação da produção de ROS e de fatores de transcrição, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), influenciando processos de inflamação, apoptose e diferenciação celular (TAM *et al.*, 2020); (FARIVAR *et al.*, 2014).

É importante ressaltar que a escolha adequada dos parâmetros é de suma importância para garantir o efeito terapêutico desejado e minimizar os riscos de intercorrências. Sendo assim, usualmente, os parâmetros técnicos utilizados na FBM incluem o comprimento de onda, tipicamente entre 600 nm e 1000 nm, a potência, que pode variar entre 10 mW e 500 mW, a exposição radiante (J/cm²), a duração da aplicação e a frequência das sessões (ANDREDE *et al.*, 2014).

Por fim, considerando que a FBM é uma intervenção terapêutica que atua nas células por meio da absorção de luz por moléculas cromóforas, levando à modulação de processos bioquímicos e fisiológicos que favorecem a regeneração tecidual, a analgesia e a redução da inflamação, e que o PDRN é uma substância que, também, demonstra um potencial terapêutico significativo na regeneração da pele, devido à promoção da ativação dos fibroblastos

dérmicos e do aumento da migração e proliferação celular, é possível que a associação de ambas as técnicas seja capaz de impactar na atividade dos fibroblastos dérmicos.

2. JUSTIFICATIVA

O estudo da pele e do envelhecimento intrínseco vai além das preocupações estéticas, pois a pele desempenha um papel fundamental como barreira protetora do corpo contra agressões ambientais, impactando diretamente a saúde geral. Compreender os fatores que impulsionam o envelhecimento da pele é crucial para desenvolver estratégias e intervenções de saúde mais eficazes. Além disso, no campo da ciência cosmética, entender as complexidades do envelhecimento cutâneo é essencial para criar produtos e tratamentos inovadores que atenuem os sinais visíveis do envelhecimento, contribuindo assim para melhorar a qualidade de vida e a autoestima das pessoas.

Neste contexto, os fibroblastos desempenham um papel fundamental na manutenção e qualidade da estrutura dos tecidos, especialmente na pele. Uma de suas principais funções é a produção de colágeno e elastina, proteínas essenciais que conferem resistência, elasticidade e firmeza à pele. Além disso, os fibroblastos também são responsáveis pela expressão de fatores de crescimento, que são moléculas sinalizadoras que promovem a proliferação e diferenciação celular, contribuindo para a regeneração e reparo tecidual.

Durante o processo de envelhecimento, as células da pele, incluindo os fibroblastos, vão perdendo suas funções e podem chegar à senescência. Esse processo natural afeta a qualidade e a aparência da pele, levando à perda de elasticidade e firmeza. No entanto, no campo da estética e dermatologia, surgiram produtos promissores que visam melhorar a qualidade da pele por meio de estímulos diretos, minimizando danos e tempo de recuperação.

Um desses produtos é o PDRN (Polideoxirribonucleotídeo), um polímero de DNA animal que atua como um agente bioestimulante. O PDRN estimula a produção de colágeno e melhora a estrutura e a elasticidade do tecido, contribuindo para uma pele mais saudável e radiante. Ao estimular os fibroblastos, o PDRN pode ajudar a restaurar a função celular e melhorar a qualidade da pele. Adicionalmente, na dermatologia e estética, a FBM tem sido amplamente utilizada por profissionais da área devido à sua capacidade de promover melhora no tecido, além de apresentar efeitos anti-inflamatórios

significativo e estímulo de colágeno e fibras de elastina. Apesar dos efeitos bem estabelecidos do PDRN e da fotobiomodulação (FBM) quando aplicados de forma isolada, especialmente com comprimentos de onda na faixa do vermelho (660 nm) e do infravermelho próximo (810 nm), não há, até o momento, evidências científicas consistentes que comprovem os efeitos da associação dessas terapias sobre fibroblastos dérmicos humanos. Embora essa combinação seja amplamente empregada na prática clínica, sua eficácia e seus mecanismos de ação permanecem pouco elucidados na literatura científica. Diante dos reconhecidos benefícios individuais do PDRN e da FBM na estimulação da atividade fibroblástica e da síntese de colágeno, a investigação da associação dessas terapias surge como uma proposta inovadora e necessária, com potencial para contribuir para a melhora da qualidade do tecido cutâneo e para o estímulo da neocolagênese, fundamentando cientificamente uma abordagem já utilizada empiricamente

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da fotobiomodulação associada ao PDRN em fibroblastos dérmicos humanos *in vitro*, sobre a viabilidade e expressão gênica de componentes da MEC

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a viabilidade de fibroblastos dérmicos humanos após 24h, 48h e 72h de tratamento com a fotobiomodulação isolada, PDRN isolado e fotobiomodulação associada ao PDRN.

- Avaliar a expressão dos genes *ELN* (elastina), *COL1A1* (colágeno tipo I) e *COL3A1* (colágeno tipo III) após 48h de tratamento com a fotobiomodulação isolada, PDRN isolado e fotobiomodulação associada ao PDRN.

- Avaliar a expressão do fator de crescimento *TGFB* após 48h de tratamento com a fotobiomodulação isolada, PDRN isolado e fotobiomodulação associada ao PDRN.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Cultivo Celular

Células da linhagem celular humana HFF-2, 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 foram plaqueadas e mantidas em cultura em condições normais de temperatura e pressão por 24 horas. Após este período, todas as células foram tratadas sendo expostas inicialmente ao polidesoxirribonucleico (PDRN, EVO PHARMA LTDA., Brasil) e logo em seguida irradiadas com LED vermelho (660nm, LEDbox BioLambda, São Paulo, Brasil) e LED infravermelho (Black Box mini BioLambda, São Paulo, Brasil), ambos com a mesma exposição radiante conforme os parâmetros descritos na Tabela 1.

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

- **Controle:** células sem tratamento.
- **PDRN 500ug:** células submetidas ao tratamento com 500ug de PDRN.
- **PDRN 1mg:** células submetidas ao tratamento com 1 mg de PDRN.
- **V:** células submetidas ao tratamento com FBM em comprimento de onda vermelho de 660nm.
- **IV:** submetidas ao tratamento com FBM em comprimento de onda vermelho de 810nm.

