

Universidade do Vale do Paraíba  
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento  
Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Leonardo Borges de Lima

**Caracterização das porções cranial e caudal de lesões medulares tratadas com fotobiomodulação por espectroscopia Raman por transformada de Fourier**

**Characterization of the cranial and caudal portions of spinal cord lesions treated with photobiomodulation by Fourier transform Raman spectroscopy**

São José dos Campos  
2026

LEONARDO BORGES DE LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DAS PORÇÕES CRANIAL E CAUDAL DE LESÕES  
MEDULARES TRATADAS COM FOTOBIMODULAÇÃO POR  
ESPECTROSCOPIA RAMAN POR TRANSFORMADA DE FOURIER**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, como etapa necessária para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa

**Co-orientador:** Prof. Dr. Leandro José Raniero

São José dos Campos  
2026

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA**

**Ficha catalográfica**

Lima, Leonardo Borges de  
Caracterização das porções cranial e caudal de lesões medulares tratadas com fotobiomodulação por espectroscopia Raman por transformada de Fourier / Leonardo Borges de Lima; orientadora, Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa; co-orientador Leandro José Raniero. - São José dos Campos, SP, 2026.  
1 CD-ROM, 72 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

1. Engenharia Biomédica. 2. Lesão medular. 3. Fotobiomodulação. 4. FT-Raman. I. Arisawa, Emilia Angela Lo Schiavo, orient. II. Raniero, Leandro José, co-orient. III. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. IV. Título.

Eu, Leonardo Borges de Lima, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 30 de Março de 2026.

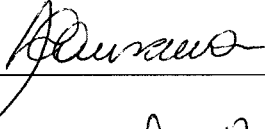
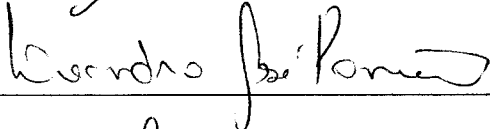

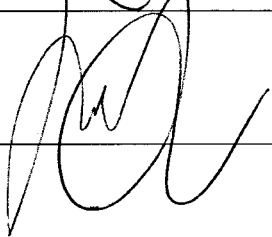


Autor(a) da Obra

LEONARDO BORGES DE LIMA

**“CARACTERIZAÇÃO DAS PORÇÕES CRANIAL E CAUDAL DE LESÕES MEDULARES TRATADAS COM FOTOBIMODULAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA RAMAN POR TRANSFORMADA DE FOURIER.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof.ª Dr.ª Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa	
Prof. Dr. Leandro José Raniero	
Prof. Dr. Mario Oliveira Lima	
Prof. Dr. Luis Felipe das Chagas e Silva de Carvalho - UNITAU	

Prof.ª Dr.ª Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 05 de março de 2026.

“Não vai demorar que passemos adiante  
uma grande e bela ciência, que faz arte em  
defesa da vida.”

Carlos Chagas (1879-1934)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao mundo, para que todos que necessitarem, sendo homem ou animal, sejam beneficiados pelos frutos aqui descritos.

## AGRADECIMENTOS

À **minha família**, quero expressar minha sincera gratidão por todo o incentivo. Obrigado por acreditarem em mim e por todo o apoio incondicional em todos os momentos. Vó e Vô, obrigado por tudo. Sem vocês, nada disso seria possível.

À minha orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dra. Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa**, quero expressar minha gratidão por todas as oportunidades que me proporcionou e por sempre ter acreditado no meu desenvolvimento profissional e acadêmico. Agradeço imensamente pela amizade, confiança e pela formação que me proporcionou, que foram essenciais para que eu me tornasse o profissional que sou hoje. Sou grato por ter torcido por mim, por ter cruzado o meu caminho e pela paciência imensurável que teve comigo.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Leandro José Raniero**, gostaria de agradecer imensamente pela sua disponibilidade, compreensão e, especialmente, pela paciência em ensinar cada detalhe.

À **Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP e ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D**, à equipe da central analítica e a **todos os funcionários envolvidos**, minha sincera gratidão por terem **possibilitado meu desenvolvimento profissional**.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** – Código de financiamento 001, pelo apoio financeiro.

A **todos** que contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

**Definitivamente, palavras não seriam suficientes para expressar todo o meu apreço por vocês.**

## **IMPACTO POTENCIAL DA PESQUISA**

O estudo avalia o uso da fotobiomodulação por laser infravermelho no tratamento da lesão medular em modelos animais, no contexto da engenharia biomédica, com impacto direto no ODS 3 - Saúde e Bem-estar. O estudo atende a ODS 9, por contribuir para preservação neuronal, desenvolvimento e fortalecimento de terapias inovadoras, não invasivas e de baixo custo, com elevado potencial na melhoria da qualidade de vida de portadores de lesão medular. Alinhada ao conceito One Health da OMS, a pesquisa integra a saúde humana, animal e meio ambiente de forma ética e sustentável, além de promover inovações tecnológicas, formação de recursos humanos e cooperação científica, dialogando com a ODS 12. Dessa forma, esta pesquisa científica reforça seu compromisso com o desenvolvimento sustentável e a redução de desigualdades.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This study evaluates the use of infrared laser photobiomodulation to treat spinal cord injury in animal models, within the context of biomedical engineering, with a direct impact on SDG 3 - Good Health and Well-being. It also addresses SDG 9 by contributing to neuronal preservation, the development and strengthening of innovative, non-invasive, and low-cost therapies with high potential for improving the quality of life of individuals with spinal cord injury. Aligned with the WHO's One Health concept, the research integrates human, animal, and environmental health in an ethical and sustainable way, in addition to promoting technological innovation, human resource development, and scientific cooperation, thus engaging with SDG 12. Therefore, this scientific research reinforces its commitment to sustainable development and the reduction of inequalities.

## RESUMO

A lesão medular (LM) é uma condição neurológica grave que compromete a transmissão de impulsos motores e sensitivos pela medula espinhal, resultando em déficits funcionais permanentes, de elevado impacto social e econômico. As terapias atualmente disponíveis são limitadas quanto à capacidade de preservar o microambiente tecidual e promover regeneração neural efetiva. A fotobiomodulação (PBM) tem sido investigada como estratégia terapêutica promissora, baseada na estimulação mitocondrial, promovendo aumento da produção de ATP, modulação inflamatória e estímulo ao reparo tecidual. Paralelamente, a espectroscopia Raman por Transformada de Fourier (FT-Raman) destaca-se como ferramenta analítica sensível para a avaliação de alterações moleculares em tecidos biológicos, permitindo identificar modificações em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Este estudo teve como objetivo avaliar, por meio da espectroscopia FT-Raman associada a análises multivariadas (PCA-LDA), o perfil molecular das porções cranial e caudal da lesão medular, em ratos Wistar, submetidos à contusão medular, tratados ou não com PBM (808 nm, 100 mW, 2 J por ponto, por 14 dias, dias alternados). Foram analisadas 20 amostras teciduais, das porções cranial e caudal, com processamento espectral padronizado e aplicação de métodos estatísticos para discriminação dos grupos. Os resultados demonstraram maior capacidade de discriminação molecular na porção cranial, com acurácia global de 77,8% na classificação por LDA, enquanto a porção caudal apresentou menor discriminação (55,6%). As análises espectrais indicaram maior preservação de proteínas estruturais e melhor organização das moléculas dos lipídios no grupo tratado com PBM, especialmente na porção cranial, evidenciando possível efeito neuroprotetor localizado. Conclui-se que a espectroscopia FT-Raman foi eficaz na detecção de alterações bioquímicas decorrentes da LM e na avaliação dos efeitos terapêuticos da PBM. Os achados reforçam o potencial da fotobiomodulação como terapia adjuvante no tratamento da lesão medular e evidenciam a aplicabilidade da análise espectroscópica como ferramenta de monitoramento molecular em modelos experimentais.

**Palavras-chave:** lesão medular; fotobiomodulação; FT-Raman.

## ABSTRACT

Spinal cord injury (SCI) is a serious neurological condition that impairs the transmission of motor and sensory impulses through the spinal cord, resulting in permanent functional deficits with a high social and economic impact. Currently available therapies are limited in their ability to preserve the tissue microenvironment and promote effective neural regeneration. Photobiomodulation (PBM) has been investigated as a promising therapeutic strategy, based on mitochondrial stimulation, promoting increased ATP production, inflammatory modulation, and stimulation of tissue repair. In parallel, Fourier Transform Raman spectroscopy (FT-Raman) stands out as a sensitive analytical tool for evaluating molecular alterations in biological tissues, allowing the identification of modifications in proteins, lipids, and nucleic acids. This study aimed to evaluate, using FT-Raman spectroscopy coupled with multivariate analysis (PCA-LDA), the molecular profile of the cranial and caudal portions of spinal cord injury in Wistar rats subjected to spinal cord contusion, treated or not with PBM (808 nm, 100 mW, 2 J per point, for 14 days, on alternate days). Twenty tissue samples from the cranial and caudal portions were analyzed, with standardized spectral processing and application of statistical methods for group discrimination. The results demonstrated greater molecular discrimination capacity in the cranial portion, with an overall accuracy of 77.8% in LDA classification, while the caudal portion showed lower discrimination (55.6%). Spectral analyses indicated greater preservation of structural proteins and better organization of lipid molecules in the group treated with PBM, especially in the cranial portion, evidencing a possible localized neuroprotective effect. It is concluded that FT-Raman spectroscopy was effective in detecting biochemical alterations resulting from spinal cord injury and in evaluating the therapeutic effects of photobiomodulation. The findings reinforce the potential of photobiomodulation as an adjuvant therapy in the treatment of spinal cord injury and highlight the applicability of spectroscopic analysis as a molecular monitoring tool in experimental models.

**Keywords:** spinal cord injury; photobiomodulation; FT-Raman.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Linha do tempo do histórico da evolução do conhecimento sobre lesão medular.....	22
Figura 2 – Representação esquemática das estruturas observadas no Sistema Nervoso Central.....	23
Figura 3 – Representação esquemática da Lesão Traumática e da Lesão Não Traumática.....	25
Figura 4 – Esquema demonstrativo comparativo das características da Lesão primária X Lesão Secundária.....	26
Figura 5 – Linha do tempo do histórico da invenção do laser.....	32
Figura 6 – Linha do tempo da invenção da análise de FT-Raman.....	35
Figura 7 – Esquema demonstrativo do desenho experimental da pesquisa.....	39
Figura 8 - Esquema demonstrativo dos pontos de aplicação da terapia.....	40
Figura 9 - Esquema representativo dos procedimentos cirúrgicos para indução da LM e dos protocolos de tratamento aplicados nos grupos L e PBM.....	41
Figura 10 - Esquema representativo da região de coleta e armazenamento das amostras.....	42
Figura 11 – Esquema representativo do preparo e análise das amostras das regiões cranial e caudal excisadas dos grupos L e PBM.....	43
Figura 12 – Representação esquemática do passo a passo para processamento dos espectros.....	44
Figura 13 – Análise Cluster da porção cranial dos grupos L e PBM em todo o espectro.....	48
Figura 14 – Análise de Cluster da porção cranial dos grupos L e PBM, na região de alta frequência.....	49
Figura 15 – Análise Cluster da porção cranial na região de baixa frequência.....	50
Figura 16 – Análise Cluster da porção caudal no espectro total.....	52
Figura 17 – Análise de Cluster da porção caudal na região de alta frequência.....	53
Figura 18 – Análise de Cluster da porção caudal na região de baixa frequência.....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - FT-Raman de componentes da Medula Espinhal. ....	36
Quadro 2 - Parâmetros utilizados na fotobiomodulação aplicada aos animais do grupo PBM e PBM+AM.....	40
Tabela 3 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção cranial. ....	55
Tabela 4 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção caudal. ....	57

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráficos 1 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção cranial. ....	55
Gráficos 2 - Matriz de dispersão: análise de Componentes Principais aplicada à porção caudal. ....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>SIGLA</b>	<b>NOME</b>
ATP	Trifosfato de adenosina
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
IP&D	Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
L	Lesão
LDA	Análise Discriminante Linear
LM	Lesão Medular
ME	Medula Espinhal
PBM	Fotobiomodulação
PCA	Análise de Componentes Principais
SB	Substância Branca
SC	Substância Cinzenta
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
UNIVAP	Universidade do Vale do Paraíba

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>19</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>20</b>
<b>4 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>21</b>
<b>4.1 Lesão Medular</b> .....	<b>21</b>
<i>4.1.1 Contexto histórico</i> .....	<i>21</i>
<i>4.1.2 Conhecimento Atual da Medula Espinhal</i> .....	<i>22</i>
<i>4.1.3 Lesão medular</i> .....	<i>24</i>
<i>4.1.4 Prevalência da lesão medular</i> .....	<i>26</i>
<i>4.1.5 Protocolos de Tratamento Atuais e em Desenvolvimento</i> .....	<i>28</i>
<b>4.2 Fotobiomodulação</b> .....	<b>31</b>
<i>4.2.1 Contexto histórico</i> .....	<i>31</i>
<i>4.2.2 Efeitos da Fotobiomodulação</i> .....	<i>32</i>
<i>4.2.3 Fotobiomodulação e Lesão Medular</i> .....	<i>32</i>
<b>4.3 Espectroscopia FT-Raman</b> .....	<b>33</b>
<i>4.3.1 Contexto histórico e Princípio da técnica</i> .....	<i>33</i>
<i>4.3.2 Raman e Lesão Medular</i> .....	<i>35</i>
<b>5 METODOLOGIA</b> .....	<b>38</b>
<b>5.1 Delineamento do estudo</b> .....	<b>38</b>
<b>5.2 Procedimento cirúrgico</b> .....	<b>39</b>
<b>5.3 Eutanásia e excisão dos fragmentos</b> .....	<b>42</b>
<b>5.3 Espectroscopia FT-Raman</b> .....	<b>42</b>
<b>5.4 Análise cluster e processamento dos espectros</b> .....	<b>43</b>
<b>5.5 Análise PCA e LDA</b> .....	<b>44</b>
<b>5.6 Pré-processamento dos dados</b> .....	<b>45</b>
<b>5.7 Disposição dos resultados e ilustrações</b> .....	<b>46</b>
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
<b>6.1 Análise de Cluster</b> .....	<b>47</b>
<i>6.1.1 Porção Cranial</i> .....	<i>47</i>
<i>6.1.2 Porção Caudal</i> .....	<i>51</i>
<b>6.2 Análise de Componentes Principais (PCA)</b> .....	<b>54</b>
<i>6.2.1 Porção cranial</i> .....	<i>54</i>
<i>6.2.2 Porção Caudal</i> .....	<i>56</i>
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>58</b>

<b>8 CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO A: PARECER DO CEUA .....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A lesão medular (LM) é uma lesão de elevada gravidade que acomete a medula espinhal (ME), estrutura anatômica fundamental do sistema nervoso central, responsável pela transmissão dos impulsos nervosos, motores, do cérebro para o corpo, e sensitivos, do corpo para o cérebro. A extensão do déficit funcional motor e sensitivo é diretamente proporcional à intensidade da lesão e à região neuroanatômica acometida. A etiologia da LM é diversificada, englobando eventos traumáticos, como acidentes automobilísticos, residenciais, esportivos e atos violentos, e não traumáticos, como infecções, hérnia discal e compressão tumoral (Ahuja *et al.*, 2017; Riberto *et al.*, 2023).

O mecanismo da LM é subdividido em duas fases: a primária, que consiste no dano inicial, como secção, compressão ou perfuração, e a secundária, caracterizada por uma cascata de eventos intrínsecos desencadeada pela agressão inicial, notadamente um intenso processo inflamatório local. Nesse processo, observa-se a presença de edema, recrutamento de células inflamatórias e liberação de mediadores pró-inflamatórios. Tais eventos bioquímicos e celulares exacerbam o dano tecidual, perpetuando o ciclo lesivo (Turtle *et al.*, 2019).

Diante da complexidade fisiopatológica da LM, novas estratégias terapêuticas têm sido investigadas com o objetivo de mitigar o processo inflamatório e as consequências das lesões primárias e secundárias. Dentre as abordagens, a Fotobiomodulação (PBM, na sigla em inglês) apresenta-se como ferramenta terapêutica promissora, uma vez comprovadas as suas capacidades em outros contextos (Da Cruz Tobelem *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2024).

A PBM emprega os princípios físicos da luz, que incluem componentes não visíveis do espectro eletromagnético, como o infravermelho. Essa ferramenta terapêutica tem a capacidade de desencadear uma série de mecanismos celulares e moleculares que promovem o reparo tecidual (Dompe *et al.*, 2020; Al Balah; Rafie; Osama, 2025). A interação da luz com o tecido biológico estimula fotorreceptores localizados na cadeia respiratória mitocondrial, culminando na liberação de óxido nítrico, associado ao aumento nos níveis de trifosfato de adenosina (ATP) e espécies reativas de oxigênio. Adicionalmente, o laser modula diretamente a atividade celular, como a migração e a transcrição de fatores de crescimento. Estes mecanismos

moleculares se traduzem em propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras, analgésicas, de proliferação celular, regeneração tecidual e vasodilatação, expandindo suas aplicações para o tratamento de doenças neurais, dermatológicas, regeneração tecidual, e efeitos autoimunes e cardíacos (Goldman, 1980; Hamblin, 2018; Gholami *et al.*, 2020; Khot *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2023; Razzaghi *et al.*, 2024).

Neste cenário de avaliação e comparação de protocolos de tratamento com base em seus constituintes biológicos, a espectroscopia surge como ferramenta analítica de precisão para a caracterização da composição e das propriedades de materiais orgânicos e inorgânicos (Movasaghi; Rehman; Rehman, 2007; Orlando *et al.*, 2021; Yogurtcu *et al.*, 2024). Contudo, a espectroscopia Raman fundamenta-se no espalhamento inelástico da radiação, onde a transferência de energia entre fótons e moléculas altera as propriedades espectrais (frequência e comprimento de onda) da luz incidente, permitindo a identificação de componentes específicos (Orlando *et al.*, 2021; Coutinho *et al.*, 2022).

Considerando o exposto, este estudo tem por objetivo avaliar pela espectroscopia de FT-Raman as alterações teciduais nas regiões caudal e cranial após lesão medular espinhal tratada com fotobiomodulação.

## 2 JUSTIFICATIVA

A lesão medular é uma condição devastadora que acomete o indivíduo por toda a vida, causando déficit motor e perda de funções fisiológicas, principalmente na região posterior à lesão, reduzindo a qualidade de vida, gerando problemas sociais, acarretando impactos econômicos negativos e resultando em problemas psicológicos (Ding *et al.*, 2022; Riberto *et al.*, 2023).

A lesão medular apresenta característica expansiva devido à lesão cíclica, resultando em necrose e dano tecidual, no entanto, pouco se sabe sobre as alterações no tecido medular espinhal distais ao sítio da lesão, representando uma lacuna no conhecimento sobre as alterações nas regiões proximais cranial e caudal à lesão medular (Anjum *et al.*, 2020).

