

UNIVAP - Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento IP&D
Mestrado em Engenharia Biomédica

Emília Pio Ferrari dos Santos

**Avaliação dos Efeitos da Fotobiomodulação com LEDs de Diferentes
Comprimentos de Onda em Fibroblastos *In Vitro***

**Evaluation of the Effects of Photobiomodulation with LEDs of Different
Wavelengths on Fibroblasts In Vitro**

São José dos Campos - SP

2025

Emília Pio Ferrari dos Santos

Avaliação dos Efeitos da Fotobiomodulação com LEDs de Diferentes Comprimentos de Onda em Fibroblastos *In Vitro*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Juliana Guerra Pinto

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Juliana Strixino Ferreira

São José dos Campos - SP
2025

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

Ficha catalográfica

Santos, Emilia Pio Ferrari dos
Avaliação dos efeitos da fotobiomodulação com LEDs de
diferentes comprimentos de onda em fibroblastos In vitro / Emilia
Pio Ferrari dos Santos; orientadora, Juliana Guerra Pinto;
co-orientadora Juliana Strixino Ferreira. - São José dos Campos,
SP, 2025.

1 CD-ROM, 60 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. Fotobiomodulação. 3. Fibroblast .
4. Luz visível. 5. Espectroscopia. I. Pinto, Juliana Guerra,
orient. II. Ferreira, Juliana Strixino, co-orient. III.
Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Biomédica. IV. Título.

Eu, Emília Pio Ferrari dos Santos, 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, 26 de Novembro de 2025.



Autor(a) da Obra

EMÍLIA PIO FERRARI DOS SANTOS

**“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO COM LEDs DE DIFERENTES
COMPRIMENTOS DE ONDA EM FIBROBLASTOS *in vitro*.”**

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	<i>Emilia A Lo Schiavo Arisawa</i>
Prof. ^a Dr. ^a Juliana Guerra Pinto	<i>Juliana Guerra Pinto</i>
Prof. ^a Dr. ^a Juliana Ferreira Strixino	<i>Juliana Ferreira Strixino</i>
Prof. ^a Dr. ^a Cristina Pacheco Soares	<i>Cristina Pacheco Soares</i>
Prof. ^a Dr. ^a Renata Amadei Nicolau – FUESPI - PI	<i>Renata Amadei Nicolau</i>

Prof.^a Dr.^a Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 08 de agosto de 2025.

DEDICATÓRIA

Ao meu criador, quem me permitiu estar entre outros homens nessa terra. Sem Deus nada seria possível acontecer em minha vida.

Ao meu pai, homem de coração puro, leve e honrado. Órfão de pais, mas que se tornou o melhor pai do mundo, enquanto a vida não lhe oferecia exemplo algum. Um mestre que superou os devaneios da vida, que recusou fazer-se vítima, muito pelo contrário, tornou-se meu maior exemplo de fé, perdão, humildade e força, homem feliz, pai dedicado e amoroso.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores do programa de pós graduação em Engenharia Biomédica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP.

À Profa. Dra. Ana Luíza Rosário, por ser um exemplo do que significa ser Mestre.

À Profa. Dra. Flávia Villaça Morais, minha primeira orientadora de TCC, por ter me incentivado e encaminhado para o universo da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Adriano Moraes da Silva, por me ensinar sobre o valor do trabalho em equipe e ser um grande exemplo de liderança e paixão pela profissão.

À Profa. Dra. Juliana Strixino Ferreira, por acolher meus projetos e sonhos com generosidade e excelência em seu laboratório.

À Profa. Dra. Juliana Guerra Pinto, um verdadeiro presente em minha trajetória, que me guiou com paciência, dedicação e coragem frente aos desafios do meu aprendizado e da inovação científica.

À Profa. Dra. Luciana Cortez. Esses experimentos não são apenas meus — são nossos. Obrigada por sua serenidade, por tantas vezes me estender a mão e por me conduzir com tanto cuidado na busca por sentido e propósito na ciência.

Ao meu colega e amigo, Mestre Lucas, por me ajudar a enriquecer este experimento com tanto empenho, profissionalismo, orientação e generosidade.

A todos os membros do laboratório PhotoBios, pelo compromisso com a qualidade científica e pela alegria no dia a dia.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Às amigas que compreendem minhas ausências em cafés e comemorações, e que me aceitam como sou, sabendo o quanto os estudos fazem parte de mim.