- **IV-PDRN 1mg**: células submetidas ao tratamento com PDRN (e FBM em comprimento de onda infravermelho 810 nm (Black Box mini BioLambda, São Paulo, Brasil).
- **IV-PDRN 500 µg**: células submetidas ao tratamento com PDRN e FBM em comprimento de onda infravermelho 810 nm.
- **V-PDRN 1mg**: células submetidas ao tratamento com PDRN e FBM em comprimento de onda vermelho 660nm.
- **V-PDRN 500 µg**: células submetidas ao tratamento com PDRN e FBM em comprimento de onda vermelho 660nm.

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

Parâmetros		
Equipamento	LEDBOX (Biolambda)	Black Box mini BioLambda
Comprimento de onda [nm]	660	810
Largura espectral [nm]	±20	±10
Modo de operação	Contínuo	Contínuo
Potência radiante média [mW]	100	100
Potência pico [mW]	80	85
Irradiância no alvo [W/cm ²]	0,0494	0,0494
Duração da exposição [s]	102	122
Exposição radiante [J/cm ²]	5,04	5,04
Energia radiante [J]	8,16	10,37
Técnica de aplicação	Em contato	Em contato
Número e frequência das sessões de tratamento	1	1

4.3 Análise da viabilidade celular

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-sulfopenil) -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. Assim, foram semeadas 4×10^4 células 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 10uL de MTS foi adicionado em 90uL 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 490nm. 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 2x com 150uL de PBS e, posteriormente, foi adicionado 150uL de paraformaldeído a 4% por 20 minutos. Em seguida, os poços foram lavados com 150uL de PBS e foi adicionado 50uL de cristal violeta 0,5% por 15 minutos. A placa foi então lavada em água corrente 4 vezes e mantidas por 24h em temperatura ambiente para secagem. Após este período, foi adicionado 100uL 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 570nm, 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.

4.4 Análise de expressão gênica

4.4.1 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 qualidade do RNA obtido foram avaliadas por meio do Nanodrop (ThermoFisher, Massachusetts, E.U.A.), após 48h utilizando-se como padrão os valores de referência especificados na literatura (concentração de RNA, relação 260/280 e relação 260/230).

4.4.2 Síntese do DNA complementar

As amostras de RNA total foram tratadas com 1U de DNase I Amplification Grade (Invitrogen) por 15 min à temperatura ambiente para eliminação do DNA genômico contaminante. Posteriormente, foi adicionado 1 uL 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. Depois o kit Revert Aid seguindo o seguinte parâmetro: 5 min a 25 °C seguido de 60 min a 42 °C. Em seguida as amostras foram armazenadas a -20°C O total de 1 µg de RNA foi reversamente transcrito em DNA complementar utilizando-se o kit RevertAid Reverse Transcription (Thermo Fisher), de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras foram incubadas a 25°C por 5 minutos seguido de incubação a 42°C por 60 minutos no termociclador QuantStudio 1.

4.4.3 PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

As reações de qPCR foram realizadas em um termociclador QuantStudio 1 utilizando-se o reagente SYBR Green (Applied Biosystems) e *primers* específicos para os genes *COL3A1*, *COL1A1*, *ELASTINA*, *TGF-β1* 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 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (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	Tm (°C)
COL3A1	F: AATCAGGTAGACCCGGACGA R: TTCGTCCATCGAAGCCTCTG	75	62
COL1A1	F: GGCCCTCAAGGTTTCCAAGG R: CACCCTGTGGTCCAACAACCTC	200	62
ELASTINA	F: AGGTATCCCATCAAGGCCCC R: TTTCCCTGTGGTGTAGGGCA	100	62
TGF- β	F: CAGAAATACAGCAACAATTCCTGG R: TTGCAGTGTGTATCCGTGCTGTC	400	62

4.5 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e 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 de Shapiro–Wilk. 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 one-way ANOVA seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Viabilidade Celular por MTS

Após 24 horas (Figura 1), foi observado aumento da viabilidade celular no grupo V-PDRN 1mg quando comparado com o grupo controle ($p<0,05$). Adicionalmente, a viabilidade celular foi maior no grupo V+PDRN 1mg em relação ao grupo PDRN 1mg ($p<0,05$).

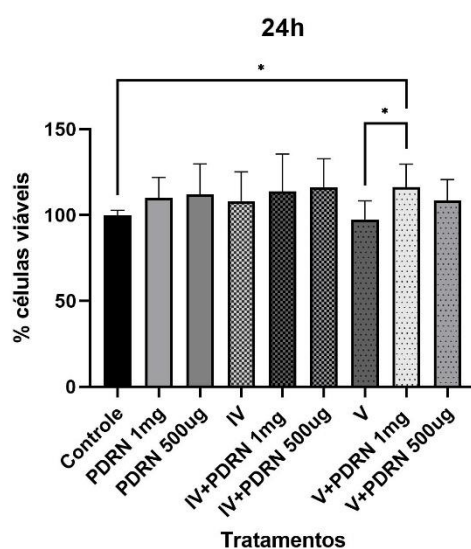


Figura 1. Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 24 h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p<0,05$ (One-way ANOVA).

Após 48 horas do tratamento, não foi observada alteração na viabilidade celular em todos os grupos avaliados, de maneira que tanto o PDRN quanto a FBM isolados ou associados, apresentaram porcentagem de células viáveis semelhantes ao grupo Controle (Figura 2).

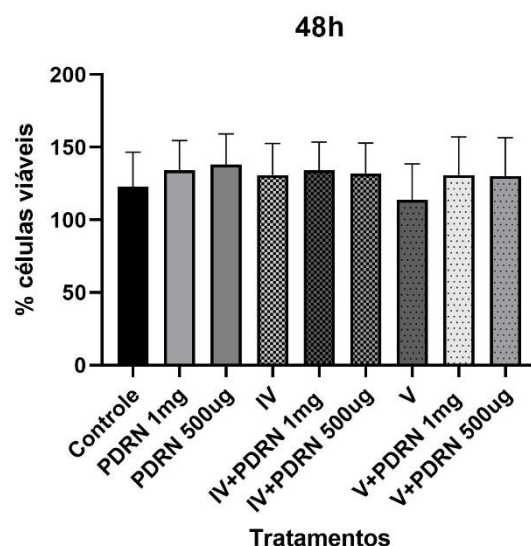


Figura 2. Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 48h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h.