Atualmente, não há intervenções ou tratamento promissores, capazes de reduzir a extensão da lesão medular ou restabelecer o funcionamento adequado das funções desempenhadas pela medula espinhal, apresentando custos reduzidos e ampla disponibilidade (Menezes *et al.*, 2010; Girão *et al.*, 2025).

Atendendo a essas premissas, a fotobiomodulação (PBM) apresenta-se como ferramenta terapêutica promissora para o tratamento de lesão medular, por ser não invasiva, reduzir o processo inflamatório, atuar na bioestimulação celular e indução do reparo tecidual, com mínimas contraindicações e baixo custo de implementação (Ando *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2021).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar, por meio da espectroscopia FT-Raman associada à análise multivariada, o perfil molecular das regiões cranial e caudal à lesão medular espinhal, possibilitando a comparação entre os grupos com e sem tratamento por fotobiomodulação

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar comparativamente os espectros Raman das regiões cranial e caudal, identificando variações em bandas atribuídas a proteínas, lipídios e componentes nucleicos.
- Evidenciar diferenças moleculares entre os grupos Lesão medular com e sem tratamento por PBM.
- Demonstrar a aplicabilidade da espectroscopia FT-Raman na avaliação das alterações moleculares do tecido nervoso em modelo experimental de lesão medular.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Lesão Medular

#### 4.1.1 Contexto histórico

O conhecimento sobre a lesão medular espinhal (LM) e seus agravos remonta a um tratado egípcio incompleto de cerca de 1600 a.C., que já associava a medula à coluna vertebral e descrevia sua função em relação aos órgãos e movimentos. O papiro relata casos clínicos traumáticos, indicando noção limitada sobre a LM e suas consequências motoras e sensoriais, diferenciando lesões parciais e completas. Os médicos egípcios realizavam diagnóstico por anamnese e exames físicos, reconhecendo sinais como rigidez, disfunção urinária e motora, e diferenciavam doenças tratáveis de incuráveis. Os tratamentos da época eram rudimentares, baseados em tentativa e erro e isentos de superstições (Hughes, 1988; Feldman; Goodrich, 1999; Van Middendorp; Sanchez; Burridge, 2010; Brawanski, 2012).

Posteriormente, Sushruta (700-600 a.C.) avançou na cirurgia, defendendo o conhecimento anatômico e práticas de higiene em saúde, e descreveu tratamentos como tração e imobilização para fraturas da coluna (Banerjee; Ezer; Nanda, 2011; Jaivarshaa GV *et al.*, 2022; Dave *et al.*, 2024; Gandhi; Patil, 2024; Qureshi; Gosain, 2024).

Hipócrates (450-600 a.C.) detalhou a anatomia da medula espinhal e coluna, defendendo o tratamento conservador, por meio de métodos como a tábua hipocrática (Panourias *et al.*, 2011; Korres *et al.*, 2017). Mais tarde, Galeno (129-200 d.C.), com experimentos em animais, correlacionou raízes nervosas com regiões do corpo, descrevendo as sequelas de LMs e utilizando tratamentos hipocráticos (Marketos; Skiadas, 1999). Por fim, Vesalius (1500 d.C.) e Paré revolucionaram o conhecimento anatômico e cirúrgico, distinguindo paralisias e aprofundando o entendimento das LMs (Montagu, 1955; Barr, 2015; Biesbrouck; Vanden Berghe, 2016; Splavski *et al.*, 2019; Xiang; Venkatesan, 2023; On *et al.*, 2025).

Figura 1 – Linha do tempo do histórico da evolução do conhecimento sobre lesão medular.

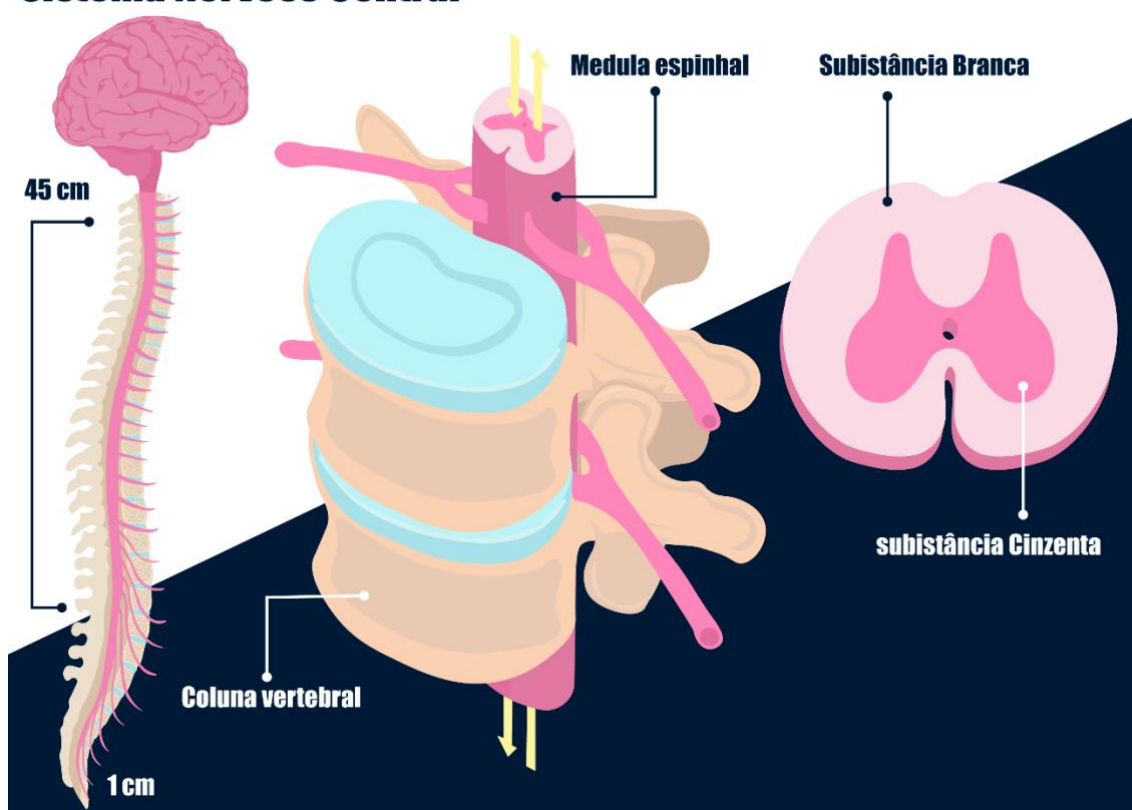


Fonte: O Autor - Desenvolvido em Inteligência Artificial, 2026.

#### 4.1.2 Conhecimento Atual da Medula Espinhal

Com o conhecimento acumulado ao longo dos séculos, compreende-se que a medula espinhal corresponde a uma porção do sistema nervoso central (SNC), protegida pelo tecido ósseo da coluna vertebral, e recoberta por 3 meninges de tecido conjuntivo, denominadas *dura mater*, *aracnoide* e *pia mater*, dispostas em camadas subsequentes. Internamente, a medula espinhal apresenta duas regiões, denominadas substância branca e substância cinzenta, e seu contorno interno remete a uma letra H, com seus lados simétricos e conectados. Anatomicamente, a substância cinzenta se divide em cornos dorsal, lateral e ventral. Fisiologicamente, a medula espinhal executa a comunicação do SNC com a periferia do organismo, transmitindo informações motoras do cérebro para as demais regiões do corpo e trazendo informações sensoriais das extremidades para o cérebro (Hermes *et al.*, 2023).

Figura 2 – Representação esquemática das estruturas observadas no Sistema Nervoso Central.



Fonte: Autor.

Com o advento da microscopia, após a invenção do microscópio ótico em 1590 por Zacharias Jansen e das técnicas de coloração histológica, foi possível identificar estruturas celulares microscópicas, que, por sua vez, constituem a arquitetura tecidual que, macroscopicamente, apresenta tons distintos de cinza e branco (Souza, 2023). Dentre as células que compõem o tecido medular, estão neurônios e células da glia, entre as quais astrócito, oligodendrócito, micróglia e célula endotelial. Com o desenvolvimento de estudos na biologia celular, foi se construindo o conhecimento das funções de cada célula. O neurônio, principal célula do SNC, é responsável por gerar e transmitir os impulsos nervosos, controlando e processando informações motoras e sensoriais. Os astrócitos desempenham a função de sustentação e nutrição nesse tecido, enquanto a micróglia é responsável pela defesa e fagocitose. Os oligodendrócitos produzem a mielina, bainha lipoproteica que reveste os axônios neuronais, formando uma bainha protetora que facilita e acelera a transmissão do impulso nervoso, ou potencial de ação. Por último, observam-se as células endoteliais, que revestem as cavidades do tecido nervoso e produzem o líquido cefalorraquidiano, responsável pelo transporte de substâncias por difusão, além de

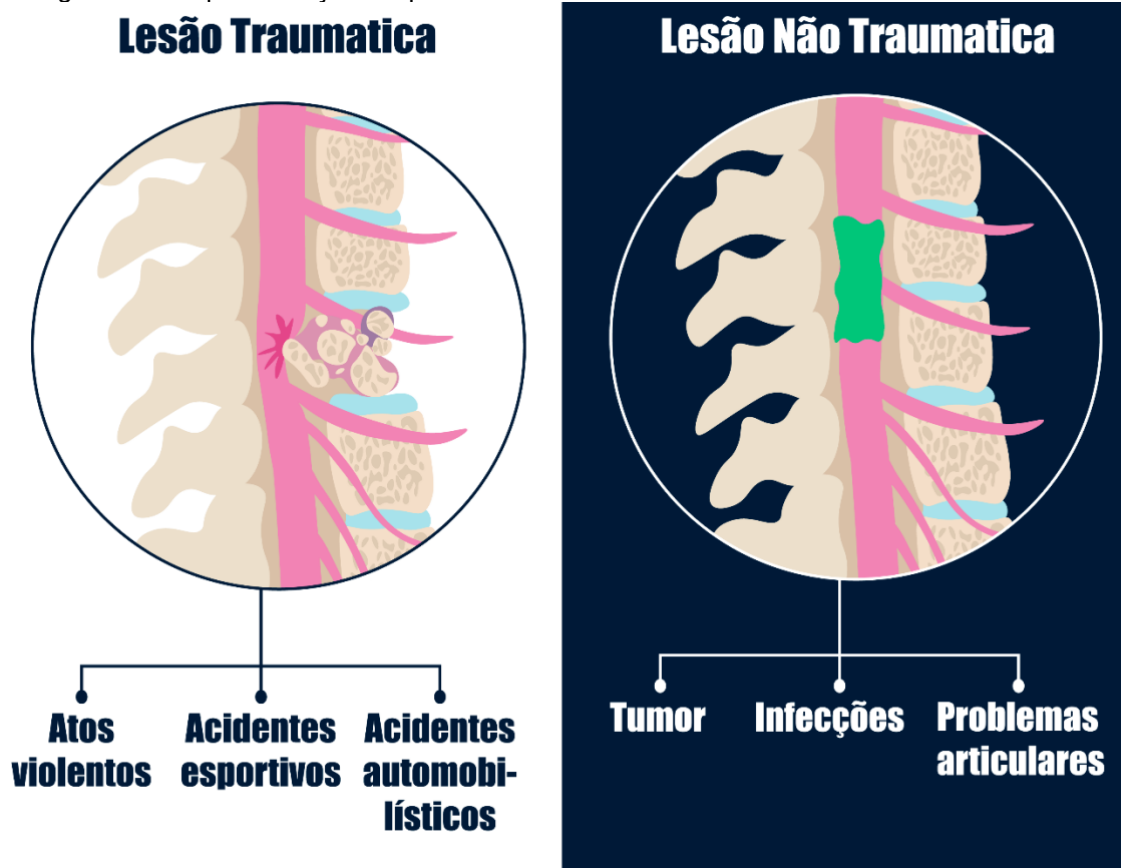
atuar no amortecimento de impactos (O'Shea *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2023; Skinnider *et al.*, 2024).

Com os avanços tecnológicos e o desenvolvimento de novos métodos, foi possível identificar os componentes da medula espinhal, e sua distribuição nas substâncias branca e cinzenta, que atuam e auxiliam na manutenção e bom funcionamento dessa fundamental estrutura. Estudos evidenciaram que a medula espinhal é composta por proteínas (na membrana celular ou solúveis no tecido), lipídeos (na membrana celular ou na bainha de mielina), ácidos nucleicos (DNA e RNA) presentes no núcleo celular, e íons, como sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloreto. A espectroscopia é uma ferramenta óptica que permite a identificação desses componentes, possibilitando, entre outras ações, o monitoramento de alterações moleculares no tecido medular (Wang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2019; Lu *et al.*, 2024).

#### **4.1.3 Lesão medular**

A lesão medular é definida como dano na medula espinhal, que interfere na sua função de forma temporária ou permanente. Sua origem pode ser traumática ou não traumática, sendo que a lesão traumática ocorre quando uma lesão física ocorre, podendo ser resultado de acidentes automobilísticos, domésticos, esportivos e atos de violência. Por sua vez, a lesão não traumática pode ser resultado de tumores, infecções e problemas articulares da coluna vertebral (Ahuja *et al.*, 2017; Riberto *et al.*, 2023).

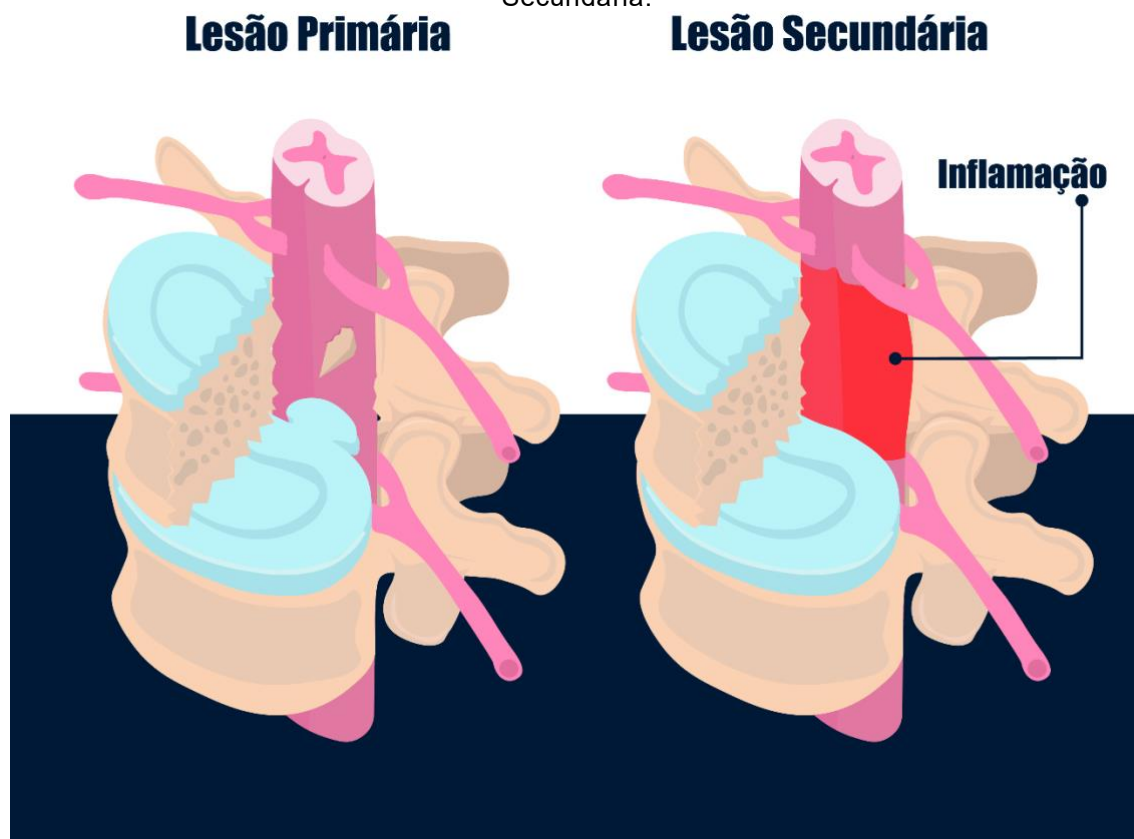
Figura 3 – Representação esquemática da Lesão Traumática e da Lesão Não Traumática.



Fonte: Autor.

A fase inicial da lesão medular é caracterizada pela ruptura mecânica e danos às células do tecido medular, iniciando uma cascata de eventos complexos decorrente do trauma, denominada lesão primária. A lesão secundária é resultado do processo inflamatório intenso, hemorragia, formação de edema local, liberação de mediadores químicos pró-inflamatórios e recrutamento de células de defesa. Este mecanismo de natureza endógena, juntamente com as alterações bioquímicas do tecido medular, resulta, ciclicamente, na morte de neurônios e células da glia, causando eventos repetidos de isquemia e necrose tecidual, que se apresentam, na análise histológica, pela presença de microcavidades e cavidades císticas (Turtle *et al.*, 2019).

Figura 4 – Esquema demonstrativo comparativo das características da Lesão primária X Lesão Secundária.



Fonte: Autor.

A lesão mecânica primária e a lesão secundária expansiva culminam em déficit motor e sensorial, podendo resultar em paraplegia e tetraplegia, a depender do nível da medula espinhal acometido pela agressão. A lesão medular tem grande predominância em jovens adultos, do sexo masculino e em fase economicamente ativa, estando associada à perda da capacidade de movimentos e sensibilidade. Essas sequelas podem resultar em disfunção fisiológica, com comprometimento vascular, muscular, desregulação neuroendócrina e perda óssea, com custos elevados em saúde, e danos psicológicos, decorrentes de problemas financeiros e queda na qualidade de vida (Ding *et al.*, 2022; Riberto *et al.*, 2023).

#### **4.1.4 Prevalência da lesão medular**

No Brasil, se estima que 130 mil pessoas, anualmente, vão a óbito devido ao trauma medular, e que 45 mil pessoas apresentam acometimentos graves devido à

lesão medular. Entre os sinais e sintomas característicos desse agravo estão dificuldade em deambular, falar, se alimentar de forma independente, estudar e trabalhar. Atos violentos e acidentes automobilísticos são os motivos prevalentes associados à lesão medular nesse país (Brasil, 2015).

O traumatismo na região da coluna vertebral corresponde a 0,2% das internações hospitalares no Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil. Acidentes automobilísticos, acidentes por mergulho e ferimentos por projéteis de arma de fogo estão entre as causas que se destacam na origem da lesão medular. No geral, homens entre 20 e 29 anos compõem a faixa etária prevalentemente afetada pela LM, sendo incalculável o prejuízo causado. Esse grupo é constituído por público economicamente ativo, com grande potencial de mão de obra, que, além de ficarem afastados do mercado de trabalho pela reduzida disponibilidade de vagas inclusivas, gera despesas exorbitantes aos sistemas de saúde, impactando negativamente na economia em diversos setores (Riberto *et al.*, 2023).