À Dra. Nayra Beatriz Dias, minha colega e amiga de profissão, que incentiva meu espaço na pesquisa e me impulsiona a ser uma profissional de excelência.

À minha mãe, exemplo de força e resiliência.

Aos meus irmãos, de quem tanto me orgulho.

Aos meus filhos, OBRIGADA por me ensinarem a ser mãe e por me permitirem fazer parte de suas vidas.

Ao meu companheiro de vida, meu esposo amado, meu melhor amigo e maior incentivador. Obrigada por estar ao meu lado em cada plano, do mais simples ao mais ousado, por apoiar meus sonhos e tornar tudo mais significativo ao comemorar comigo cada conquista.

RESUMO

A fotobiomodulação (FBM) é uma terapia não invasiva que utiliza luz em diferentes comprimentos de onda para modular processos celulares e estimular a regeneração tecidual. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da irradiação com LED em fibroblastos L929 cultivados in vitro, empregando os comprimentos de onda de 420, 450, 530, 590 e 630 nm, todos aplicados com fluência padronizada de 5 J/cm². As análises incluíram viabilidade celular (azul de Trypan), atividade metabólica (ensaio de MTT), morfologia (Giemsa) e perfil bioquímico (FTIR-ATR), com tratamento estatístico por ANOVA/Tukey ($p < 0,05$). Os tempos de irradiação variaram conforme o diodo emissor: 420 nm (114 s; 43,7 mW/cm²), 450 nm (149 s; 33,6 mW/cm²), 530 nm (60 s; 83,3 mW/cm²), 590 nm (333 s; 15 mW/cm²) e 630 nm (129 s; 38,6 mW/cm²). Os resultados indicaram respostas distintas conforme o comprimento de onda. O LED de 420 nm reduziu discretamente a atividade metabólica sem comprometer a viabilidade; 450 nm manteve perfil semelhante ao controle, com alterações bioquímicas sutis; 530 nm promoveu aumento significativo da atividade metabólica e padrões compatíveis com estímulo ao reparo celular; 590 nm apresentou efeito inibitório; e 630 nm preservou a viabilidade, com indícios de incremento na síntese proteica. Conclui-se que a resposta dos fibroblastos à FBM é dependente do comprimento de onda e da parametrização utilizada, reforçando a importância da padronização dos parâmetros de irradiação para alcançar efeitos terapêuticos desejáveis sem comprometer a integridade celular. Os achados contribuem para o entendimento dos mecanismos celulares da fotobiomodulação e fornecem suporte para sua aplicação segura e eficaz em protocolos clínicos, especialmente na dermatologia regenerativa.

Palavras-chave: fotobiomodulação; fibroblastos; luz visível; espectroscopia FTIR.

ABSTRACT

Photobiomodulation (PBM) is a non-invasive therapy that uses light at different wavelengths to modulate cellular processes and stimulate tissue regeneration. This study aimed to evaluate the effects of LED irradiation on L929 fibroblasts cultured *in vitro*, using wavelengths of 420, 450, 530, 590, and 630 nm, all applied with a standardized fluence of 5 J/cm². The analyses included cell viability (Trypan blue exclusion), metabolic activity (MTT assay), morphology (Giemsa staining), and biochemical profile (FTIR-ATR), with statistical analysis performed by ANOVA/Tukey ($p < 0.05$). Irradiation times varied according to the light-emitting diode: 420 nm (114 s; 43.7 mW/cm²), 450 nm (149 s; 33.6 mW/cm²), 530 nm (60 s; 83.3 mW/cm²), 590 nm (333 s; 15 mW/cm²), and 630 nm (129 s; 38.6 mW/cm²). The results indicated wavelength-dependent cellular responses. The 420 nm LED slightly reduced metabolic activity without affecting viability; 450 nm maintained a profile similar to the control, with subtle biochemical changes; 530 nm produced a significant increase in metabolic activity and patterns consistent with cellular repair stimulation; 590 nm showed an inhibitory effect; and 630 nm preserved cell viability, with evidence of enhanced protein synthesis. These findings demonstrate that fibroblast response to PBM depends on the wavelength and irradiation parameters, emphasizing the need for standardized dosimetry to achieve desired therapeutic outcomes without compromising cellular integrity. The results contribute to a deeper understanding of the cellular mechanisms involved in PBM and support its safe and effective application in clinical protocols, particularly in regenerative dermatology.