Após 72 horas do tratamento, não houve diferença estatística significativa entre os grupos submetidos ao tratamento com PDRN e FBM em comparação ao grupo Controle (Figura 3).

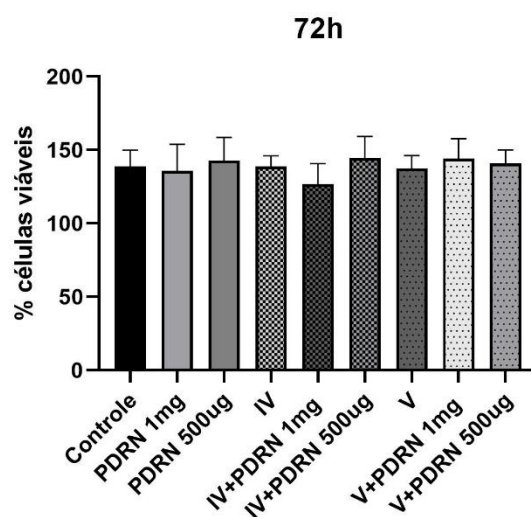


Figura 3. Viabilidade celular por meio do ensaio de MTS após 72h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h.

5.1.2 Análise de Proliferação Celular por Cristal Violeta

A proliferação celular também foi avaliada de forma direta por meio do ensaio de cristal violeta, o qual cora proteínas e indica o número total de células após os diferentes tratamentos ao longo dos períodos de 24h, 48h e 72h.

Após 24h do tratamento, foi observada redução significativa da proliferação celular no grupo IV-PDRN 500 ug quando comparado com o grupo Controle ($p<0,001$) e em relação ao grupo PDRN 500ug ($p<0,05$). Não houve diferença significativa na comparação entre os demais grupos avaliados (Figura 4).

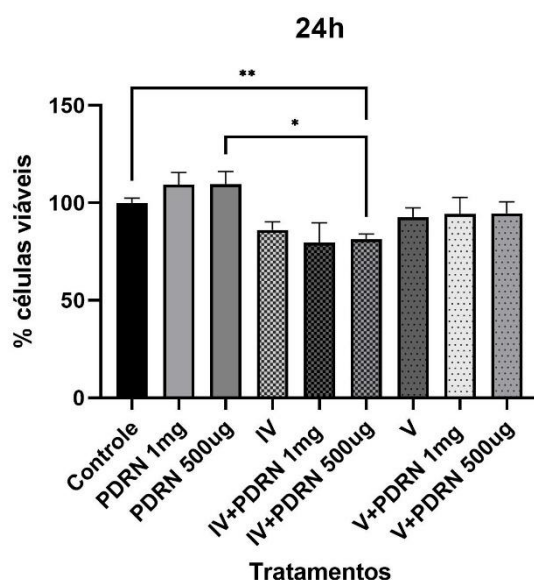


Figura 4. Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 24h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p<0,05$ e ** $p<0,001$ (One-way ANOVA).

Após 48h do tratamento, foi observado aumento significativo da proliferação celular no grupo V-PDRN 1mg quando comparado com o grupo Controle ($p<0,05$) e em relação ao grupo V ($p<0,05$). Não houve diferença significativa na comparação entre os demais grupos avaliados (Figura 5).

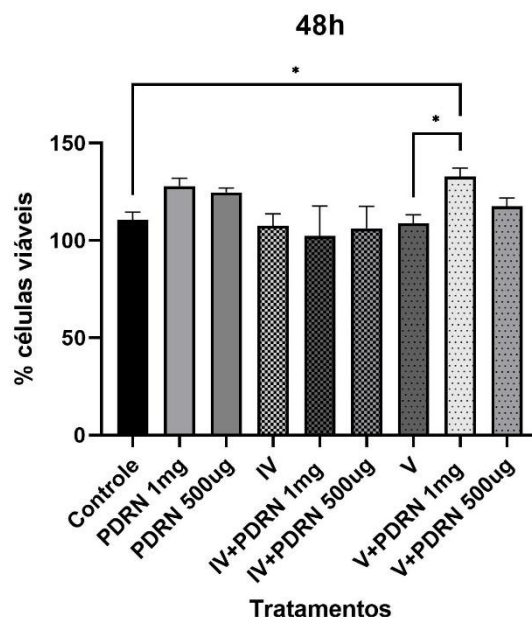


Figura 5. Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 48h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p < 0,05$ (One-way ANOVA).

No período de 72h, foi observado um aumento na proliferação celular dos grupos PDRN 1mg ($p < 0,001$) e IV-PDRN 500ug ($p < 0,05$) em relação ao grupo Controle. Adicionalmente, foi observado que a proliferação celular no grupo IV-PDRN 500ug foi maior quando comparado com os grupos IV ($p < 0,001$), IV-PDRN 1 mg ($p < 0,001$) e V-PDRN 500 ug ($p < 0,0001$). Além disso, a proliferação celular foi maior no grupo PDRN 1mg em relação aos grupos IV-PDRN 1mg ($p < 0,001$) e V-PDRN 1mg ($p < 0,001$). Por fim, a proliferação celular foi maior no grupo V-PDRN 1mg quando comparado com o grupo V ($p < 0,001$) (Figura 6).