A elevada taxa de distribuição das causas da injúria ao tecido nervoso está relacionada a países emergentes, afetando, majoritariamente, homens jovens adultos em fase economicamente ativa, prevalentemente homens socioeconomicamente desfavorecidos, sendo que, anualmente, 0,2% das internações do Sistema Único de Saúde (SUS) decorre de trauma na coluna vertebral (Ahuja *et al.*, 2017; Riberto *et al.*, 2023).

Em 2019, se estima que, globalmente, a lesão medular tenha acometido em torno de 0,9 milhões de casos novos, além do total de 20,6 milhões de casos já registrados de pessoas acometidas por esse agravo. Observou-se aumento expressivo em regiões em desenvolvimento, associando as causas da LM a regiões com infraestrutura deficiente, alta criminalidade ou ausência de medidas públicas eficientes para reduzir os casos de lesão medular. No cenário global, homens idosos foram impactados em maior grau, prevalentemente, devido à elevada taxa de envelhecimento da população (Ding *et al.*, 2022).

São, também, relevantes as consequências psicológicas consequentes à LM. Os indivíduos afetados por esta condição apresentam perspectivas distintas. No entanto, os sentimentos sempre citados são a depressão, a ansiedade e a desesperança (Bampi; Guilhem; Lima, 2008; Gibbs *et al.*, 2019; Santana; Rebellato, 2022).

#### **4.1.5 Protocolos de Tratamento Atuais e em Desenvolvimento**

Segundo o Ministério da Saúde, o atual manejo da lesão medular se inicia com a imobilização do paciente e realização de exames de imagem, seguido da tração da coluna, caso seja necessária, e imobilização do paciente. Uma vez que a compressão da medula é diagnosticada, os procedimentos cirúrgicos se limitam a corpectomia e/ou discectomia para alívio da compressão na área da lesão. Procedimentos cirúrgicos são necessários para correção das estruturas anatômicas e, embora seja frequente a administração de metilprednisolona, não se recomenda essa conduta imediatamente após a injúria, não sendo indicada a administração de anti-inflamatórios no pós-operatório e integrando o protocolo atual de tratamento da lesão medular (Brasil, 2015).

- **Terapia Medicamentosa**

Inúmeras terapias medicamentosas são administradas devido à alta disponibilidade no mercado e diversos protocolos de utilização, incluindo anti-inflamatórios não esteroidais, corticoides e corticosteroides. Estes medicamentos atuam diminuindo o processo inflamatório no período inicial pós-lesão medular. No entanto, o uso de fármacos não se mostrou eficaz, tanto na redução das sequelas decorrentes da LM quanto na contenção de sua progressão (Pointillart *et al.*, 2000).

- **Fisioterapia**

Os avanços na utilização da fisioterapia, como alternativa no manejo da LM, indicam que essa abordagem é adequada no restabelecimento dos mecanismos motores e sensitivos das funções do corpo, de forma parcial, por proporcionar adaptações ao paciente. A restauração motora da fisioterapia se torna refém do local da lesão e da intensidade da destruição tecidual e não fornece suporte para diminuir o dano instalado ou reconstituir o tecido lesionado. Suas ferramentas incluem eletroestimulação e exercícios manuais, atuando na função de reestruturação neuronal devido à neuroplasticidade do sistema nervoso central (SCANDOLA *et al.*, 2019).

- **Cirurgias**

As intervenções cirúrgicas são relatadas na literatura como uma etapa crucial para correção das estruturas anatômicas e reconstrução após acidentes para retorno da normalidade. Entre as técnicas mais utilizadas citam-se a descompressão da medula espinhal, laminectomia e remoção de fragmentos ósseos e artefatos de corpo estranho presentes na região medular ou nas proximidades, atuando apenas como método corretivo e não na contenção da lesão secundária (Brasil, 2015).

Considerando que os atuais tratamentos têm por objetivo apenas a restauração das estruturas anatômicas, sem atuar na preservação do microambiente tecidual lesionado, os danos e limitações orgânicas e funcionais desses pacientes se potencializam, com reflexos econômicos, que incluem elevados custos de tratamento e a incapacidade do indivíduo de reassumir suas funções de forma autônoma, gerando prejuízos pessoais e financeiros incalculáveis.

Estudos experimentais buscam encontrar formas efetivas de tratar ou reduzir as devastadoras sequelas geradas pela lesão medular, como os publicados por Brasil, 2015, Zhong *et al.*, 2020 e Riberto *et al.*, 2023. Novas linhas de pesquisa para tratamento de LM incluem as opções descritas a seguir:

- **Andaimes (*scaffold*)**

A utilização de andaimes, *scaffolds*, no tratamento de LM apresenta vantagens que vêm sendo bem exploradas. Os *scaffolds* podem ser sintéticos, naturais ou biológicos e apresentam como benefício facilitar a adesão celular proporcionando a proliferação de células. Na lesão medular essa tecnologia pode carrear células, fármacos ou servir como substrato na proteção do tecido e no próprio desenvolvimento do tecido medular. Pesquisas relataram resultados promissores na implementação desta tecnologia, sendo isolada ou em conjunto com outras técnicas. A fase de implementação dessa técnica ainda não foi estabelecida, com variação associada às diferentes fases do processo lesivo (Schizas *et al.*, 2014; Saremi *et al.*, 2022; Girão *et al.*, 2025; Lima *et al.*, 2026).

- **Terapia celular**

A terapia celular, aplicada como forma de tratamento da lesão medular, apresenta vantagens de obtenção de material endógeno do próprio paciente, e os resultados até então obtidos na redução da lesão medular são promissores. No entanto, a terapia celular demonstra ineficiência quando aplicada em lesões medulares em estágios crônicos, requerendo ainda prolongado tempo de processamento e custos elevados para sua aplicação (Matyas *et al.*, 2017; Saremi *et al.*, 2022).

- **Exossomos**

Esta nova abordagem se baseia na utilização da aplicação de vesículas celulares contendo fatores de crescimento e outros mediadores químicos. Esta técnica evidenciou a eficiência no uso de fatores químicos endógenos no tratamento de lesão medular para redução do processo inflamatório agudo. No entanto, não demonstrou eficiência significativa em lesões já instaladas e cronificadas. Um importante ponto, que desfavorece a utilização dessa técnica é a falta de padronização e de uniformidade das vesículas utilizadas (Zhong *et al.*, 2020).

- **Fotobiomodulação**

A fotobiomodulação tem apresentado resultados promissores no tratamento alternativo da lesão medular, que incluem a forma não invasiva de aplicação dessa ferramenta terapêutica. No entanto, a grande variedade na dosimetria utilizada dificulta sua reprodutibilidade ou a aplicação clínica. Além disso, apresenta grande variabilidade quanto à sua implementação, podendo atuar tanto na fase aguda e imediata, quanto nas fases crônicas e tardias. (Paula, 2011; Carvalho *et al.*, 2015; Veronez *et al.*, 2017; Shuaib; Bourisly, 2018; Correia *et al.*, 2025).

- **Polilaminina**

A polilaminina, uma proteína utilizada como tratamento na lesão medular apresenta resultados promissores em aplicações em animais de experimentação e clinicamente em humanos. Esta tecnologia ganhou notoriedade após a divulgação de resultados positivos em lesões completas, com o retorno da função motora de

pacientes com lesões agudas (Menezes *et al.*, 2010; Menezes *et al.*, 2024; Chize *et al.*, 2025).

## **4.2 Fotobiomodulação**

### **4.2.1 Contexto histórico**

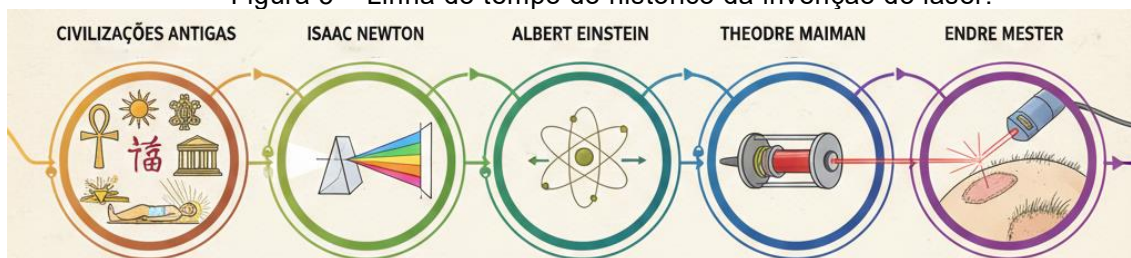
A utilização de energia eletromagnética, espectro da luz visível e espectro não visível, como forma de tratamento apresenta grande potencial na bioestimulação e reparo tecidual, expondo propriedades que podem ser usadas como aliadas no combate à lesão medular (Stevens *et al.*, 2025).

Relatos indicam que a utilização da luz solar por civilizações egípcias, chinesas, hindu-antigas, gregas e medievais foi utilizada para o tratamento de inúmeras enfermidades. Mesmo com instrumentos arcaicos e sem o conhecimento da física ótica, estas civilizações já haviam desenvolvido a noção da luz e dos efeitos benéficos da interação da luz com sistemas biológicos (Grzybowski; Sak; Pawlikowski, 2016).

Deste modo, foi apenas em 1666 que se obtiveram conhecimentos científicos a respeito da luz, em que Isaac Newton realizou experimentos com um prisma, mostrando que a luz branca pode ser fragmentada em um espectro de cores (Newton, 1671).

Apenas em 1917, Albert Einstein desenvolveu a ideia de emissão estimulada de radiação, que posteriormente foi utilizada como base teórica para o desenvolvimento do laser (Kleppner, 2005; Straumann, 2017). Por fim, em 1960, o primeiro laser, desenvolvido por Theodore Maiman, utilizava um laser de rubi que emitia um feixe de luz com características colimadas, coerentes e alta intensidade luminosa, que permitiu expandir estudos na área da saúde. Em 1967, Endre Mester reproduziu um estudo experimental testando a capacidade da aplicação do laser de baixa intensidade para induzir o tratamento de câncer. Observou que o laser não pulverizou a célula cancerígena, porém, na região em que havia sido realizada a tricotomia nos animais e a aplicação do laser, houve aumento na taxa de crescimento de pelos, relatando pela primeira vez o que no futuro viria a ser a fotobiomodulação (Gross; Herrmann, 2007; Hecht, 2010; Mester; Mester, 2017).

Figura 5 – Linha do tempo do histórico da invenção do laser.



Fonte: O autor - Desenvolvido em Inteligência Artificial, 2026.

#### 4.2.2 Efeitos da Fotobiomodulação

A fotobiomodulação (PBM), desencadeada pela emissão do laser, resulta na ativação de uma série de mecanismos celulares e moleculares benéficos para o processo de reparo tecidual. O contato do laser com o tecido biológico estimula os fotorreceptores presentes na cadeia respiratória, atuando sobre o transporte de elétrons na mitocôndria, liberando óxido nítrico, aumentando os níveis de trifosfato de adenosina (ATP) e espécies reativas de oxigênio. Ainda, o laser atua diretamente na atividade celular favorecendo a migração celular e transcrição de fatores de crescimento. Esses mecanismos refletem diretamente nas propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras, analgésicas, proliferativas, regenerativas e vasodilatadoras. Dentre as suas aplicações estão os tratamentos de doenças neurais, na área dermatológica, indução da cicatrização de feridas, bem como efeitos positivos em doenças autoimunes e cardíacas (Feitosa *et al.*, 2015; Hamblin, 2018; Al Balah; Rafie; OSAMA, 2025; Dompe, 2020; Gholami *et al.*, 2020; Ramezani *et al.*, 2020; Khot *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2023; Razzaghi *et al.*, 2024; Al Balah, 2025).

#### 4.2.3 Fotobiomodulação e Lesão Medular

A fotobiomodulação, relacionada com a medula espinhal, já havia sido pensada por volta de 1990 por Rochkind, sem o relato específico da lesão medular. Seu estudo relatou o tratamento de nervo ciático com reflexos proliferativos na análise do tecido medular, evidenciando a influência do laser no metabolismo energético sistêmico. Os estudos evidenciando a lesão medular com modelos clássicos de lesão, foram publicados no início dos anos 2000. As intervenções clínicas tiveram início em 1991, com a aplicação da fotobiomodulação intraoperatória, de forma invasiva, para auxiliar

o processo de recuperação do tecido medular em cirurgia corretiva de má formação da medula espinhal (Rochkind *et al.*, 1991).

Aplicações transcutâneas, de forma não invasiva, como forma clássica de tratamento complementar da lesão medular com fotobiomodulação, começaram a ganhar notoriedade em 2005, com o estudo de Byrnes, estipulando um protocolo inicial para a fotobiomodulação aplicada à lesão medular. Recentemente os estudos com a fotobiomodulação progrediram exponencialmente, permitindo avanços na avaliação dos efeitos moleculares e celulares de forma isolada ou sistêmica, relatando mudanças na expressão genica após tratamento de LM com fotobiomodulação. Foram relatadas vias de sinalização, ação da bioenergética, imunomodulação e modulação celular, relacionando com os efeitos analgésicos e antiinflamatórios do laser, efeitos anteriormente não elucidados (Rochkind; Vogler; Barr-Nea, 1990; Rochkind *et al.*, 1991; Byrnes *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2022; Correia *et al.*, 2025; Stevens *et al.*, 2025).

### **4.3 Espectroscopia FT-Raman**

Neste contexto, partindo da necessidade de avaliar e comparar diferentes métodos de tratamento com base nos seus constituintes biológicos, surge a análise espectroscópica, ferramenta de precisão que permite avaliar as propriedades e composição de distintos materiais, tanto orgânicos quanto inorgânicos. Esta análise consiste em diferenciar a composição química da amostra com base na sua interação com um feixe de laser e na diferença de energia entre os fótons incidentes e espalhados (Shift Raman), relacionada às vibrações moleculares (Movasaghi; Rehman; Rehman, 2007; Orlando *et al.*, 2021; Yogurtcu *et al.*, 2024).

#### **4.3.1 Contexto histórico e Princípio da técnica**

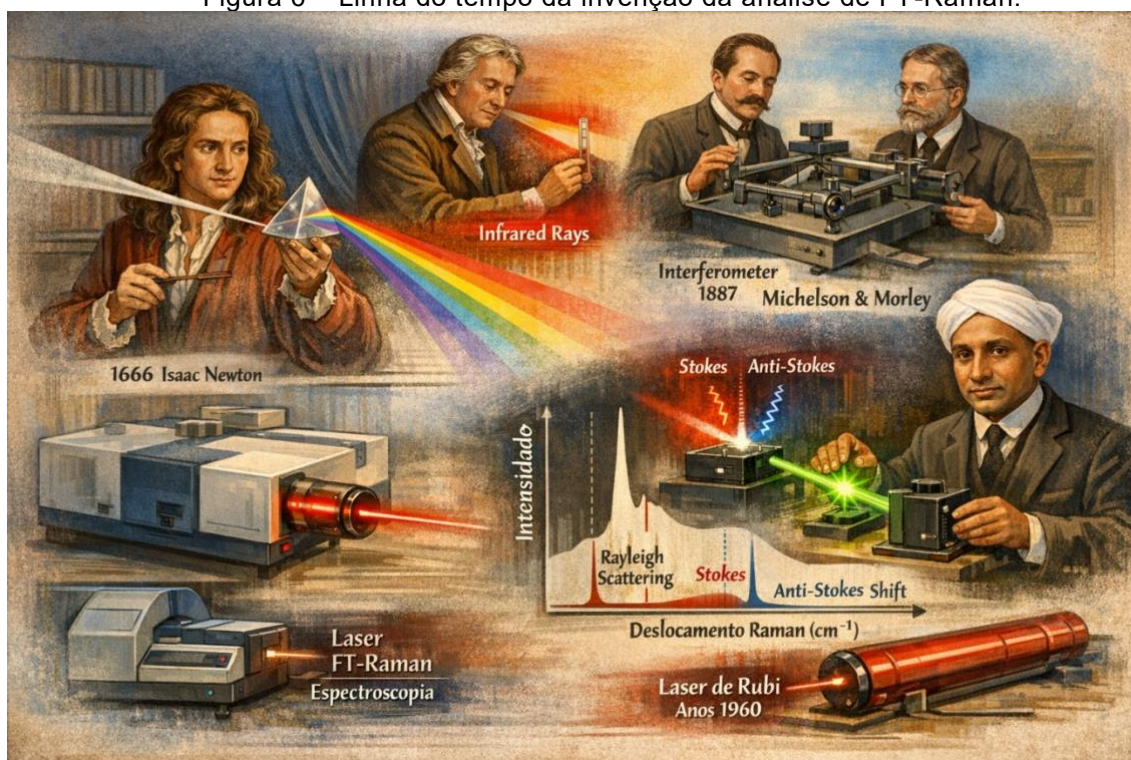
Assim como na trajetória do desenvolvimento do laser, para o avanço tecnológico no desenvolvimento da espectroscopia por FT-Raman, o estudo de Isaac Newton, de 1666, foi essencial para compreender a interação da luz com a matéria e seus comprimentos de onda fragmentados pelo prisma. William Herschel, em seu estudo publicado em 1800 sobre a refração dos raios invisíveis do sol, relatou pela

primeira vez a existência de componentes não visíveis da luz, como o infravermelho (Fara, 2015; Newton, 1671; Herschel, 1800).

Em 1887, Albert A. Michelson e Edward W. Morley, desenvolveram o que futuramente seria o interferômetro, tecnologia central para o princípio e funcionamento de espectroscopia atual (Michelson; Morley, 1887). O efeito Raman foi descoberto apenas em 1928, por Chandrasekhara Venkata Raman, que teve por objetivo provar o efeito do espalhamento inelástico da luz. Ao longo de sua trajetória, Raman questionou o efeito observado na cor azul do mar Mediterrâneo e associou os efeitos da luz com propriedades do efeito Compton, descoberta por Arthur Compton, até que em 1928, Raman conseguiu provar o efeito que futuramente lhe renderia um prêmio Nobel de Física. O espalhamento inelástico da luz, relatado por Raman, envolve a mudança de energia dos fótons incidentes com as moléculas (Krishnan; Shankar, 1981; Pînzaru; Kiefer, 2018; Orlando *et al.*, 2021; Coutinho *et al.*, 2022).