Keywords: photobiomodulation; fibroblasts; visible light; FTIR spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotomicrografia de corte de pele (HE. Médio aumento.).....	14
Figura 2: Camadas da pele	16
Figura 3: Profundidade de permeação da luz	18
Figura 4: Proposta do mecanismo de ação da FBM da luz vermelha e infra vermelho próximo	27
Figura 5: Ensaio de Viabilidade Celular por exclusão de Azul Tripán	35
Figura 6: Resposta Celular à Fotobiomodulação em diferentes comprimentos de onda	37
Figura 7: Micrografias obtidas por microscopia de campo claro para análise de morfologia celular após irradiação pela coloração de Giemsa dos grupos Controle (A), 420 nm (B), 450 nm (C), 530 nm (D), 590 nm (E) e 630 nm (F).....	41
Figura 8: Espectros médios de todos os grupos de Fibroblastos analisados, na região de 4000 a 450 cm^{-1}	42
Figura 9: Dendrograma dos espectros obtidos dos Fibroblastos, na região de 4000 a 450 cm^{-1}	43
Figura 10: Espectros médios de todos os grupos dos Fibroblastos, nas regiões de 3700 a 2500 cm^{-1} e 1775 a 1185 cm^{-1} , com os picos atribuídos destacados.	44
Figura 11: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 2923 cm^{-1}	46
Figura 12: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 1537 cm^{-1}	47
Figura 13: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 1234 cm^{-1}	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Comprimento de onda, dosimetria, indicações e referências.	25
Quadro 2: Nomenclatura para os grupos dos fibroblastos irradiados.	41
Quadro 3: Número de onda e suas atribuições aproximadas.....	45
Quadro 4: Aplicação Clínica por Comprimento de Onda	52

ABREVIACOES

ATP	Adenosina Trifosfato
BGLAP	Bone Gamma-Carboxyglutamate Protein (Osteocalcina)
BGN	Biglicano
Ca²⁺	on Cálcio
ETC	Cadeia de Transporte de Elétrons
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
FTIR-ATR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Total Atenuada
GSH	Glutathiona Reduzida
HCA	Hierarchical Cluster Analysis (Análise de Agrupamento Hierárquico)
HIF	Fator Induzível por Hipóxia (Hypoxia-Inducible Factor)
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
LLLT	Low-Level Laser Therapy (Terapia a Laser de Baixa Intensidade)
MAIS	Melasma Area and Intensity Score (Escore de área e Int. do Melasma)
MMP-1	Metaloproteinase da Matriz 1
MMP-2	Metaloproteinase da Matriz 2
mRNA	RNA Mensageiro
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo (ensaio de viabilidade celular)
NF-B	Fator Nuclear Kappa B
NIR	Infravermelho Próximo (Near Infrared)
NO	xido Ntrico
PCA	Principal Component Analysis (Análise de Componentes Principais)
FBM	Fotobiomodulao (Photobiomodulation)
ROS	Espécies Reativas de Oxignio (Reactive Oxygen Species)
RUNX2	Runt-related Transcription Factor 2
SOST	Esclerostina
TNF-	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UV-A	Ultravioleta tipo A
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Pele.....	14
2.2 Fotobiomodulação	17
2.3 Interação Luz X Tecido	25
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo Geral.....	30
3.2 Objetivo Específico	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1 Cultivo celular dos Fibroblastos	31
4.2 Parâmetros de Irradiação.....	31
4.3 Análise da viabilidade celular dos fibroblastos pelo do método de exclusão com Azul de Trypan:	31
4.4 Determinação da atividade metabólica pelo teste de MTT.....	32
4.5 Avaliação da Morfologia Celular Após Irradiação por Coloração de May–Grunwald–Giemsa.....	33
4.6 Análise espectroscópica por FTIR-ATR.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Análise qualitativa dos espectros infravermelhos obtidos	41
5.2 Uso da análise hierárquica de agrupamento (HCA) em todos os espectros infravermelhos obtidos.....	43
5.3 Atribuição aproximada de bandas dos espectros infravermelhos dos fibroblastos	44
5.4 Análise quantitativa de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos nos espectros infravermelhos obtidos.....	45
5.4.1 Lipídeos	46
5.4.2 Proteínas	47
5.4.3 Ácidos nucleicos.....	47
6 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e desempenha funções fundamentais de proteção, regulação e interação com o ambiente externo. Sua integridade, no entanto, pode ser comprometida por diversos fatores, como envelhecimento, lesões e exposição a agentes externos, especialmente a radiação ultravioleta. Esses fatores afetam a matriz extracelular e o funcionamento das células dérmicas, principalmente os fibroblastos, células essenciais para a manutenção e reparo do tecido conjuntivo, responsáveis pela produção de colágeno, elastina e outros componentes estruturais (Junqueira; Carneiro, 2023).