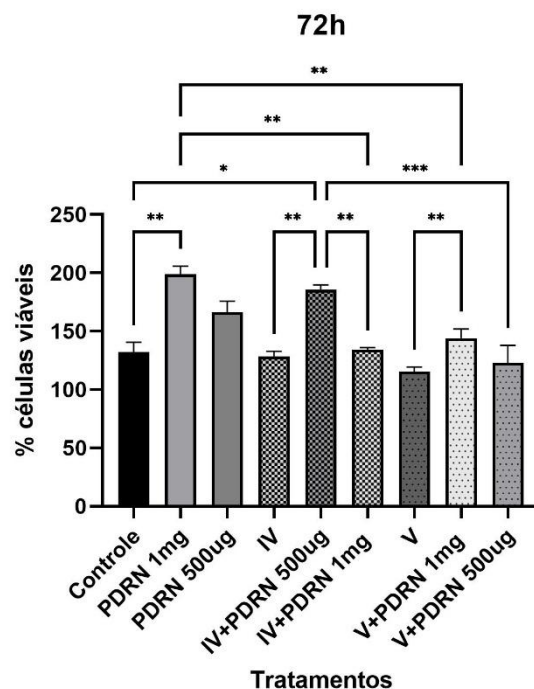


Figura 6. Avaliação da viabilidade celular por meio do ensaio de Cristal Violeta após 72h. Dados representam o valor em porcentagem das células viáveis em cada grupo em relação ao grupo Controle no período de 24h. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ e *** $p < 0,0001$ (One-way ANOVA).

5.1.3 Análise da expressão dos genes *COL1A1*, *COL3A*, *Elastina* e *TGF β 1*

Na análise da expressão dos níveis de mRNA de *COL1A1*, foi observado que todos os tratamentos avaliados resultaram em aumento significativo na expressão deste gene quando comparado com o grupo Controle. Adicionalmente, não houve diferença nos níveis de mRNA de *COL1A1* entre os tratamentos estudados. (Figura 7)

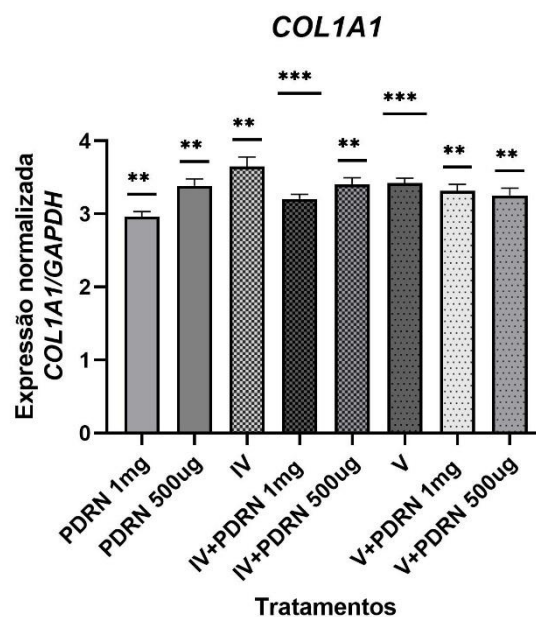


Figura 7. Expressão do gene *COL1A1* após 48h de tratamento com PDRN e fotobiomodulação (V e IV), isolados e associados. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (One Sample t Test para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle).

Todos os tratamentos avaliados induziram aumento significativo na expressão de *COL3A* em relação ao grupo Controle, sendo este aumento maior nos grupos IV e V bem como nos grupos de FBM associados ao PDRN. Além disso, o grupo V apresentou aumento significativo da expressão do gene *COL3A* quando comparado com o grupo PDRN 1mg ($p < 0,001$) (Figura 8).

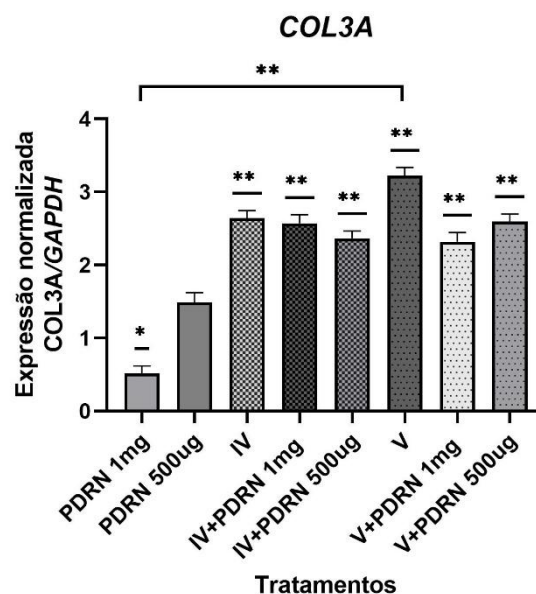


Figura 8. Expressão do gene *COL3A1* após 48h do tratamento com PDRN e fotobiomodulação (V e IV), isolado e associados. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (One Sample t Test para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle e One-way ANOVA para comparação entre os tratamentos avaliados).

Todos os tratamentos avaliados induziram aumento significativo na expressão de Elastina em relação ao grupo Controle. Além disso, o grupo IV apresentou aumento significativo da expressão do gene Elastina quando comparado com o grupo PDRN 1mg ($p < 0,001$) (Figura 9).

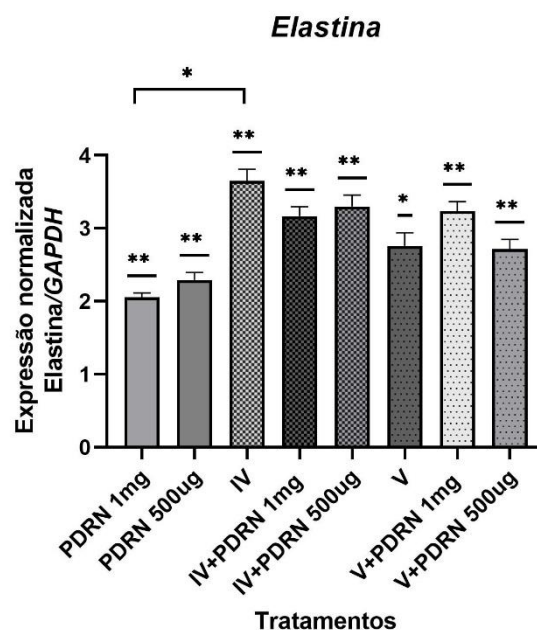


Figura 9. Análise da expressão do gene *Elastina* após 48h do tratamento com PDRN e fotobiomodulação (V e IV), isolado e associados. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (One Sample t Test para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle e One-way ANOVA para comparação entre os tratamentos avaliados).