A interação dos fótons com a matéria pode resultar na perda ou ganho de energia, com conseqüente alteração da frequência e do comprimento de onda. Esta mudança nas propriedades da luz incidente está diretamente relacionada com a vibrações e rotação da molécula, e com esse princípio se consegue identificar cada componente e ligação química com base no espalhamento inelástico da luz, permitindo a identificação de componentes e ligações químicas específicas. Os equipamentos de análise por espectroscopia Raman ganharam notoriedade após 1960, com a adição da excitação por laser, após a invenção do laser de rubi (Krishnan; Shankar, 1981; Pînzaru; Kiefer, 2018; Orlando *et al.*, 2021; Coutinho *et al.*, 2022).

Figura 6 – Linha do tempo da invenção da análise de FT-Raman.



Fonte: O autor - Desenvolvido em Inteligência Artificial, 2026.

#### 4.3.2 Raman e Lesão Medular

Os primeiros estudos da aplicação da técnica para análise do tecido nervoso datam de 1985, porém sem referir diretamente ao tecido medular, relatando a composição de nervos periféricos, similares à composição lipídica do tecido presente no sistema nervoso central. Os estudos utilizando especificamente o tecido medular foram publicados por volta de 2005, analisando bainha de mielina e composição lipídica em tecido medular de ratos vivos sem a fixação do tecido. Embora não fossem tecidos humanos, estes estudos já corroboravam os próximos achados de diferentes autores para o agrupamento dos resultados e caracterização da composição do tecido nervoso. Estudos posteriores expandiram significativamente o conhecimento, observando a progressão temporal da lesão e alteração da composição tecidual, validando os métodos de tratamento. Por meio das ligações químicas, foram identificadas as biomoléculas indicadas no Quadro 1 (Pézolet; Georgescauld, 1985; Wang *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2016; Picardi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2022).

Quadro 1 – Biomoléculas presentes no tecido da medula espinhal detectados pela análise por FT-Raman.

Biomoléculas	Ligações	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
Proteína Lipídeo	Estiramento C-H	3100 cm <sup>-1</sup> a 2800 cm <sup>-1</sup> (WANG et al.,2005)
Amida I	Estiramento C=O Alfa hélice e folha beta	1670cm <sup>-1</sup> a 1656 cm <sup>-1</sup> (WANG et al.,2016)
Heme-porfirina	Estiramento assimétrico Ca-Cm (Carbono Metínico)	1580 cm <sup>-1</sup> a 1550 cm <sup>-1</sup> (LI et al.,2019)
Amida II	Estiramento C-N flexão (ligação) N-H	1575 cm <sup>-1</sup> a 1540 cm <sup>-1</sup> (LU et al.,2024)
Proteína Lipídeo	CH2 CH3 deformação em tesoura	1450 cm <sup>-1</sup> a 1440 cm <sup>-1</sup> (GALLI et al.,2012)
Amida III	Estiramento C-N e flexão N-H	1375 cm <sup>-1</sup> a 1200 cm <sup>-1</sup> (SAXENA et al.,2011)
Glicosaminoglicanos	Deformação C-H	1343 cm <sup>-1</sup> (LI et al.,2019)
Proteína Lipídeo	CH2 CH3 torção	1300 cm <sup>-1</sup> a 1298 cm <sup>-1</sup> (WANG et al.,2016)
Esqueleto lipídico	C-C	1130 cm <sup>-1</sup> a 1063 cm <sup>-1</sup> (PÉZOLET et al.,1985)
DNA/RNA	Grupo fosfodioxy PO2-	1097 cm <sup>-1</sup> a 1060 cm <sup>-1</sup> (WANG et al.,2016)
Fenilalanina	Anel simétrico (C-C)	1003 cm <sup>-1</sup> (PICARDI et al.,2018)
Hidroxiprolina	Estiramento C-C	879 cm <sup>-1</sup> (MOVASAGHI et al.,2007)
DNA RNA	Estiramento fosfodiester O-P-O	828 cm <sup>-1</sup> a 811 cm <sup>-1</sup> (MOVASAGHI et al.,2007)
Heme	Estiramento assimétrico do esqueleto de carbono C-C	753 cm <sup>-1</sup> a 750 cm <sup>-1</sup> (LI et al.,2019)
Tirosina	Torção e e C-C e Estiramento C-S	643 cm <sup>-1</sup> (WANG et al.,2016)
Glicosaminoglicanos	Deformação C-OH	617 cm <sup>-1</sup> (LI et al.,2019)

Fonte: Autor.

Diante da complexidade da cascata inflamatória na lesão medular e da busca por terapias que favoreçam o reparo tecidual, como a fotobiomodulação (PBM), torna-se imprescindível a utilização de ferramentas analíticas que monitorem a evolução molecular do tecido lesionado. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar, por meio da espectroscopia FT-Raman, o perfil molecular do tecido nervoso central nas regiões cranial e caudal à lesão medular espinhal em animais tratados com PBM, comparado ao grupo lesão não tratada. Especificamente, buscou-se analisar as variações espectrais de componentes fundamentais, como DNA, proteínas e lipídeos, visando evidenciar a eficácia da técnica FT-Raman como método sensível para a detecção de alterações bioquímicas e para a validação dos efeitos terapêuticos da fotobiomodulação no microambiente medular.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Delineamento do estudo

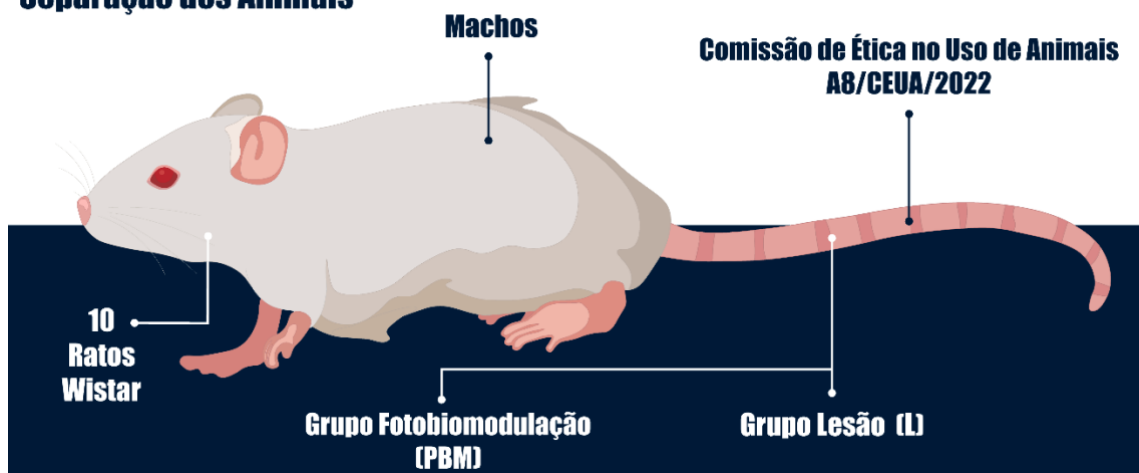
O presente estudo foi conduzido em conformidade com os princípios éticos e recebeu aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (A8-CEAU-2022). A pesquisa foi integralmente realizada nas dependências do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), utilizando o biotério de passagem, a Central Analítica de Multiusuário e os laboratórios de Bioestimulação e Reparo Tecidual, de Nanossensores e de Histologia e Terapia Regenerativa.

Para o presente estudo, foram utilizados 10 ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*), machos, com 60 dias de idade e peso corporal médio de  $230 \pm 20$  g. Os animais foram recebidos nas instalações do biotério onde foram submetidos a um período de aclimação, permanecendo alojados nesse ambiente ao longo de todo o decorrer da pesquisa. Durante este período, os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno com tampa respirável, em rack ventilado com espaço para 12 gaiolas. Os animais tiveram acesso à ração e à água *ad libitum*. As condições ambientais foram controladas, mantendo um ciclo circadiano com iluminação artificial em regime claro/escuro (12h/12h) e temperatura monitorada de 23 °C.

Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais (n = 5 por grupo), descritos a seguir: Lesão (L)- abertura dos tecidos moles, excisão dos processos espinhosos entre T9-T10, exposição da medula espinhal e execução da lesão medular; Fotobiomodulação (PBM) no qual foram realizados os procedimentos cirúrgicos descritos para o Grupo L, seguidos da aplicação da fotobiomodulação em dois pontos ao longo da extensão da sutura, um ponto na extremidade inicial e outro na extremidade final da sutura cirúrgica (Figura 7).

Figura 7 – Esquema demonstrativo do desenho experimental da pesquisa.

### **Separação dos Animais**



Fonte: Autor.

## **5.2 Procedimento cirúrgico**

Os procedimentos cirúrgicos foram iniciados com a administração de protocolo anestésico composto por Cetamina (50 mg/kg), Xilazina (5 mg/kg) e Acepran (0,01 mg/kg), seguido de sedação por inalação de isoflurano a 1,5% diluído em O<sub>2</sub> (100%). Após confirmação do plano anestésico, foi realizada a tricotomia da região dorsal do animal e a marcação da região torácica seguida da antissepsia com solução de isopolvidona. Os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre manta térmica para controle da temperatura corporal, sendo aplicada máscara nasal para manutenção do plano anestésico.

Em seguida, foi executada a incisão dorsal, com abertura da pele, divulsão dos tecidos moles e da musculatura dorsal. Após a exposição da coluna vertebral, realizou-se a laminectomia entre as vértebras T9 e T10 para expor a medula espinhal.

A execução da LM nos animais foi realizada por contusão, induzida por meio do impacto de um peso de 10 g, suspenso em mini guilhotina, liberado em queda livre de uma altura de 12,5 cm, sobre a medula espinhal exposta, e mantido nesse local por 20 segundos. A seguir, o peso foi retirado, a musculatura foi suturada com fio de sutura absorvível e a pele suturada com fio de seda.

Por sua vez, nos animais do grupo PBM, após a indução da LM, foi aplicada a fotobiomodulação, na área próxima à região lesionada, utilizando equipamento Therapy EC (DMC, São Carlos- Brasil), seguindo o protocolo apresentado no Quadro

2: 100 mW de potência, comprimento de onda 808 nm, 2 J, 2 pontos, um cranial e outro caudal à lesão medular (Figura 8). A PBM foi aplicada imediatamente após a sutura dos tecidos, e administrada em dias alternados ao longo de um total de 14 dias (Figura 9).

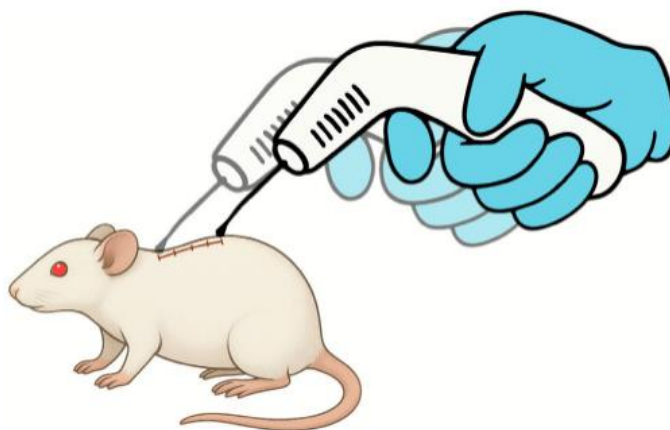
Quadro 2 - Parâmetros utilizados na fotobiomodulação aplicada aos animais do grupo PBM.

**PARÂMETROS**

<i>Equipamento</i>	LASER (DMC, modelo Therapy EC)
<i>Densidade de energia</i>	71,5 J/cm <sup>2</sup> ,
<i>Potência</i>	100 mW
<i>Comprimento de onda</i>	808 nm (Infravermelho)
<i>Área do feixe</i>	0,028 cm <sup>2</sup>
<i>Tempo por ponto irradiado</i>	20 s (por ponto)
<i>Número de pontos</i>	2
<i>Periodicidade</i>	Dias alternados
<i>Densidade de potência</i>	3,6 W/cm <sup>2</sup>
<i>Energia por ponto</i>	2 J
Número de pontos	2
Energia total	4J
Forma de irradiação	Contato
<i>Modo de irradiação</i>	Contínuo

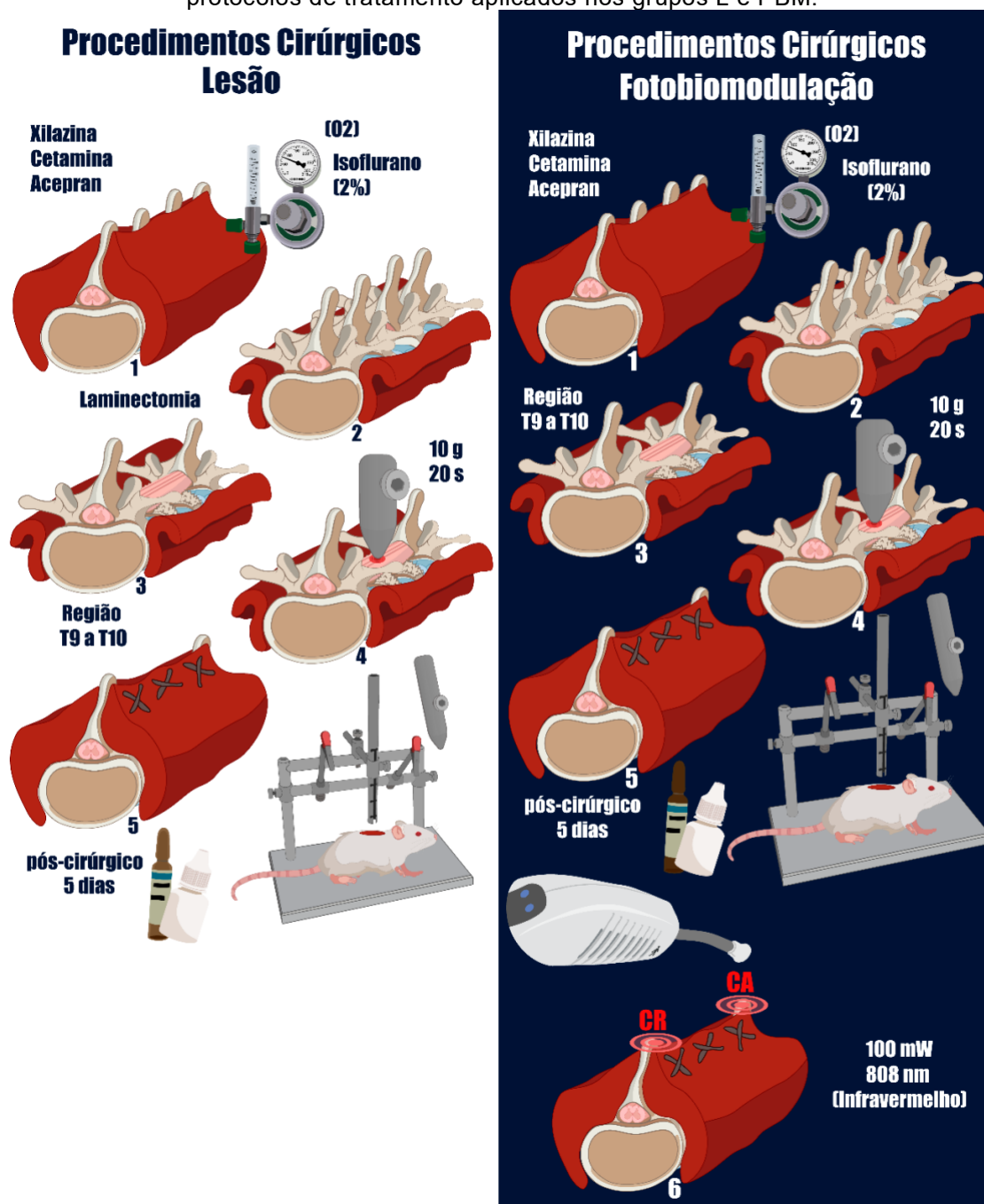
Fonte: Autor.

Figura 8 - Esquema demonstrativo dos pontos de aplicação da terapia.



Fonte: Correia *et al.* (2025).

Figura 9 - Esquema representativo dos procedimentos cirúrgicos para indução da LM e dos protocolos de tratamento aplicados nos grupos L e PBM.



Fonte: Autor.

Ao final do procedimento cirúrgico, foram administrados os fármacos: antibiótico (Pentakel, 0,01 ml/Kg, intramuscular, dose única, imediatamente após a cirurgia); analgésicos (Cloridrato de Tramadol, 5 mg/kg, intramuscular, intervalos de 12h, por 5 dias) e dipirona (20mg/kg, oral, intervalos de 12h, por 5 dias).

### 5.3 Eutanásia e excisão dos fragmentos

Todos os animais foram eutanasiados 14 dias pós-lesão medular, e excisados fragmentos situados a 1 cm da área da medula espinhal lesionada, nos sentidos cranial e caudal, em relação ao centro da lesão (Figura 9). Os espécimes coletados foram armazenados em recipientes devidamente identificados e as amostras conservadas em um freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Figura 10 - Esquema representativo da região de coleta e armazenamento das amostras.



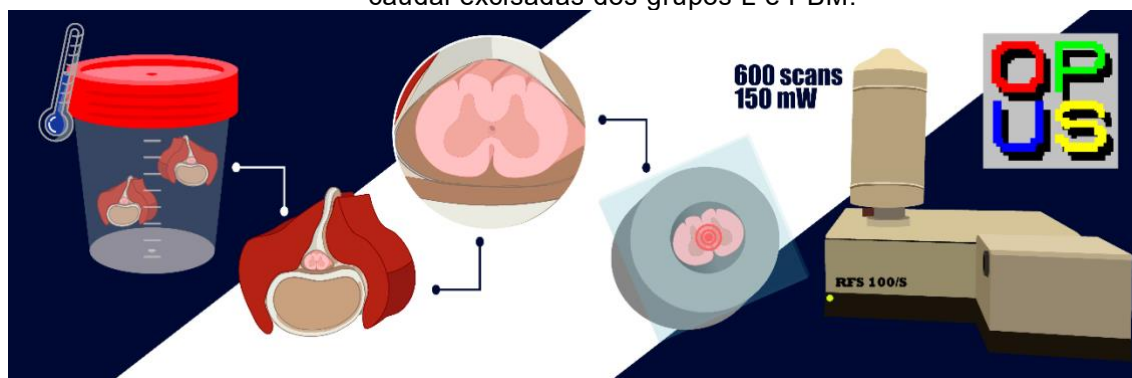
Fonte: Autor.

### 5.3 Espectroscopia FT-Raman

Para a análise por espectroscopia FT-Raman foram selecionadas 20 amostras da medula espinhal, sendo 10 da porção cranial e 10 da porção caudal, com 5 amostras da porção cranial e 5 da caudal, de ambos os grupos, L e PBM. Para esta análise, os fragmentos excisados foram aclimatados em temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e o tecido da medula espinhal rapidamente extraído do tecido ósseo da coluna vertebral. O tecido medular foi transferido para um porta-amostra de alumínio e recoberto com uma lamínula de vidro para evitar sua desidratação durante a análise. A leitura espectral foi realizada em espectrofotômetro FT-Raman Bruker (RFS-100/S, 1064-nm Nd:YAG), com o laser incidente no centro da amostra, utilizando 600 scans por amostra, com potência de 150 mW, resultando em um total de 12 mil varreduras acumuladas por região. Os espectros obtidos foram processados no software de

espectroscopia Opus, versão 4.2, para subsequente análise e interpretação dos dados.