Houve aumento significativo dos níveis de mRNA de *TGF β 1* em todos os grupos avaliados quando comparado ao grupo Controle. Na comparação entre os tratamentos, PDRN e FBM (V e IV), não houve diferença estatística significativa (Figura 10).

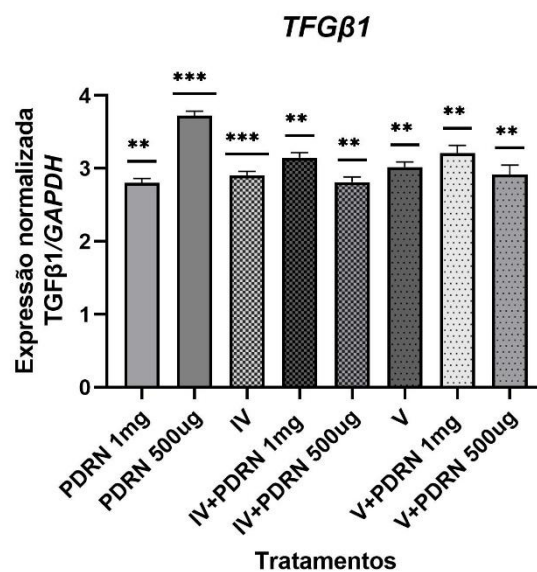


Figura 10. Avaliação da expressão do gene *TGFβ1* após 48h do tratamento com PDRN e FBM (V e IV), isolado ou associados * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (One Sample t Test para comparação dos valores de expressão gênica em relação ao grupo Controle e One-way ANOVA para comparação entre os tratamentos avaliados).

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que tanto a fotobiomodulação (FBM) quanto o polidesoxirribonucleotídeo (PDRN) foram capazes de promover estímulos celulares sem induzir citotoxicidade, reforçando seu perfil de segurança e sua aplicabilidade em contextos regenerativos. Esses achados estão em consonância com os resultados descritos por Kreisler et al. (2002) e Li et al. (2021), que também observaram incremento na proliferação de fibroblastos após exposição à luz de diodo nas faixas de 630–850 nm, sem prejuízo à viabilidade celular. A manutenção da integridade das células HFF-2 ao longo de 72 horas confirma a compatibilidade biológica das intervenções testadas e sustenta a hipótese de que tanto a luz quanto o PDRN exercem efeito bioestimulador seguro sobre fibroblastos humanos.

Em relação à proliferação celular, verificou-se que o PDRN 1mg isolado promoveu um aumento significativo após 72 horas, resultado que se alinha aos estudos de Thellung et al. (1999) e Shin et al. (2023), nos quais o PDRN estimulou a divisão celular e a deposição de colágeno em fibroblastos dérmicos humanos por meio da ativação do receptor A2A de adenosina e da via ERK. Esse efeito é atribuído à capacidade do PDRN de fornecer nucleotídeos e estimular vias de sinalização intracelular associadas à regeneração tecidual, mecanismo que pode explicar o aumento progressivo da proliferação observado entre 48 e 72 horas no presente estudo.

De forma interessante, as combinações entre PDRN e FBM não apresentaram efeito aditivo, e em alguns momentos iniciais, como nas primeiras 24 horas, o grupo IV+PDRN 500 µg apresentou redução da proliferação celular em comparação ao controle. Esse comportamento pode estar relacionado à resposta bifásica descrita por Soberlini, Rucco e Rinaldi (2018), segundo a qual doses elevadas de energia ou combinações de estímulos distintos podem gerar efeito inibitório transitório, decorrente de ajustes metabólicos e da modulação das espécies reativas de oxigênio (EROs). Tal hipótese é reforçada por Ablon (2018), que destaca a necessidade de parâmetros precisos para evitar a saturação fotobiológica e maximizar os efeitos regenerativos. Assim, é plausível

que a combinação simultânea de PDRN com luz infravermelha ou vermelha tenha induzido um pico inicial de estímulo metabólico, levando a uma resposta adaptativa que, embora temporariamente reduza a proliferação, resulta em reorganização celular benéfica em períodos subsequentes.

Após 48 e 72 horas, observou-se recuperação e aumento da proliferação nos grupos tratados, especialmente no V+PDRN 1 mg e PDRN 1 mg isolado, o que demonstra a capacidade do PDRN de sustentar o estímulo celular a médio prazo. Esses resultados estão em consonância com os achados de Khan et al. (2022), que destacaram o papel do PDRN na regeneração cutânea e no rejuvenescimento por estimular colágeno e elastina através da ativação do receptor A2A e da via de salvamento do DNA. Além disso, os resultados corroboram as observações de Galeano et al. (2021), ao demonstrar que o PDRN exerce sua ação de forma fisiológica, promovendo a aceleração dos processos de reparo tecidual e favorecendo a reorganização e a dinâmica funcional da matriz extracelular.

Em relação à expressão gênica, a expressão de COL1A1 foi significativamente aumentada em todos os grupos tratados, evidenciando o efeito positivo do PDRN, da fotobiomodulação vermelha (V) e infravermelha (IV) sobre a síntese de colágeno tipo I. O PDRN isolado, especialmente na concentração de 500 µg, e o IV isolado apresentaram os maiores níveis de expressão. Em contrapartida, a associação do PDRN com as irradiações não promoveu efeito sinérgico, resultando em respostas iguais ou inferiores às observadas nos tratamentos isolados, indicando que a combinação das terapias não potencializa a expressão de COL1A1. Esse resultado é particularmente relevante, pois o colágeno tipo I constitui o principal componente estrutural da derme, cuja redução está diretamente associada ao envelhecimento cutâneo e à perda de firmeza. Tais achados corroboram com os de Li et al. (2021) e Shin et al. (2023), que relataram que tanto a luz vermelha/infravermelha quanto o PDRN isolados aumentam a síntese de colágeno em fibroblastos humanos.

Quanto à expressão de COL3A, observou-se aumento em todos os grupos, com destaque para o PDRN 1 mg isolado, que superou o grupo tratado apenas com luz vermelha. Esse resultado reforça o papel do PDRN na reorganização inicial da matriz extracelular e na restauração da elasticidade

cutânea, características atribuídas ao colágeno tipo III. Essa observação está em conformidade com as revisões de Khan et al. (2022) e Galeano et al. (2021), que destacam o efeito do PDRN na modulação equilibrada da matriz extracelular, estimulando tanto colágeno tipo I quanto tipo III.

A expressão de elastina também foi significativamente aumentada em todos os grupos experimentais, com valores superiores para o PDRN isolado em comparação ao grupo IV. Esses resultados sugerem que o PDRN exerce influência direta sobre a biossíntese de proteínas elásticas, possivelmente por meio da regulação de fatores de crescimento mediados pela via A2A de adenosina, conforme proposto por Thellung et al. (1999) e Shin et al. (2023). Tal efeito é de grande relevância clínica, pois a elastina é um dos primeiros componentes a se degradar no envelhecimento dérmico.

Além disso, Kim et al. (2017) relataram que o PDRN aumenta a angiogênese e a oxigenação tecidual por meio da ativação do receptor A2A de adenosina, mecanismo que também está intimamente ligado à liberação de fatores de crescimento, incluindo o *VEGF* e o próprio *TGFβ1*. Essa cascata de sinalização contribui não apenas para a reparação tecidual, mas também para a melhora da elasticidade e qualidade da pele, corroborando os achados observados neste estudo. De modo complementar, Galeano et al. (2021) demonstraram que o PDRN acelera a cicatrização de feridas cutâneas comprometidas ao induzir angiogênese, aumentar a expressão de colágeno tipo I e estimular a proliferação de fibroblastos. Esses achados sugerem que o PDRN não apenas modula a expressão de *TGFβ1*, mas também atua de forma sistêmica sobre a cascata de reparo tecidual.

Estudos prévios relatam que a luz vermelha (600–900 nm) apresenta efeitos pró-proliferativos e bioestimulantes, promovendo aumento da expressão de COL1A1, redução de MMPs (metaloproteinases da matriz extracelular) e elevação de TIMP1 (inibidor tecidual das metaloproteinases tipo 1) em determinadas condições (660 nm, 5 J/cm²) (AYUK *et al.*, 2017). O protocolo adotado neste estudo (660 nm – 1,5 J/cm² e 810 nm) situa-se dentro da chamada janela óptica cutânea (600–1300 nm), faixa espectral reconhecida por sua interação com cromóforos intracelulares. Entretanto, os resultados de viabilidade celular obtidos sugerem que o contexto experimental e as combinações entre

PDRN, FBMV e FBMIV podem modificar a resposta biológica dos fibroblastos, lembrando que o ambiente cultural não possui camadas a serem atravessadas..

Em síntese, os resultados obtidos neste estudo confirmam o potencial bioestimulador tanto da FBM quanto do PDRN sobre fibroblastos humanos, sendo este último responsável por respostas mais consistentes e sustentadas na expressão de genes relacionados à matriz extracelular. Embora as combinações de tratamentos não tenham demonstrado efeito sinérgico *in vitro*, é possível que, em modelos *in vivo*, a interação entre os estímulos fotônicos e os mecanismos moleculares do PDRN produza respostas mais expressivas, especialmente pela modulação vascular e inflamatória que não podem ser plenamente reproduzidas em cultura celular.

A ausência de potencialização nas combinações, entretanto, sugere que ambos os estímulos podem convergir para vias intracelulares semelhantes, levando a um efeito de saturação metabólica quando aplicados simultaneamente — hipótese sustentada pelos modelos de sobreposição de vias sinalizadoras propostos por Zastrow et al. (2009) e Karu (1999).

Dessa forma os resultados demonstram que os tratamentos isolados, especialmente o PDRN e a fotobiomodulação infravermelha, foram superiores às associações em diferentes parâmetros biológicos. O PDRN isolado, principalmente na concentração de 500 µg, promoveu maior e mais consistente estímulo da viabilidade celular ao longo do tempo e maior expressão de *COL1A1*, *COL3A1* e *Elastina* enquanto o infravermelho isolado também se destacou na indução desses genes. Em contraste, as associações entre PDRN e fotobiomodulação não apresentaram efeito sinérgico e, em alguns casos, resultaram em respostas atenuadas, possivelmente devido à saturação de vias celulares ou à ativação simultânea de mecanismos concorrentes. Esses achados indicam que a aplicação isolada das terapias pode ser biologicamente mais eficiente do que sua combinação nas condições experimentais avaliadas.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo apresenta limitações. O modelo experimental foi restrito a fibroblastos dérmicos humanos (HFF-2) cultivados *in vitro*, sem reproduzir a complexidade da pele humana, incluindo camadas epidérmicas, vasos sanguíneos, outros tipos celulares e fatores sistêmicos que modulam a regeneração tecidual. A análise de viabilidade e proliferação celular foi limitada a 24, 48 e 72 horas, não permitindo avaliação de efeitos de longo prazo. Além disso, os parâmetros de FBM foram fixos, sem variação de dose, tempo de irradiação ou modo de emissão, impossibilitando a análise do efeito de diferentes protocolos sobre a expressão gênica.

Para estudos futuros, recomenda-se a realização de ensaios *in vivo* e estudos clínicos em humanos, para avaliar a eficácia e segurança do PDRN isolado e em combinação com lasers vermelho e infravermelho, considerando penetração tecidual, efeitos sistêmicos e variabilidade individual. A investigação de diferentes parâmetros de FBM e protocolos de exposição permitirá identificar condições mais eficientes para estimular colágeno e elastina. Estudos de longo prazo também são necessários para compreender efeitos cumulativos e sustentáveis sobre a matriz extracelular, fornecendo subsídios para a aplicação clínica em tratamentos de rejuvenescimento, flacidez e melhoria da elasticidade cutânea.