Figura 11 – Esquema representativo do preparo e análise das amostras das regiões cranial e caudal excisadas dos grupos L e PBM.



Fonte: Autor.

#### 5.4 Análise cluster e processamento dos espectros

Para análise de cluster, os espectros foram salvos de forma compatível com o *software* Opus, sendo, posteriormente, selecionados os espectros das regiões cranial e caudal, isoladamente, dos grupos L e PBM e carregados no software. Após a importação dos espectros, na aba de análise de cluster, foram avaliados os dados para verificar em qual região do espectro o conjunto de dados agrupava e como se apresentava essa distribuição em diferentes regiões dos espectros.


Para o processamento dos espectros, os dados foram transferidos para o programa OPUS e, após a importação, todos os espectros foram selecionados e adequados para análise. O processamento teve início com o *smooth* de 25 de parâmetro de intensidade, com posterior normalização utilizando o parâmetro de *vector normalization*. Ao final do processamento dos espectros, o *baseline correction* foi realizado com o parâmetro de *rubberband correction* selecionado, concluindo-se o processamento após essa etapa. A (Figura 12) apresenta todos realizados para essa análise.

Figura 12 – Representação esquemática do passo a passo para processamento dos espectros.

# PASSO A PASSO OPUS

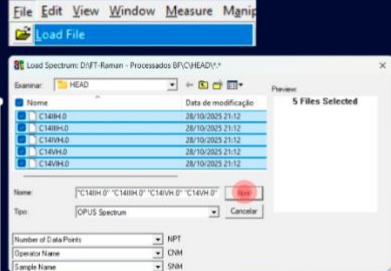
## Passo 1

**Iniciar o programa**

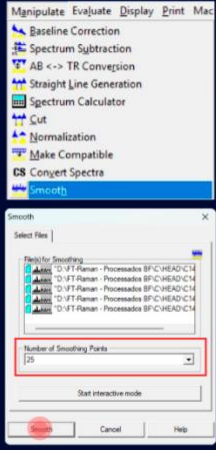


## Passo 2

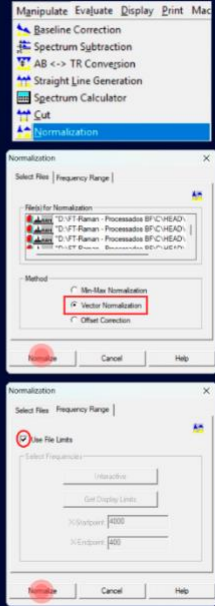
**selecionar os arquivo e abrir**



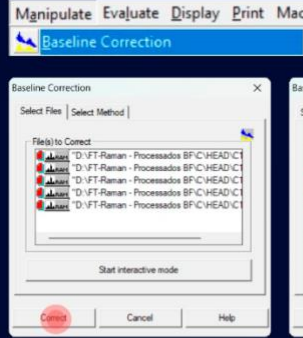
## Passo 3



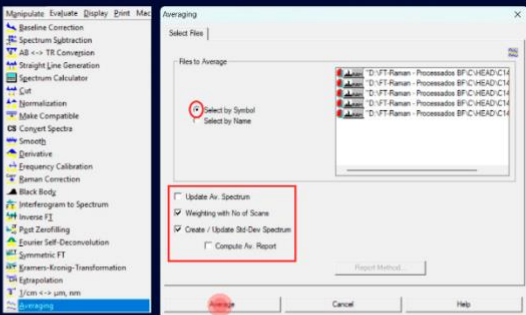
## Passo 4



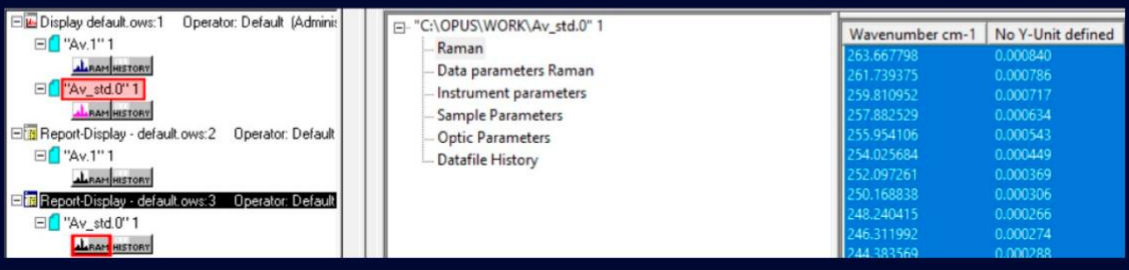
## Passo 5



## Passo 6



## Passo 7



Wavenumber cm-1	No Y-Unit defined
263.667798	0.000840
261.739375	0.000786
259.810952	0.000717
257.882529	0.000634
255.954106	0.000543
254.025684	0.000449
252.097261	0.000369
250.168838	0.000306
248.240415	0.000266
246.311992	0.000274
244.383569	0.000288

Fonte: Autor.

## 5.5 Análise PCA e LDA

Os espectros Raman adquiridos em equipamento FT-Raman (Bruker), utilizando laser Nd:YAG operando no infravermelho próximo (1064 nm). A escolha dessa fonte de excitação baseia-se na significativa redução de fluorescência intrínseca das amostras biológicas, quando comparada a lasers no visível (por exemplo, 532 ou 785 nm). A fluorescência é um processo eletrônico que ocorre

quando moléculas absorvem radiação e reemitem luz após transições eletrônicas. Como a excitação em 1064 nm apresenta menor energia fotônica, há menor probabilidade de excitação de estados eletrônicos responsáveis pela emissão fluorescente. Dessa forma, os espectros obtidos apresentam linha de base estável e baixa contribuição de fundo fluorescente, exigindo apenas correções matemáticas mínimas de linha de base. Essa característica é particularmente relevante em amostras biológicas complexas, nas quais a fluorescência pode mascarar bandas vibracionais de interesse.

## 5.6 Pré-processamento dos dados

Inicialmente, os espectros foram organizados em uma matriz  $X$ , na qual as linhas corresponderam às amostras e as colunas aos números de onda (variáveis espectrais). Os dados foram submetidos ao centramento na média (mean-centering), procedimento no qual a média de cada variável foi subtraída dos respectivos valores individuais. Esse passo é essencial para a aplicação da Análise de Componentes Principais (PCA), pois garante que a decomposição da matriz de covariância reflita exclusivamente as variações relativas entre as amostras, eliminando o deslocamento global dos dados.

Antes da aplicação da PCA, foi verificada a adequação da matriz de dados à análise multivariada por meio da avaliação da estrutura de correlação entre variáveis espectrais, confirmando a existência de redundância informacional e colinearidade, sendo a condição necessária para que a redução de dimensionalidade por PCA seja estatisticamente justificável. Os escores das PCs selecionadas foram utilizados como variáveis de entrada para a Análise Discriminante Linear (LDA). Essa abordagem híbrida (PCA-LDA) é amplamente empregada em espectroscopia vibracional, pois a PCA reduz a colinearidade e o ruído, enquanto a LDA maximiza a separação entre grupos previamente definidos. A validação cruzada foi utilizada para avaliar a capacidade do modelo em generalizar padrões estruturais do conjunto de dados, estimando o erro de reconstrução em subconjuntos não utilizados na etapa de decomposição. Neste trabalho, utilizou-se validação cruzada do tipo *leave-one-out*, na qual parte dos espectros foi temporariamente removida do conjunto de treinamento, sendo posteriormente projetada no espaço definido pelas PCs calculadas.

## **5.7 Disposição dos resultados e ilustrações**

Para a composição das pranchas e o agrupamento dos resultados experimentais, utilizou-se o software de processamento e edição de imagem GIMP (versão 3.0.4), por meio do qual se procedeu à otimização da resolução e da nitidez dos gráficos. O desenvolvimento das figuras e esquemas conceituais seguiu um fluxo de trabalho iniciado com esboços manuais, seguidos de vetorização digital no software Adobe Illustrator (versão 2025), nas dependências do Laboratório da Faculdade de Ciências Sociais Aplicadas e Comunicação da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP). Complementarmente, foram integradas ilustrações de caráter didático elaboradas mediante o uso de Inteligência Artificial (IA) generativa, especificamente o Gemini e o ChatGPT. Tais recursos foram empregados estritamente para a geração de elementos visuais a partir de comandos textuais (prompts) desenvolvidos manualmente pelo autor, utilizando-se as versões de livre acesso das referidas plataformas.

## **6 RESULTADOS**

### **6.1 Análise de Cluster**

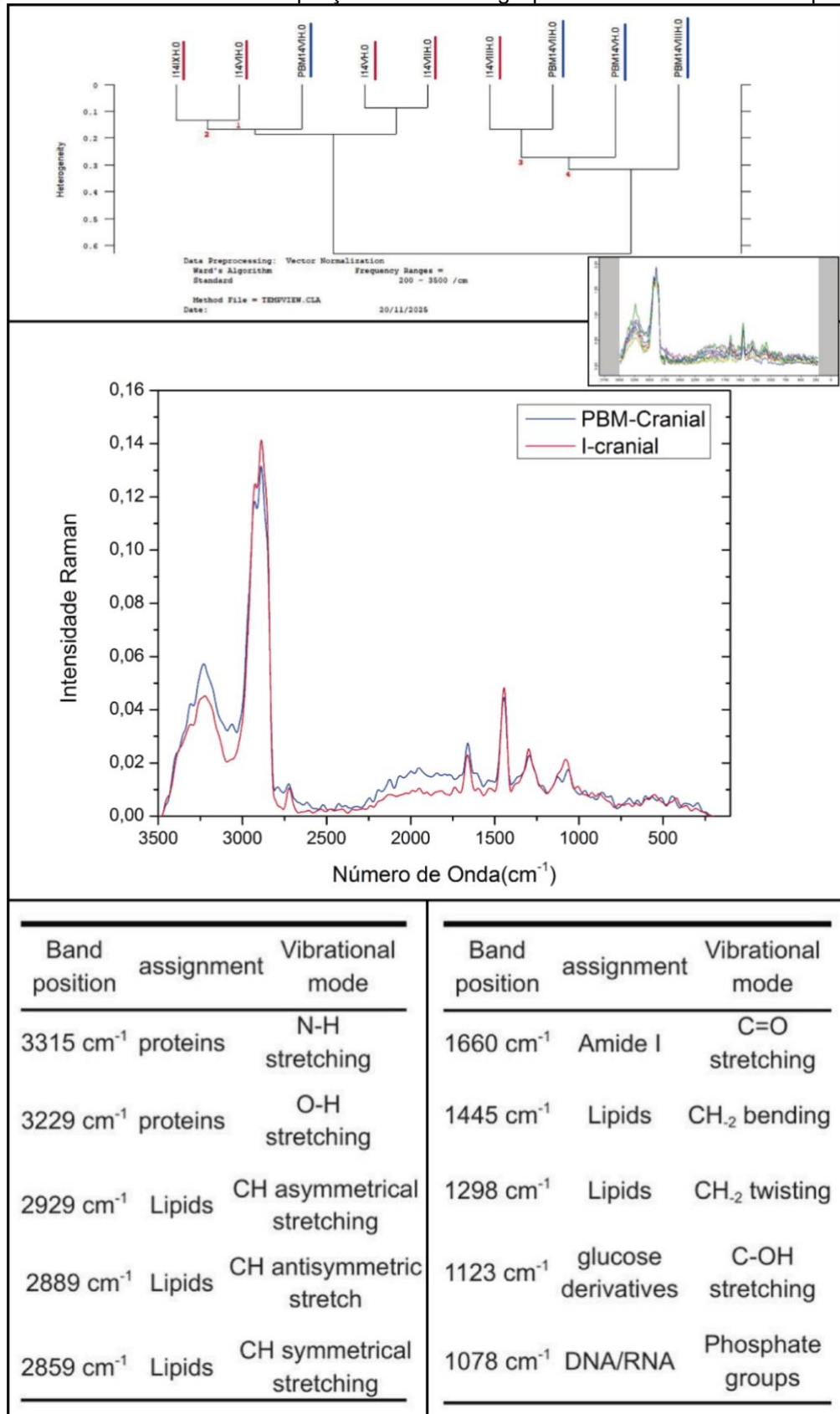
A análise de cluster foi empregada com o objetivo de avaliar o padrão de agrupamento das amostras com base na similaridade espectral. Os espectros das porções cranial e caudal foram analisados separadamente, permitindo observar a formação de agrupamentos conforme o perfil molecular de cada grupo experimental. Essa abordagem possibilitou identificar padrões de proximidade ou distanciamento entre os grupos L e PBM nas diferentes regiões espectrais avaliadas.

#### **6.1.1 Porção Cranial**

- **Espectro Total**

Utilizando o espectro total para agrupar dados da porção cranial por similaridade dos grupos, em diferentes Ramos, e considerando as regiões de alta e baixa frequência, foi possível observar que, no grupo L, 80% dos resultados estavam no Ramo I e 20% no Ramo II. Por sua vez, no grupo PBM, os resultados se agruparam 25% no Ramo I e 75% no Ramo II (Figura 13).

Figura 13 – Análise Cluster da porção cranial dos grupos L e PBM em todo o espectro.

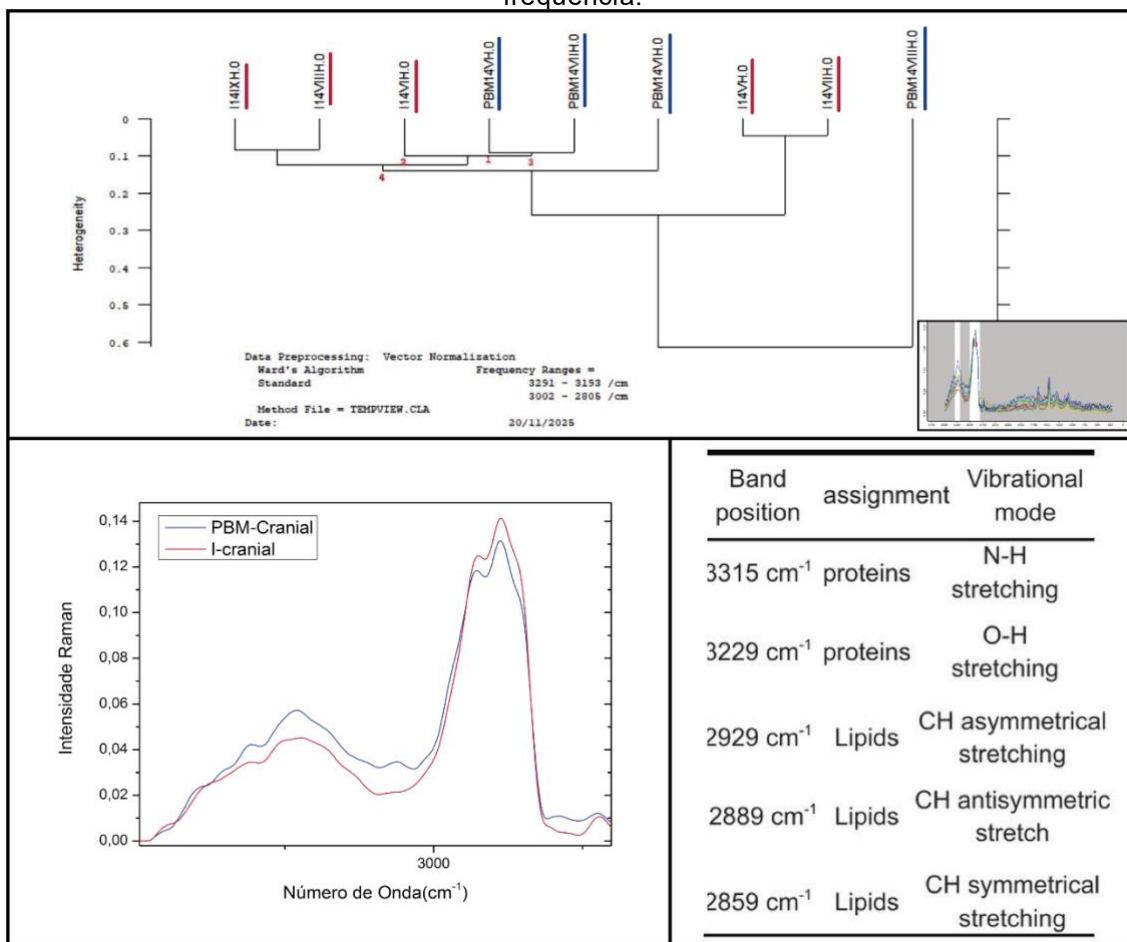


Fonte: Autor.

## • Espectro Alta Frequência

Na porção cranial, utilizando exclusivamente os dois picos com maior intensidade do espectro, na região de alta frequência, para agrupamento dos dados dos grupos em diferentes Ramos por similaridade espectral foi possível observar que não houve distinção efetiva no agrupamento dos resultados de ambos os grupos. Nessa região do espectro não houve distinção dos grupos pelo perfil molecular, observando-se a agrupamento dos espectros em 3 Ramos: o grupo L apresentou 60% dos resultados no Ramo I e 40% no Ramo II, enquanto 75% dos resultados do grupo PBM se agrupou no Ramo I e 25% no Ramo III (Figura 14).

Figura 14 – Análise de Cluster da porção cranial dos grupos L e PBM, na região de alta frequência.