8.CONCLUSÃO

Conclui-se que, nas condições experimentais avaliadas, o PDRN isolado apresentou o melhor desempenho biológico sobre fibroblastos dérmicos humanos, promovendo aumento consistente da viabilidade celular e da expressão de COL1A1, COL3A e elastina, sem efeitos citotóxicos em nenhum dos períodos analisados. Embora a fotobiomodulação nas faixas do vermelho e do infravermelho também tenha induzido respostas positivas, nenhuma associação entre PDRN e fotobiomodulação superou os efeitos obtidos com o PDRN isolado. As combinações não demonstraram efeito sinérgico e, em alguns parâmetros, resultaram em respostas inferiores às terapias aplicadas de forma isolada. Dessa forma, este estudo evidencia que a associação entre PDRN e fotobiomodulação não oferece benefício adicional para o estímulo de componentes da matriz extracelular, reforçando o PDRN como a estratégia mais eficaz entre os tratamentos avaliados.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ablon, G. Phototherapy with light emitting diodes: treating a broad range of medical and aesthetic conditions in dermatology. *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, v. 11, n. 2, p. 21–27, fev. 2018.

Almeida, A. J. P. O. et al. ROS: basic concepts, sources, cell signaling, and their implications in aging pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 1-24, 2022.

Amabis, J. M.; Martho, G. R. *Biologia moderna*. v. 1. São Paulo: Moderna, 2016.

Andrade, F. S. D. S.; Clark, R. M. O.; Ferreira, M. L. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 41, n. 2, p. 129–133, 2014.

Anneroth, G.; Hall, G.; Rydén, H.; Zetterqvist, L. The effect of low-energy infrared laser radiation on wound healing in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 26, n. 1, p. 12–17, 1988.

Ayuk, S. M.; Abrahamse, H.; Houreld, N. N. A fotobiomodulação altera a atividade da proteína da matriz em células de fibroblastos estressadas in vitro. *Journal of Biophotonics*, v. 11, n. 3, mar. 2018.

Borg, M.; Brincat, S.; Camilleri, G.; Schembri-Wismayer, P.; Brincat, M.; Calleja-Aguis, J. The role of cytokines in skin aging. *Climacteric*, v. 16, n. 5, p. 514–521, 2013.

Campisi, J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annual Review of Physiology*, v. 75, p. 685–705, 2013.

Campisi, J.; D'Adda Di Fagagna, F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 8, p. 729–740, 2007.

Cerqueira C. B. S, Brito EA, Carvalho M. A., Medrado A. R. A. P. The use of the plasma jet and laser photobiomodulation in the treatment of alopecia areata: case study. *JOJ Dermatol Cosmet*. 2021;4(1).

Cerqueira C. B. S., Lima T. B., Hegouet I. C., Medrado A. R. A. P. Intervenções terapêuticas para o controle e tratamento de acne: estudo de caso. *Rev Contemp*. 2025;5(5).

Childs, B. G. et al. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Reports*, v. 15, p. 1139–1153, 2014.

Edirisinghe, S. L.; Nikapitiya, C.; Dananjaya, S. H. S.; Park, J.; Kim, D.; Choi, D.; De Zoysa, M. Effect of polydeoxyribonucleotide (PDRN) treatment on corneal

wound healing in zebrafish (*Danio rerio*). *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 21, p. 13525, 2022.

Farage, M. A.; Miller, K. W.; Elsner, P.; Maibach, H. I. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 30, p. 87–95, 2008.

Farivar, S.; Malekshahabi, T.; Shiari, R. Biological effects of low level laser therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, v. 5, n. 2, p. 58–62, 2014.

Galeano, M.; Bitto, A.; Altavilla, D.; Minutoli, L.; Polito, F.; Calò, M.; Lo Cascio, P.; Stagno D'Alcontres, F.; Squadrito, F. Polidesoxirribonucleotide stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Wound Repair and Regeneration*, v. 16, n. 2, p. 208–217, 2008.

Galeano, M.; Pallio, G.; Irrera, N.; Mannino, F.; Bitto, A.; Altavilla, D.; Vaccaro, M.; Squadrito, G.; Arcoraci, V.; Colonna, M. Rosario; Lauro, R.; Squadrito, F. Polidesoxirribonucleotídeo: uma plataforma biológica promissora para acelerar a cicatrização de feridas cutâneas comprometidas. *Pharmaceuticals (Basilea)*, v. 14, n. 11, p. 1103, 29 out. 2021.

Hamblin, M. R. Photodynamic therapy and photobiomodulation: mechanisms and applications. *Photochemistry and Photobiology*, v. 87, n. 6, p. 1214–1226, 2010.

Harris, M. I. N. de C. *Pele: do nascimento à maturidade*. São Paulo: Senac, 2016.

Hayflick, L.; Moorhead, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, v. 25, p. 585–621, 1961.

Hoon, C.; Tianhong, D.; Sulbha, K. S.; Ying-Ying, H.; James, D. C.; Michael, R. H. The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 40, n. 2, p. 516–533, Feb. 2012.

Höhn, A. et al. Happily (n) ever after: aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence. *Redox Biology*, v. 11, p. 482–501, 2017.

Huang, Y. Y. et al. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose-Response*, v. 9, n. 4, p. 602–618, 2011.

Junqueira, L. C.; Carneiro, J. *Histologia básica*. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

Karu, T. I. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 49, n. 1, p. 1–17, 1999.

Khan, A.; Wang, G.; Zhou, F.; Gong, L.; Zhang, J.; Qi, L.; Cui, H. Polidesoxirribonucleotídeo: um promissor agente antienvelhecimento da pele. *Jornal Chinês de Cirurgia Plástica e Reconstructiva*, v. 4, p. 187–193, 2022.

Khalkhal E, Razzaghi M, Rostami-Nejad M, Rezaei-Tavirani M, Heidari Beigvand H, Rezaei Tavirani M. Evaluation of laser effects on human body after laser therapy. *J Lasers Med Sci*. 2020;11(1):91–7. doi: 10.15171/jlms.2020.15

Kim, S.; Kim, J.; Choi, J.; Jeong, W.; Kwon, S. Polydeoxyribonucleotide improves peripheral tissue oxygenation and accelerates angiogenesis in diabetic foot ulcers. *Archives of Plastic Surgery*, Seul, v. 44, n. 6, p. 482–489, 2017.