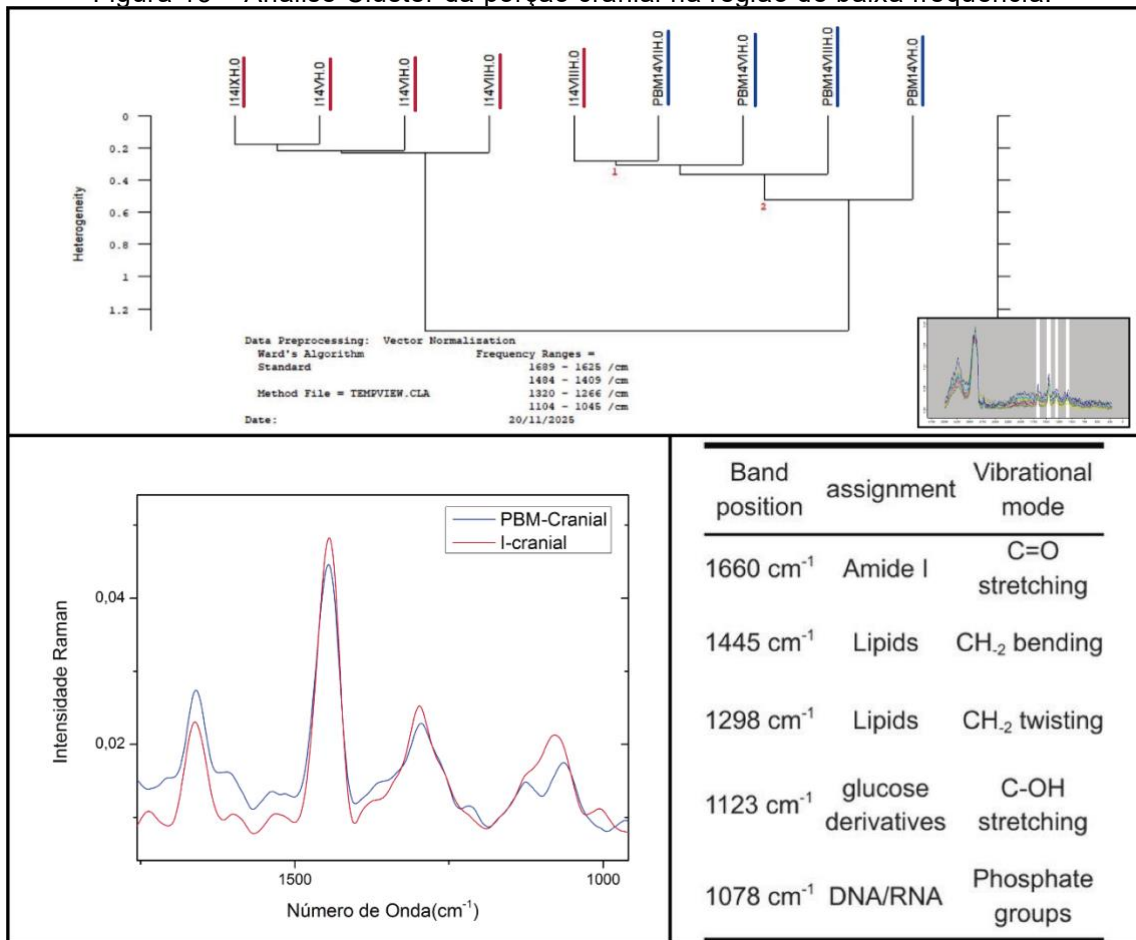


Fonte: Autor.

- **Espectro Baixa Frequência**

A análise da porção cranial, utilizando a região de baixa frequência do espectro para agrupamento dos resultados em diferentes ramos, utilizando os quatro picos com maior intensidade para a análise de cluster, permitiu observar que, no grupo L, 80% dos resultados estavam presentes no Ramo I e 20% estavam presentes no Ramo II. No Grupo PBM, 100% dos resultados se agruparam no Ramo II, demonstrando maior potencial no agrupamento dos dados dos diferentes grupos (Figura 15).

Figura 15 – Análise Cluster da porção cranial na região de baixa frequência.



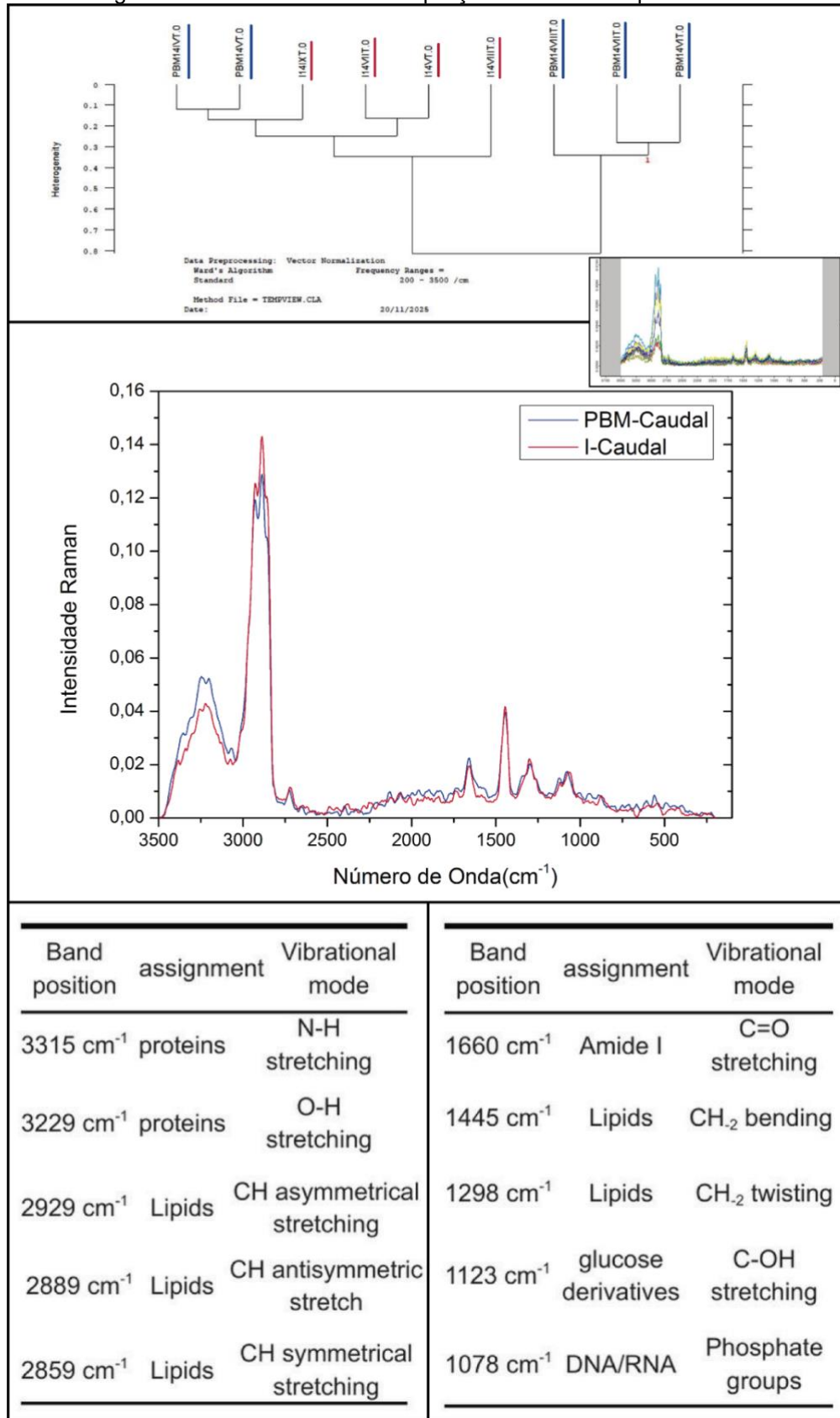
Fonte: Autor.

### **6.1.2 Porção Caudal**

- **Espectro total**

Utilizando o espectro total da porção caudal para agrupamento por similaridade em diferentes ramos observou-se separação pouco efetiva, sendo que no grupo PBM, 40% dos resultados se apresentaram no Ramo I e 60% no Ramo II. Por outro lado, no grupo L, 100% dos resultados estavam agrupados no Ramo I (Figura 16).

Figura 16 – Análise Cluster da porção caudal no espectro total.

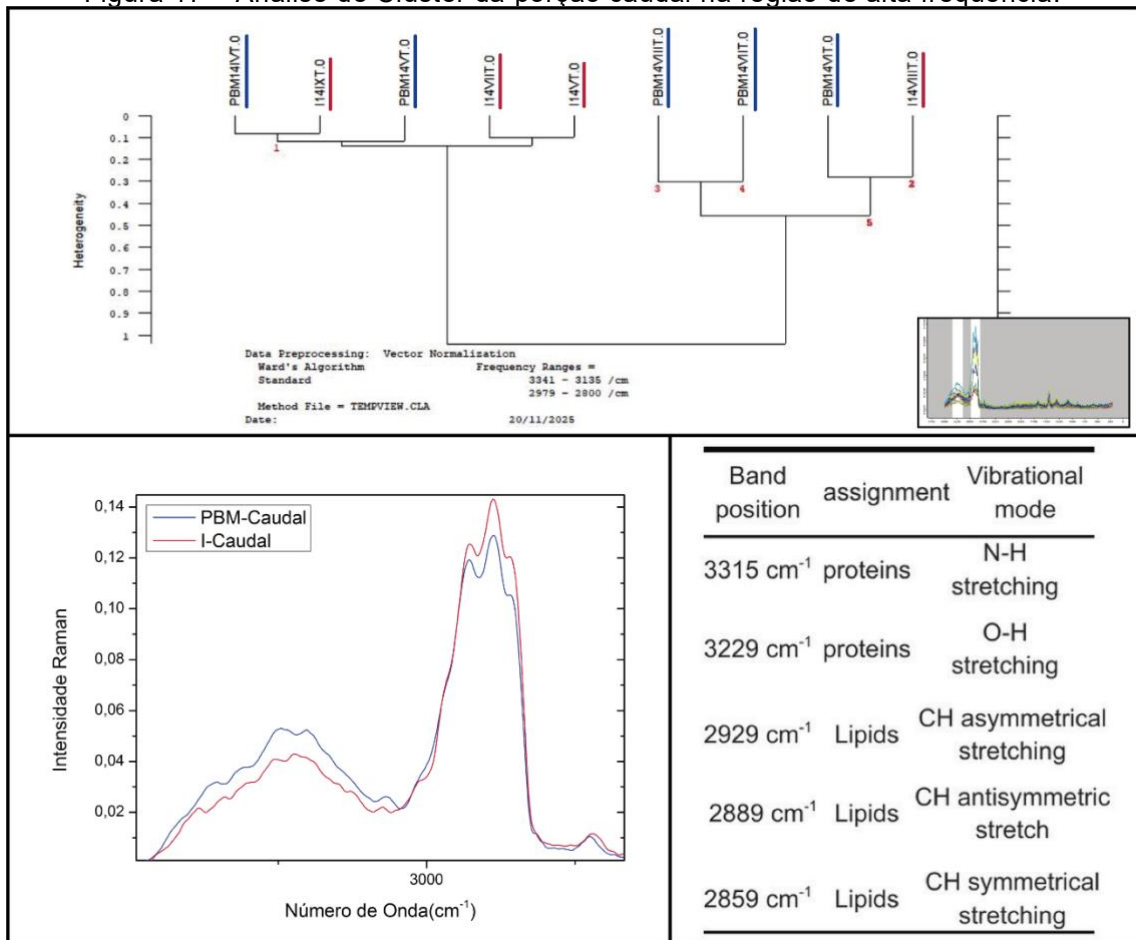


Fonte: Autor.

## • Espectro Alta Frequência

Na porção caudal, ao utilizar o espectro na região de alta frequência para agrupamento dos resultados dos grupos em diferentes ramos, utilizando exclusivamente os dois picos com maior intensidade para agrupamento dos resultados dos diferentes grupos, observou-se que 20% dos resultados do grupo PBM estavam agrupados no Ramo I e 60% no Ramo II, enquanto, no grupo L, 75% dos resultados estavam agrupados no Ramo I e 25% no Ramo II (Figura 17).

Figura 17 – Análise de Cluster da porção caudal na região de alta frequência.



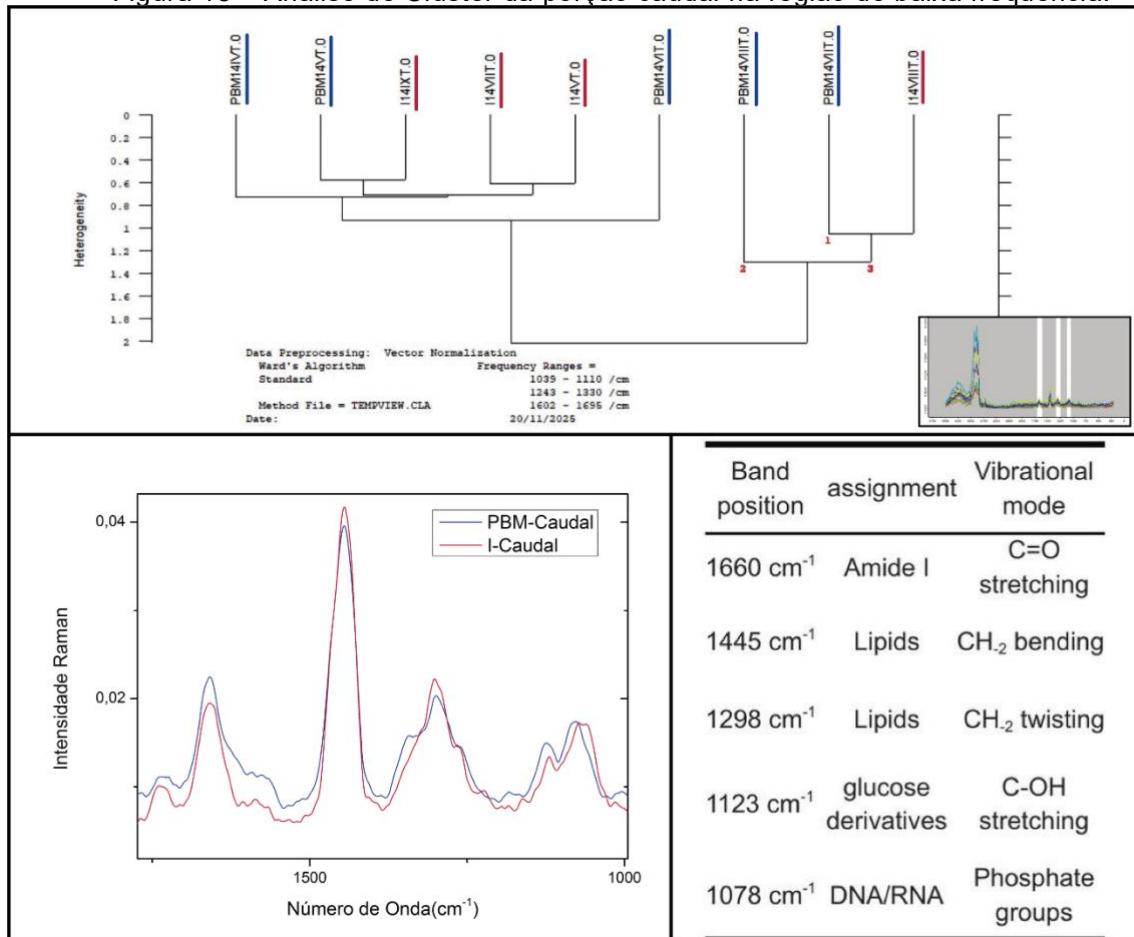
Fonte: Autor.

## • Espectro Baixa Frequência

Utilizando o espectro na região de baixa frequência, para agrupamento dos resultados dos grupos da porção caudal em diferentes Ramos, foi possível observar

que não houve agrupamento efetivo e que nessa região não é possível distinguir os grupos pelo perfil molecular. No grupo L, 75% dos dados estavam no Ramo I e 25% no Ramo II, enquanto para o grupo PBM, 60% dos resultados estavam presentes no Ramo I, e 40% se encontravam no Ramo II (Figura 18).

Figura 18 – Análise de Cluster da porção caudal na região de baixa frequência.



Fonte: Autor.

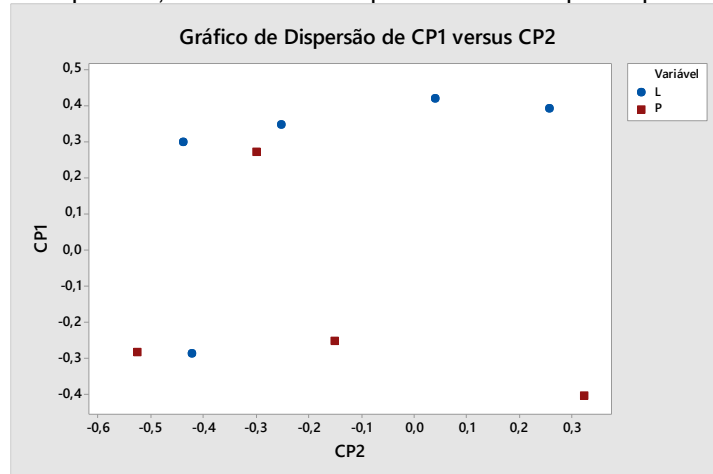
## 6.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

### 6.2.1 Porção cranial

Por meio da Análise dos Componentes Principais (PCA, na sigla em inglês) na porção cranial, os resultados revelaram diferenciação entre os grupos Lesão e PBM no espaço de scores PC1–PC2. Como esperado, a PC1 foi responsável pela maior proporção da variância (50,5%), enquanto a PC2 contribuiu com um componente

independente adicional (19,8%). Embora a PC1, isoladamente, não tenha resolvido completamente a separação entre os grupos, o espaço combinado PC1–PC2 permitiu a discriminação entre as amostras com lesão medular não tratada e as tratadas com PBM. Essa separação multivariada indica diferenças moleculares associadas ao tratamento no tecido.

Gráfico 1 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção cranial.



Fonte: Autor.

A Tabela 3 apresenta a matriz de classificação obtida pela LDA com validação cruzada. O modelo classificou corretamente 4 de 5 amostras do grupo L (80,0%) e 3 de 4 amostras do grupo PBM (75,0%). A acurácia global foi de 77,8%, com 7 classificações corretas em um total de 9 amostras, indicando desempenho discriminante satisfatório entre os grupos analisados.

Tabela 3 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção cranial.

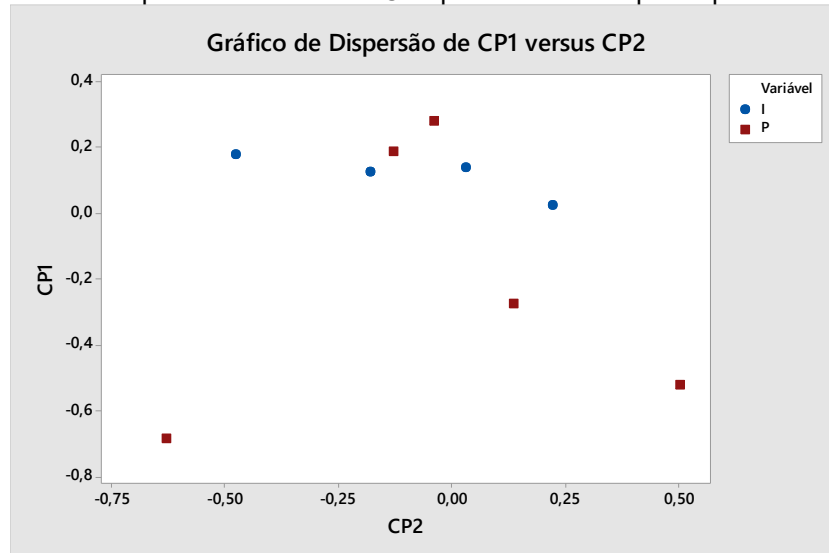
Alocado no Grupo	Grupo Verdadeiro	
	L	P
L	4	1
P	1	3
Total de N	5	4
N correto	4	3
Proporção	0,800	0,750
N	Correto	Proporção
9	7	0,778

Fonte: Autor.