Kim, Y. J.; Kim, M. J.; Kweon, D. K.; Lim, S. T.; Lee, S. J. Polydeoxyribonucleotide activates mitochondrial biogenesis, but reduces MMP-1 activity and melanin biosynthesis in cultured skin cells. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 191, n. 2, p. 540–554, 2020.

Kreisler, M.; Christoffers, A. B.; Al-Haj, H.; Willershausen, B.; D’Hoedt, B. Estimulação in vitro induzida por laser de diodo de baixa intensidade de 809 nm da proliferação de fibroblastos gengivais humanos. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 30, n. 5, p. 365–369, 2002.

Leta, F. R.; Pamplona Djenane, D.; Weber, H. I.; Conci, A.; Pitanguy, I. A study of the facial aging - a multidisciplinary approach. *Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences*, v. 22, n. 3, p. 1–9, 2000.

Li, W.; Seo, I.; Kim, B.; Fassih, A.; Southall, M. D.; Parsa, R. A combinação de luz vermelha de baixa intensidade e infravermelho próximo induz expressões de colágeno e elastina na pele humana in vitro. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 43, n. 3, p. 311–320, 2021.

Mester, E.; Spiry, T.; Szende, B.; Tota, J. G. Efeito dos raios laser na cicatrização de feridas. *The American Journal of Surgery*, v. 122, n. 4, p. 532–535, 1971.

Oriá, R. B.; Ferreira, F. V. A.; Santana, É. N.; Fernandes, M. R.; Brito, G. A. C. Study of age-related changes in human skin using histomorphometry and autofluorescence methods. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 78, n. 4, p. 425–434, 2003.

Pereira, A. F.; Machado, M. A. A.; Silva, T. C. Laser em baixa intensidade pode estimular o processo de angiogênese / Low level laser therapy can stimulate the angiogenesis process. *Arquivos de Ciências da Saúde*, v. 21, n. 4, p. 15–21, out-dez. 2014.

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

Ravara, B.; Hofer, C.; Kern, H.; Guidolin, D.; Porzionato, A.; De Caro, R.; Albertin, G. Flattening of thigh skin dermal papillae in Conus Cauda Syndrome. *European Journal of Translational Myology*, v. 28, n. 4, p. 7914, 2018.

Raposio, E.; Guida, C.; Coradeghini, R.; Scanarotti, C.; Parodi, A.; Baldelli, I.; et al. In vitro effects of polydeoxyribonucleotide on human preadipocytes. *Cell Proliferation*, v. 41, n. 4, p. 739–754, 2008.

Shin, S. M.; Baek, E. J.; Kim, K. H.; Kim, K. J.; Park, E. J. Polideoxyribonucleotide exerts opposite effects on ERK activity in human skin keratinocytes and fibroblasts. *Molecular Medicine Reports*, v. 28, n. 2, p. 148, 2023.

Santos, M. M. et al. Biostimulatory effects of low-level laser therapy on the repair process. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 85, n. 6, p. 853–860, Dec. 2010.

Soberlini, E.; Rucco, M.; Rinaldi, F. Photodynamic and photobiological effects of light emitting diode (LED) therapy in dermatological disease: an update. *Lasers in Medical Science*, v. 33, n. 7, p. 1431–1439, 2018.

Souza, P. B. de; Cerqueira, C. B. S. de; Costa, L. M. dos S.; Leite, M. M. P.; Marchionni, A. M. T.; Dantas, J. B. de L.; Medrado, A. R. A. P. Evaluation of thermal variation of skin wounds in rats subjected to biomodulatory therapies. *Thermology International*, v. 34, n. 1, 2024.

Squadrito, F.; Bitto, A.; Irrera, N.; Pizzino, G.; Pallio, G.; Minutoli, L.; Altavilla, D. Pharmacological activity and clinical use of PDRN. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, p. 224, 2017.

Tam, S. Y.; Tam, V. C. W.; Ramkumar, S.; Khaw, M. L.; Law, H. K. W.; Lee, S. W. Y. Review of cellular mechanisms of low-level laser therapy in oncology. *Frontiers in Oncology*, v. 10, p. 1255, 2020.

Thellung, S.; Florio, T.; Maragliano, U.; Cattarini, G.; Schettini, G. Polidesoxirribonucleotídeos aumentam a proliferação de fibroblastos da pele humana: envolvimento de subtipos de receptores purinérgicos A2. *Ciências da Vida*, v. 64, n. 18, p. 1661–1674, 1999.

Triana-Martínez, F.; Pedraza-Vázquez, G.; Maciel-Barón, L. A.; Königsberg, M. Reflections on the role of senescence during development and aging. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 598, p. 40–49, 2016.

Travi-Carneiro, M. C.; Carneiro-Travi, M. I.; Bock, P. M. Fatores de crescimento na cicatrização de úlceras diabéticas. *Revista de Atenção à Saúde*, v. 11, n. 38, p. 64–73, 2013.

Wang, A. S.; Dreesen, O. Biomarkers of cellular senescence and skin aging. *Frontiers in Genetics*, v. 9, p. 247, 2018.

Zastrow, L. et al. The missing link—light-induced (280–1600 nm) free radical formation in human skin. *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 22, n. 1, p. 31–44, 2009..

Zhang, J.; Yu, H.; Man, M. Q.; Hu, L. Aging in the dermis: fibroblast senescence and its significance. *Aging Cell*, v. 23, n. 2, p. e14054, Feb. 2024.

Zhu, L.; Yang, C.; You, Y.; Liang, W.; Wang, N.; Ma, F.; Li, C. Validation of reference genes for qRT-PCR analysis in peel and flesh of six apple cultivars (*Malus domestica*) at diverse stages of fruit development. *Scientia Horticulturae*, v. 244, p. 165–171, 2019.