### 6.2.2 Porção Caudal

Na porção caudal, a PCA revelou diferenciação entre os grupos no espaço de scores PC1–PC2. Como esperado, a PC1 foi responsável pela maior proporção da variância (55,5%), enquanto a PC2 contribuiu com um componente independente adicional (11,7%). Embora a PC1, isoladamente, não tenha resolvido completamente a separação entre os grupos, o espaço combinado PC1–PC2 permitiu a discriminação entre as amostras com lesão medular não tratada e as tratadas com fotobiomodulação.

Gráfico 2 - Matriz de dispersão: análise de Componentes Principais aplicada à porção caudal.



Fonte: Autor.

A Tabela 4 apresenta a matriz de classificação obtida pela LDA sob validação cruzada. O grupo L apresentou taxa de acerto de 75,0% (3/4), enquanto o grupo P apresentou 40,0% (2/5). A acurácia global do modelo foi de 55,6%, com 5 classificações corretas em um total de 9 amostras, indicando desempenho discriminante reduzido em comparação ao modelo anterior.

Tabela 4 - Matriz de dispersão, análise de Componentes Principais aplicada na porção caudal.

Alocado no Grupo	Grupo Verdadeiro		
	I	P	
I	3	3	
P	1	2	
Total de N	4	5	
N correto	3	2	
Proporção	0,750	0,400	
	N	Correto	Proporção
	9	5	0,556

Fonte: Autor.

O melhor desempenho discriminante foi observado na porção cranial à lesão medular, enquanto a porção caudal apresentou menor separação entre os grupos. No modelo de lesão medular em ratos, a interrupção traumática estabelece microambientes fisiopatológicos distintos. A porção cranial mantém conectividade com centros encefálicos superiores e maior suporte trófico-metabólico, o que potencializa os efeitos da fotobiomodulação e a resposta anti-inflamatória, resultando em alterações moleculares mais detectáveis no FT-Raman. Em contraste, a porção caudal tende a apresentar padrão bioquímico mais homogêneo entre os grupos, reduzindo a capacidade discriminante do modelo PCA-LDA.

## 7 DISCUSSÃO

A lesão medular (LM) constitui uma das condições mais devastadoras do sistema nervoso central, caracterizada pela interrupção da sinalização motora e sensorial, que acarreta déficits permanentes. A complexidade da LM reside na evolução bifásica de um dano mecânico primário seguido por uma cascata secundária de eventos bioquímicos, incluindo inflamação crônica, estresse oxidativo e falha no metabolismo energético (ZHANG *et al.*, 2022).

O presente estudo buscou investigar a Fotobiomodulação (PBM) como estratégia terapêutica, fundamentando-se em sua capacidade de modular a atividade mitocondrial e promover o reparo tecidual. O objetivo central desta pesquisa foi avaliar a eficácia da PBM, aplicada com laser no infravermelho, na contenção dos danos bioquímicos em um modelo experimental de LM. A avaliação dos resultados terapêuticos utilizou a espectroscopia Raman, técnica analítica que fornece informações vibracionais detalhadas sobre a composição molecular do tecido (Movasaghi; Rehman; Rehman, 2007; Li *et al.*, 2019). Foram analisados os perfis moleculares de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, tendo como objetivo correlacionar a assinatura espectral com a preservação ou degeneração tecidual nas porções cranial e caudal ao sítio da lesão.

A análise de agrupamento hierárquico (Análise de Cluster) foi aplicada para validar a capacidade da técnica Raman de agrupar os dados resultantes da lesão medular e os obtidos da lesão medular após aplicação do protocolo de tratamento, sem viés subjetivo. Nas regiões de baixa frequência, da porção cranial, a análise de Cluster permitiu, de forma mais robusta, o agrupamento dos resultados dos grupos L e PBM em diferentes Ramos. Como observado por Coutinho *et al.* (2022), a espectroscopia FT-Raman possui sensibilidade diagnóstica que permite distinguir tecidos saudáveis, lesionados e tratados com elevada acurácia, o que corrobora os achados deste estudo, onde os Ramos do grupo PMB se aproximaram do perfil de homeostase, enquanto o grupo lesão formou agrupamento em um Ramo isolado.

A dificuldade de separação observada na porção caudal sugere uma homogeneização do dano bioquímico nessa área. De acordo com Anderson *et al.* (2016), a distinção tecidual via Espectroscopia Raman depende da densidade e organização molecular. A menor eficiência de clusterização na porção caudal indica

que a propagação da lesão nesta direção é tão severa que a ação terapêutica do laser após 14 dias pode não ter sido suficiente para reverter a assinatura bioquímica a um nível que permita a diferenciação estatística clara nesta região específica. Uma interpretação alternativa dos resultados sugere que, ao longo do tempo de 14 dias pós-LM associado ao protocolo de tratamento com PBM, o perfil molecular tende a apresentar menos alterações e características mais semelhantes entre os grupos tratados com PBM e Lesão, devido à diminuição do processo lesivo agudo. Resultados similares foram relatados em estudo publicado por Zhang *et al.* (2022), que observaram menor intensidade dos picos espectrais nos períodos de 14 dias quando comparados aos períodos de 1 e 7 dias de lesão ou de tratamento com PBM.

Outro ponto observado no nosso estudo está relacionado à ausência de picos associados a componentes presentes no processo patológico caracterizado por inflamação, hemorragia e fibrose, que foram observados no período de 14 dias pós-lesão medular e após 1 e 7 dias de tratamento com PBM no estudo de Zhang *et al.* (2022). Dessa forma, é possível propor que o aumento na intensidade nos picos relacionados a componentes presentes no processo patológico está limitado ao sítio da lesão e não atinge as regiões próximas, fora da região central, como analisado neste estudo. Atribuindo as alterações proximais apenas a componentes estruturais característicos do tecido nervoso, como DNA, proteínas e lipídeos, diminuindo a variabilidade molecular.

A análise de componentes principais (PCA) foi fundamental para aprofundar a discriminação dos grupos. O modelo demonstrou que 77,8% da variância total permitiu a separação clara entre os grupos Lesão e PBM na porção cranial. Este resultado é promissor e indica que a região anterior a lesão responde de forma mais evidente ao tratamento, provavelmente pela preservação dos componentes teciduais. Li *et al.* (2019) e Zhang *et al.* (2022) demonstraram que a PCA é sensível para demonstrar a progressão do quadro patológico, onde os principais componentes, PC1 e PC2, são geralmente dominados pelas bandas de mielina e proteínas estruturais.

A ausência de discriminação efetiva na porção caudal reflete a natureza expansiva da LM. Galli *et al.* (2016) discutiram que a inflamação e a desmielinização tendem a ser mais pronunciadas nas regiões distais ao impacto devido à degeneração do axônio e da bainha de mielina, por dano ou morte celular, associadas à interrupção do fluxo de nutrientes e de estímulos que sustentam estas estruturas. Assim, a

similaridade molecular capturada pela PCA na porção caudal sugere que ambos os grupos (Lesão e PBM) sofreram alterações bioquímicas análogas nesta porção, confirmando que o efeito neuroprotetor da PBM é, neste estágio de 14 dias, mais concentrado na porção cranial e no núcleo da lesão, conforme também sugerido pelos resultados histológicos de redução de cavitação (Zhang *et al.*, 2022; Correia *et al.*, 2025).

A análise dos picos em  $3315\text{ cm}^{-1}$  e  $3229\text{ cm}^{-1}$ , característicos das vibrações N-H e O-H, revelou que o grupo PBM apresentou maior intensidade em relação ao grupo Lesão. Este aumento sugere maior preservação de componentes proteicos e do conteúdo hídrico estrutural na porção cranial. A literatura raramente explora esta região em modelos de LM, preferindo a região de impressão digital (*fingerprint*), mas nossos achados indicam que a intensidade nessas bandas pode ser um biomarcador para a densidade tecidual e integridade proteica estrutural, que é drasticamente reduzida pela necrose pós-lesão (Saxena *et al.*, 2011).

No que tange aos lipídeos, as bandas em  $2929\text{ cm}^{-1}$ ,  $2889\text{ cm}^{-1}$  e  $2859\text{ cm}^{-1}$ , características do estiramento C-H, forneceram dados cruciais sobre a ordem molecular. O grupo Lesão apresentou picos mais intensos e largos, especialmente na porção caudal. Segundo Pézolet e Georgescauld (1958) e Zaytseva, Okotrub; Surovtsev (2024), o alargamento dessas bandas é um indicativo direto de desordem intramolecular e aumento da mobilidade rotacional das cadeias de acila dos fosfolipídeos. Este fenômeno de desordem lipídica é uma marca registrada de degradação da bainha de mielina e lise de membranas celulares. A intensidade reduzida e os picos mais estreitos no grupo PBM sugerem que a fotobiomodulação promoveu um microambiente mais adequado aos componentes do tecido nervoso central, impedindo a desordem estrutural severa observada no grupo não tratado (Greig *et al.*, 2024).

A banda em  $1660\text{ cm}^{-1}$ , Amida I, é o principal indicador da conformação alfa-hélice de proteínas. A queda de intensidade observada no grupo lesão, particularmente na porção caudal, aponta para a perda de proteínas estruturais e morte celular (Li *et al.*, 2019). Em contrapartida, a maior intensidade no grupo PBM cranial corrobora os dados histológicos de redução de áreas de necrose (Correia *et al.*, 2025). Saxena *et al.* (2011) relataram que a diminuição da Amida I está correlacionada com a formação da cicatriz glial e perda de neurônios, reforçando que

a fotobiomodulação atua na contenção da propagação desta necrose para áreas adjacentes.

As bandas em  $1445\text{ cm}^{-1}$ , relacionada à flexão  $\text{CH}_2$ , e  $1298\text{ cm}^{-1}$ , associada à torção  $\text{CH}_2$ , são assinaturas clássicas de lipídeos da mielina. Embora o grupo Lesão, na porção cranial, tenha apresentado picos intensos, a desmielinização crônica no período de 14 dias pode estar mascarada por processos inflamatórios agudos ou acúmulo de detritos celulares (Galli *et al.*, 2016). Entretanto, a correlação com testes biomecânicos de animais com lesões medulares tratadas com fotobiomodulação, já publicados e realizados por nosso grupo de pesquisa (Beloni *et al.*, 2025), demonstrou que o grupo tratado apresentou melhor desempenho funcional. Esses resultados indicam que, embora as intensidades Raman possam ser similares em certos pontos devido à homeostase temporal, a aplicação da PBM preservou a proteção oferecida pela bainha de mielina na transmissão do potencial de ação, conforme discutido por Shi *et al.* (2011) em estudos de remielinização no tecido da medula espinhal.

A banda em  $1123\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento C-OH da glicose, foi um achado notável deste estudo. A alta intensidade apresentada por essa banda na porção cranial, no grupo Lesão, sugere um acúmulo de glicose não metabolizada provavelmente decorrente da interrupção das vias de conexão neural e de falha metabólica. No grupo PBM, a equalização na intensidade entre as porções cranial e caudal pode estar refletindo o mecanismo de ação do laser infravermelho na estimulação da enzima citocromo c oxidase, fato também relatado por Zhang *et al.*, 2022. A possível restauração da cadeia respiratória mitocondrial, com a aplicação da PBM, pode ter normalizado o consumo de glicose em ambas as regiões, promovendo a homeostase energética necessária para sobrevivência celular.

Por sua vez, a banda em  $1078\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{PO}_2^-$ , demonstra a integridade de DNA e RNA. A estabilidade desta banda no grupo PBM, contrastando com as variações na porção cranial do grupo Lesão, sugere que a PBM possivelmente exerça um papel protetor contra a fragmentação de ácidos nucleicos em área periféricas à lesão medular, fator determinante para evitar a apoptose programada em larga escala (Picard *et al.*, 2018).

A integração dos dados da espectroscopia FT-Raman com as análises multivariadas consolidou a compreensão do impacto da Fotobiomodulação no tratamento de LM. A robustez da diferenciação via PCA e Cluster na porção cranial

valida o efeito neuroprotetor proporcionado à porção anterior ao sítio da lesão, enquanto a análise espectral detalhada permitiu identificar que este efeito ocorre primordialmente pela manutenção da ordem lipídica e pela restauração do metabolismo energético.

Conclui-se que a aplicação da fotobiomodulação ao longo de 14 dias foi eficaz em limitar a propagação da lesão, preservando componentes proteicos e mitigando a desordem das cadeias fosfolipídicas da mielina. Embora a porção caudal apresente maior resistência à recuperação imediata, devido à gravidade inerente à progressão do dano tecidual, a assinatura bioquímica do grupo PBM aponta para um estado de maior equilíbrio metabólico em comparação ao grupo não tratado. Este trabalho confirma a espectroscopia Raman como uma ferramenta poderosa para o monitoramento de protocolos terapêuticos para tratamento de lesões em medula espinhal, oferecendo uma métrica objetiva e molecular para a avaliação de novas intervenções clínicas.

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que a espectroscopia FT-Raman foi capaz de detectar alterações moleculares associadas à lesão medular nas regiões cranial e caudal analisadas. A aplicação de análises multivariadas permitiu identificar diferenças no perfil espectral entre os grupos experimentais, evidenciando maior distinção molecular na porção cranial.

Os achados sugerem que a fotobiomodulação com laser infravermelho promoveu modulação dos componentes biomoleculares do tecido nervoso, particularmente na porção cranial à lesão, indicando efeito neuroprotetor regionalmente mais evidente.

Dessa forma, a técnica espectroscópica mostrou-se uma ferramenta adequada para o monitoramento molecular da lesão medular em modelo experimental, contribuindo para a compreensão dos efeitos terapêuticos da fotobiomodulação.

## REFERÊNCIAS

AHUJA, Christopher S. *et al.* Traumatic spinal cord injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 3 27 abr. 2017. Doi: doi: 10.1038/nrdp.2017.18

AL BALAH, Osama Fekry; RAFIE, Maha; OSAMA, Abdel Rahman. Immunomodulatory effects of photobiomodulation: a comprehensive review. **Lasers in Medical Science**, v. 40, n. 1, 2025. Doi: 10.1007/s10103-025-04417-8

ANDERSON, T. Anthony *et al.* Raman spectroscopy differentiates each tissue from the skin to the spinal cord: a novel method for epidural needle placement?. **Anesthesiology**, v. 125, n. 4, p. 793, 2016.

ANDO, Takahiro *et al.* Low-level laser therapy for spinal cord injury in rats: effects of polarization. **Journal of biomedical Optics**, v. 18, n. 9, 098002, 2013. Doi: 10.1117/1.JBO.18.9.098002

ANJUM, Anam *et al.* Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 20, p. 7533, 2020. Doi: 10.3390/ijms21207533.

BAMPI, Luciana Neves da Silva; GUILHEM, Dirce; LIMA, David Duarte. Qualidade de vida em pessoas com lesão medular traumática: um estudo com o WHOQOL-bref. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, p. 67-77, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2008000100006>

BANERJEE, Anirban D.; EZER, Haim; NANDA, Anil. Susruta and ancient Indian neurosurgery. **World Neurosurgery**, v. 75, n. 2, p. 320-323, 2011. Doi: 10.1016/j.wneu.2010.09.007.

BARR, Justin. The anatomist Andreas Vesalius at 500 years old. **Journal of Vascular Surgery**, v. 61, n. 5, p. 1370–1374, 2015. Doi: 10.1016/j.jvs.2014.11.080

BIESBROUCK, Maurits; VANDEN BERGHE, Alex. Andreas Vesalius on the anatomy and function of the lower thoracic vertebrae. **Acta Chirurgica Belgica**, v. 116, n. 2, p. 126-138, 2016. Doi: 10.1080/00015458.2016.1162993

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Departamento de Informática do SUS (DATASUS). **Relatório executivo da gestão 2011 - 2014**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. **Diretrizes de atenção à pessoa com lesão medular**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_atencao\\_pessoa\\_lesao\\_medular\\_2ed.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_atencao_pessoa_lesao_medular_2ed.pdf). Acesso em: 10 out. 2025.

BRAWANSKI, Alexander. On the myth of the Edwin Smith papyrus: Is it magic or science? **Acta Neurochirurgica**, v. 154, p. 2285-2291, 2012. Doi: 10.1007/s00701-012-1523-x.

BYRNES, Kimberly R. *et al.* Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 36, n. 3, p. 171-185, 2005. Doi: 10.1002/lsm.20143.

CARVALHO, A. F. *et al.* The low-level laser on acute myositis in rats. **Acta Cir. Bras.**, v. 30, n. 12, p. 806–811, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-865020150120000003>

CHIZE, Carolina de Miranda *et al.* A laminin-based therapy for dogs with chronic spinal cord injury: promising results of a longitudinal trial. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, 2025. Doi: 10.3389/fvets.2025.1592687

CORREIA, Débora Campos Chaves *et al.* Therapeutic Potential of Photobiomodulation in Early Recovery After Experimental Spinal Cord Injury in Rats: Histological and Biomechanical Analysis. **Journal of Biophotonics**, v. 19, n. 3, e202500348, 2025. Doi: 10.1002/jbio.202500348.

COUTINHO, Elisabeth Salmagi Teixeira *et al.* Espectroscopia Raman de medula espinhal de ratos saudáveis, lesionados e tratados com membrana amniótica. **Spectrochimica Acta Parte A: Espectroscopia Molecular e Biomolecular**, v. 265, p. 120323, 2022. Doi: 10.1016/j.saa.2021.120323

DA CRUZ TOBELEM, Daysi *et al.* Effects of photobiomodulation in experimental spinal cord injury models: A systematic review. **Journal of Biophotonics**, v. 15, n. 8, 2022. Doi: 10.1002/jbio.202200059

DAVE, Tirth *et al.* Sushruta: The Father of Indian Surgical History. **Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open**, v. 12, n. 4, e5715, 2024. Doi: 10.1097/GOX.0000000000005715

DING, Weizhong *et al.* Spinal Cord Injury: The Global Incidence, Prevalence, and Disability From the Global Burden of Disease Study 2019. **Spine**, v. 47, n. 21, p. 1532–1540, 2022. Doi: 10.1097/BRS.0000000000004417.

DOMPE, Claudia *et al.* Photobiomodulation—underlying mechanism and clinical applications. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 6, 2020. Doi: 10.3390/jcm9061724.

FARA, Patricia. Newton shows the light: a commentary on Newton (1672) 'A letter ... containing his new theory about light and colours...'. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 373, 2039, 2015. Doi: 10.1098/rsta.2014.0213

FEITOSA, Maura Cristina Porto et al. Effects of the Low-Level Laser Therapy (LLLT) in the process of healing diabetic foot ulcers. **Acta cirúrgica brasileira**, v. 30, n. 12, p. 852-857, 2015.

FELDMAN, Robert P.; GOODRICH, James T. The Edwin Smith Surgical Papyrus. **Child's Nervous System**, v. 15, p. 281-284, 1999. Doi: 10.1007/s003810050395

GALLI, Roberta *et al.* Imagem espectroscópica vibracional e microscopia multifotônica de lesão medular. **Química Analítica**, v. 84, n. 20, p. 8707-8714, 2012.

GANDHI, Madhura A.; PATIL, Bhagyashri K. Sushruta: The Father of Surgery and Ancient Medical Innovations. **Cureus**, v. 16, n. 9, e70577, 2024. Doi: 10.7759/cureus.70577

GHOLAMI, Leila *et al.* Evaluation of the effect of near infra-red photobiomodulation on buccal fat pad-derived stem cells. **International Journal of Dentistry and Oral Science**, v. 7, n. 12, p. 960–967, 2020. Doi: 10.19070/2377-8075-20000231

GIBBS, Katie *et al.* Assessment of pain symptoms and quality of life using the International Spinal Cord Injury Data Sets in persons with chronic spinal cord injury. **Spinal cord series and cases**, v. 5, n. 1, p. 32, 2019. Doi: 10.1038/s41394-019-0178-8

GIRÃO, André F. *et al.* 3D nanofibrous frameworks with on-demand engineered gray and white matters for reconstructing the injured spinal cord. **Biomaterials advances**, v. 170, p. 214200, 2025. Doi: 10.1016/j.bioadv.2025.214200

GOLDMAN, Leon. The Laser in Dermatology. **International Journal of Dermatology**, v. 19, n. 6, p. 329-331, 1980. Doi: 10.1111/j.1365-4362.1980.tb00349.x

GREIG, Justin C. *et al.* New insights into lipid and fatty acid metabolism from Raman spectroscopy. **Analyst**, v. 149, n. 19, p. 4789-4810, 2024. Doi: 10.1039/D4AN00846D

GROSS, Andreas J.; HERRMANN, Thomas R. W. History of lasers. **World Journal of Urology**, v. 25, n. 3, p. 217–220, jun. 2007. Doi: 10.1007/s00345-007-0173-8

GRZYBOWSKI, Andrzej; SAK, Jarosław; PAWLIKOWSKI, Jakub. A brief report on the history of phototherapy. **Clinics in Dermatology**, v. 34, n. 5, p. 532–537, 2016. Doi: 10.1016/j.clindermatol.2016.05.002

HAMBLIN, Michael R. Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 94, n. 2, p. 199-212, 2018. Doi: 10.1111/php.12864.

HECHT, Jeff. Short history of laser development. **Optical Engineering**, v. 49, n. 9, p. F99-F122, 2010. Doi: doi: 10.1364/AO.49.000F99

HERMES, Túlio de Almeida *et al.* Anatomy and Imaging of the Spinal Cord: An Overview. **Seminars in Ultrasound, CT and MRI**, v. 4, n. 5, p. 400-407, 2023. Doi: 10.1053/j.sult.2023.03.011

HERSCHEL, William. Sun B. C a s \* 3 X IV. Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 90, p. 284-292, 1800. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/pdf/107057>

HUGHES, J. Trevor. The Edwin Smith surgical papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. **Paraplegia**, v. 26, n. 2, p. 71–82, 1988. Doi: 10.1038/sc.1988.15.

JAIVARSHAA GV, Pavithra *et al.* Critical Review on Sushruta's Management of Bhagna. **International Journal of Life Science and Pharma Research**, v. 12, n. 6, p. L59-L64, 2022. Doi: 10.22376/ijpbs/lpr.2022.12.6.L59-64.

BELONI, Luis Filipe K. *et al.* Kinematic and sensory-motor analysis of the effects of treatments with photobiomodulation in rats with experimentally induced spinal injury. **Lasers in Medical Science**, v. 40, n. 1, p. 134, 2025. Doi: 10.1007/s10103-025-04399-7

KHOT, Tanvi A. *et al.* Photobiomodulation: Molecular and Subcellular Mechanisms and Applications in Periodontal Therapy. **Indian Journal of Dental Sciences**, v. 15, n. 2, p. 94–98, 2023. Doi: 10.4103/ijds.ijds\_81\_22

KLEPPNER, D. Relendo Einstein sobre radiação. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 27, n. 1, p. 87–91, 2005. Doi: 10.1590/S1806-11172005000100009

KORRES, Demetrios *et al.* Injuries of the spine and of the spinal cord in the Hippocratic Corpus of medicine. **International Orthopaedics**, v. 41, n. 12, p. 2627–2629, 2017. Doi: 10.1007/s00264-017-3527-x

KRISHNAN, R. S.; SHANKAR, R. K. Raman effect: History of the discovery. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 1981.

LI, Jie *et al.* Study on the pathological and biomedical characteristics of spinal cord injury by confocal Raman microspectral imaging. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 210, p. 148-158, 2019. Doi: 10.1016/j.saa.2018.11.022

LIMA, Leonardo B. *et al.* Immunohistochemical Evaluation of Spinal Cord Injuries Treated with Amniotic Membrane. **ACS Omega**, v. 11, n. 5, p. 7219-7227, 2026. Doi: 10.1021/acsomega.5c07369.

LU, Yixin *et al.* Studying on the in vivo pathological evolution of spinal cord injury with the rat model by the method of integrated multispectral imaging and Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 279, p. 126672, 2024. Doi: 10.1016/j.talanta.2024.126672.

MARKETOS, Spyros G.; SKIADAS, Panagiotis K. Galen: A Pioneer of Spine Research. **Spiner**, v. 24, n. 22, p. 2358-2362, 1999. Doi: 10.1097/00007632-199911150-00012.

MATYAS, Jessica J. *et al.* Effects of Bone-Marrow–Derived MSC Transplantation on Functional Recovery in a Rat Model of Spinal Cord Injury. **Cell Transplant.**, v. 26, n. 8, p. 1472-1482, 2017. Doi: 10.1177/0963689717721214

MENEZES, Karla *et al.* Return of voluntary motor contraction after complete spinal cord injury: a pilot human study on polylaminin. **medRxiv**, 2024. Doi: 10.1101/2024.02.19.24301010.

MENEZES, Karla *et al.* Polylaminin, a polymeric form of laminin, promotes regeneration after spinal cord injury. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 11, p. 4513-4522, 2010. Doi: 10.1096/fj.10-157628.

MESTER, Adam; MESTER, Andrew. The History of Photobiomodulation: Endre Mester (1903-1984). **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 35, n. 8, p. 393-394, 2017. Doi: 10.1089/pho.2017.4332.

MICHELSON, Albert A.; MORLEY, Enw W. On the relative motion of the Earth and the luminiferous ether. **American Journal of Science**, v. 203, n. 203, p. 333–345, 1887. Doi: 10.2475/ajs.s3-34.203.333

MONTAGU, M. F. Ashley. Vesalius and the Galenists. **The Scientific Monthly**, v. 80, n. 4, 1955.

MOVASAGHI, Zanyar; REHMAN, Shazza; REHMAN, Ihtesham U. Raman spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 42, n. 5, 2007. Doi: 10.1080/05704920701551530

NEWTON, Isaac. **Letter to the Royal Society presenting a new theory of light and colours**. London: Royal Society, v. 1671, 1671.

ON, Thomas J. *et al.* Revolution in Surgical Anatomy During the 16th Century: The Neglected Encounters Between Andreas Vesalius and Ambroise Paré. **World Neurosurgery**, v. 196, 2025. Doi: 10.1016/j.wneu.2025.123810

ORLANDO, Andrea *et al.* A comprehensive review on Raman spectroscopy applications. **Chemosensors**, v. 9, n. 9, 262, 2021. Doi: 10.3390/chemosensors9090262.

O'SHEA, Timothy M. *et al.* Cell biology of spinal cord injury and repair. **The Journal of clinical investigation**, v. 127, n. 9, p. 3259-3270, 2017. Doi: 10.1172/JCI90608.

PANOURIAS, Ioannis G. *et al.* The hellenic and hippocratic origins of the spinal terminology. **Journal of the History of the Neurosciences**, v. 20, n. 3, p. 177–187, 2011. Doi: 10.1080/0964704X.2010.510180

PAULA, Alecsandra Araújo. **Efeito da terapia com laser de baixa intensidade na recuperação de lesão medular traumática**. São José dos Campos, 2011. 127 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2011.

PÉZOLET, M.; GEORGESCAULD, Dinu. Raman spectroscopy of nerve fibers. A study of membrane lipids under steady state conditions. **Biophysical journal**, v. 47, n. 3, p. 367-372, 1985.

PICARDI, Gennaro *et al.* Degeneração tecidual na medula espinhal afetada por ELA avaliada por espectroscopia Raman. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 13110, 2018.

PÎNZARU, Simona Cintă; KIEFER, Wolfgang. Raman's discovery in historical context. *In*: In: TOPORSKI, J.; DIEING, T.; HOLLRICHER, O. (eds) **Confocal Raman Microscopy**. Springer Series in Surface Sciences, v. 66. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-75380-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75380-5_1)

POINTILLART, V. *et al.* Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase. **Spinal cord**, v. 38, n. 2, p. 71-76, 2000. Doi: 10.1038/sj.sc.3100962.

QURESHI, Umer A.; GOSAIN, Arun K. Sushruta: The Father of Indian Surgical History. **Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open**, v. 12, n. 11, e6309, 2024. Doi: 10.1097/GOX.00000000000006309

RAMEZANI, Fatemeh *et al.* Photobiomodulation for spinal cord injury: A systematic review and meta-analysis. **Physiology and Behavior**, v. 224, 2020. Doi: 10.1016/j.physbeh.2020.112977

RAZZAGHI, Mohammadreza *et al.* Evaluation of Photobiomodulation on myocardial function of patients with advanced ischemic cardiomyopathy, A case series. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 47, 2024. Doi: 10.1016/j.pdpdt.2024.104092.

RIBERTO, Marcelo *et al.* Study of cost determinants in the care of subjects with traumatic spinal cord injury. **Acta Fisiátr.**, v. 30, n. 1, p. 7-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2317-0190.v30i1a206648>

ROCHKIND, S. *et al.* Intraoperative clinical use of low-power laser irradiation following surgical treatment of the tethered spinal cord. *In*: Three-Dimensional Bioimaging Systems and Lasers in the Neurosciences. SPIE, v. 1428, 1991. **Proceedings...**, Los Angeles, 1991. p. 52-58.

ROCHKIND, Semion; VOGLER, Idit; BARR-NEA, Liliane. Spinal Cord Response to Laser Treatment of Injured Peripheral Nerve. **Spine**, v. 15, n. 1, p. 6-10, 1990.

SANTANA, Caroline Nascimento; REBELLATO, Carolina. Sexuality: implications for the daily lives of people with spinal cord injury. **Acta fisiátrica**, v. 29, n. 3, p. 204-218, 2022. Doi: 10.11606/issn.2317-0190.v29i3a192778

SAREMI, Jamileh *et al.* Advanced approaches to regenerate spinal cord injury: The development of cell and tissue engineering therapy and combinational treatments. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 146, p. 112529, 2022. Doi: 10.1016/j.biopha.2021.112529

SAXENA, Tarun *et al.* Raman spectroscopic investigation of spinal cord injury in a rat model. **Journal of biomedical optics**, v. 16, n. 2, p. 027003-027003-14, 2011. Doi: 10.1117/1.3549700.

SCANDOLA, M. *et al.* Neurocognitive benefits of physiotherapy for spinal cord injury. **J. Neurotrauma**, v. 36, n. 12, p. 2028-2035, 2019. Doi: 10.1089/neu.2018.6123

SCHIZAS, Nikos *et al.* Hyaluronic acid-based hydrogel enhances neuronal survival in spinal cord slice cultures from postnatal mice. **Journal of biomaterials applications**, v. 28, n. 6, p. 825-836, 2014. Doi: 10.1177/0885328213483636

SHI, Yunzhou *et al.* Longitudinal in vivo coherent anti-Stokes Raman scattering imaging of demyelination and remyelination in injured spinal cord. **Journal of biomedical optics**, v. 16, n. 10, p. 106012-106012-4, 2011. Doi: 10.1117/1.3641988

SHUAIB, A.; BOURISLY, A. K. Photobiomodulation optimization for spinal cord injury rat phantom model. **Translational Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 67–71, 2018. Doi : 10.1515/tnsci-2018-0012

SKINNIDER, Michael A. *et al.* Single-cell and spatial atlases of spinal cord injury in the Tabulae Paralytica. **Nature**, v. 631, n. 8019, p. 150-163, 2024. Doi: 10.1038/s41586-024-07504-y.

SOUZA, Nathanael Robledo Nunes. **História do Microscópio e importância para o desenvolvimento científico**. 2023. 45 f. Monografia (Graduação em Física Licenciatura) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.

SPLAVSKI, B. *et al.* Andreas Vesalius, the Predecessor of Neurosurgery: How his Progressive Scientific Achievements Affected his Professional Life and Destiny. **World Neurosurgery**, v. 129, p. 202-209, 2019. Doi: 10.1016/j.wneu.2019.06.008

STEVENS, Andrew R. *et al.* Evaluation of transcriptomic changes after photobiomodulation in spinal cord injury. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, 3193, 2025. Doi: 10.1038/s41598-025-87300-4

STRAUMANN, Norbert. Einstein in 1916: “On the Quantum Theory of Radiation”. **Swiss Physical Society**, n. 51, 2017. Doi: 10.48550/arXiv.1703.08176

TURTLE, Joel D. *et al.* Engaging pain fibers after a spinal cord injury fosters hemorrhage and expands the area of secondary injury. **Experimental Neurology**, v. 311, p. 115–124, 2019. Doi: 10.1016/j.expneurol.2018.09.018

VAN MIDDENDORP, Joost J.; SANCHEZ, Gonzalo M.; BURRIDGE, Alwyn L. The Edwin Smith papyrus: A clinical reappraisal of the oldest known document on spinal injuries. **European Spine Journal**, v. 19, n. 11, p. 1815-1823, 2010. Doi: 10.1007/s00586-010-1523-6

VERONEZ, S. *et al.* Effects of different fluences of low-level laser therapy in an experimental model of spinal cord injury in rats. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 2, p. 343–349, 2017. Doi: 10.1007/s10103-016-2120-7

WANG, Haifeng *et al.* Imagem coerente de espalhamento Raman anti-Stokes da mielina axonal em tecidos espinhais vivos. **Biophysical Journal**, v. 89, n. 1, p. 581-591, 2005. Doi: 10.1529/biophysj.105.061911.

WANG, Shuang *et al.* Imagem microespectral Raman confocal de tecido da medula espinhal humana ex vivo. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 163, p. 177-184, 2016.

WANG, Xuankang *et al.* Photobiomodulation promotes repair following spinal cord injury by regulating the transformation of A1/A2 reactive astrocytes. **Frontiers in neuroscience**, v. 15, 768262, 2021. Doi: 10.3389/fnins.2021.768262.

XIANG, Jinpo; VENKATESAN, Santhana. The role of Vesalius and his contemporaries in the transfiguration of human anatomical science. **Journal of Anatomy**, v. 242, n. 2, p. 124–131, 2023. Doi: 10.1111/joa.13773.

XU, Tao *et al.* Photocrosslinkable human amniotic membrane hydrogel for recovery from spinal cord injury. **Bio-Design and Manufacturing**, v. 7, n. 6, p. 1035–1052, 2024. Doi: 10.1007/s42242-024-00318-x

YADAV, Archana *et al.* A cellular taxonomy of the adult human spinal cord. **Neuron**, v. 111, n. 3, p. 328-344, 2023. Doi: 10.1016/j.neuron.2023.01.007.

YOGURTCU, Burak *et al.* A Review of Non-Destructive Raman Spectroscopy and Chemometric Techniques in the Analysis of Cultural Heritage. **Molecules**, v. 29, n. 22, 5324, 2024. Doi: 10.3390/molecules29225324

ZAYTSEVA, Yulia V.; OKOTRUB, Konstantin A.; SUROVTSEV, Nikolai V. Sensitivity of the C–H Stretching Band in Raman Spectra to Phospholipid Order. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 55, n. 11, p. 1179-1189, 2024. Doi: <https://doi.org/10.1002/jrs.6731>

ZHANG, Furong *et al.* Raman spectroscopic investigation on the biomedical evolution of spinal cord injury and the therapeutic outcomes of its low-level laser therapy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 118, p. 103337, 2022. Doi: 10.1016/j.vibspec.2022.103337

ZHANG, Zhihao *et al.* Photobiomodulation reduces neuropathic pain after spinal cord injury by downregulating CXCL10 expression. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 29, n. 12, p. 3995–4017, 2023. Doi: 10.1111/cns.14325.

ZHONG, Dong *et al.* Neural stem cell-derived exosomes facilitate spinal cord functional recovery after injury by promoting angiogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, v. 245, n. 1, p. 54-65, 2020. Doi: 10.1177/1535370219895491

ZHU, Zhijie *et al.* Photobiomodulation promotes repair following spinal cord injury by restoring neuronal mitochondrial bioenergetics via AMPK/PGC-1 $\alpha$ /TFAM pathway. **Frontiers in pharmacology**, v. 13, p. 991421, 2022. Doi: 10.3389/fphar.2022.991421

## ANEXO A: PARECER DO CEUA



UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA  
 Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento  
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**MEMBRANA AMNIÓTICA E FOTOBIMODULAÇÃO COMO OPÇÃO PARA O TRATAMENTO DE CONTUSÃO MEDULAR EM RATOS**", registrada com o protocolo nº **A8-CEA-2022**, sob a responsabilidade de Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), em reunião de **\_09 / \_06 / \_2022**.

Vigência da autorização	20/08/2022-30/07/2025
Finalidade ( ) Ensino (x) Pesquisa Científica	
Nº da Solicitação ou Autorização SISBIO	Não se aplica
Atividade(s)	( ) Captura ( ) Coleta de espécimes ( ) Marcação (X) Outras: Coleta de informações
Espécies/Grupos Taxonômicos	<i>Rattus Norvegicus</i> (rato)
Local(is) de realização das atividades	Biotério IP&D-UNIVAP

*Cristina Pacheco Soares*

Prof. Dra. Cristina Pacheco Soares

Coordenadora CEUA-UNIVAP

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA  
 IP&D - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento  
 Av. Shishima Hifumi, 2911 - Urbanova CEP 12244-000 PABX(012) 349.1000 FAX(012) 349.1252 Caixa Postal 82 S.J.Campos-SP

Email: [ceua@univap.br](mailto:ceua@univap.br)