A fotobiomodulação (FBM) é uma abordagem terapêutica não invasiva que vem ganhando espaço em diferentes áreas da saúde. Ela utiliza luz com comprimentos de onda específicos para estimular processos celulares sem causar danos térmicos. A interação da luz com estruturas intracelulares, como a enzima mitocondrial citocromo c oxidase, pode aumentar a produção de ATP, modular o estresse oxidativo, influenciar a liberação de cálcio e ativar vias de sinalização que favorecem a proliferação celular, a síntese de matriz extracelular e o controle da inflamação (Maghfour *et al.*, 2024).

Estudos mostram que fibroblastos irradiados com parâmetros controlados apresentam maior atividade metabólica e capacidade de regeneração (Giannakopoulos *et al.*, 2022). Apesar disso, ainda existem lacunas importantes na literatura — principalmente relacionadas à padronização dos parâmetros de irradiação, como fluência e tempo de exposição. Além disso, a maioria das pesquisas foca nos comprimentos de onda vermelho e infravermelho próximo, enquanto outras faixas, como a violeta, azul, verde e âmbar, ainda são pouco exploradas.

Cada comprimento de onda tem características próprias, como profundidade de penetração e afinidade por determinados cromóforos, o que pode gerar respostas celulares diferentes. Entender essas diferenças é essencial para desenvolver protocolos mais eficazes, individualizados e seguros, principalmente em aplicações estéticas e regenerativas, onde os fibroblastos são alvo direto da estimulação luminosa.

A fotobiomodulação é uma modalidade terapêutica não invasiva que utiliza luz em faixas específicas do espectro eletromagnético para modular processos biológicos, com aplicação crescente nas áreas médica e estética. Essa modulação ocorre por meio da absorção de fótons por cromóforos celulares, como a enzima mitocondrial Citocromo c oxidase, promovendo alterações na produção de ATP, espécies reativas de oxigênio (ERO), cálcio intracelular e ativação de vias de sinalização celular. Tais efeitos estão associados a respostas fisiológicas relevantes, como proliferação celular, síntese de colágeno, reparo tecidual e modulação inflamatória (Maghfour *et al.*, 2024).

Entre as células mais responsivas à FBM estão os fibroblastos, elementos centrais na manutenção da homeostase dérmica e no processo de cicatrização, por serem os principais produtores da matriz extracelular, incluindo colágeno, elastina, fibronectina e glicosaminoglicanos. A funcionalidade dos fibroblastos está diretamente ligada à integridade da pele e à eficácia de terapias regenerativas e antienvhecimento, justificando seu uso como modelo experimental para estudos celulares *in vitro* (Cavalcanti *et al.*, 2011). Embora a FBM já seja aplicada clinicamente em tratamentos dermatológicos para rejuvenescimento, cicatrização de feridas, redução de inflamações e melhora da textura e elasticidade da pele, há lacunas importantes na literatura científica. Uma delas é a carência de padronização dos parâmetros de irradiação os quais influenciam diretamente a resposta biológica e a segurança da técnica (Iaria *et al.*, 2025). Além disso, estudos disponíveis concentram-se em comprimentos de onda do espectro vermelho e infravermelho próximo, sendo escassas as evidências científicas sobre os efeitos de faixas espectrais como a violeta, azul, verde e âmbar. No entanto, cada comprimento de onda possui propriedades ópticas distintas, como profundidade de penetração nos tecidos e afinidade por cromóforos específicos, o que pode gerar respostas celulares singulares.

Compreender essas respostas é essencial para desenvolver aplicações terapêuticas mais eficazes e personalizadas, sobretudo em protocolos estéticos e regenerativos. Evidências recentes indicam que fibroblastos irradiados com parâmetros controlados apresentam maior atividade metabólica, incremento na síntese de colágeno e melhora da resposta regenerativa (Giannakopoulos *et al.*, 2022; Sanford; Earle; Likely, 1948; Schmidt *et al.*, 2025). No entanto, permanecem desafios relacionados à padronização dos parâmetros de irradiação, enquanto faixas

espectrais como a violeta, azul, verde e âmbar ainda são pouco exploradas, apesar de seu potencial biológico (Fernandes Neto *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2024).

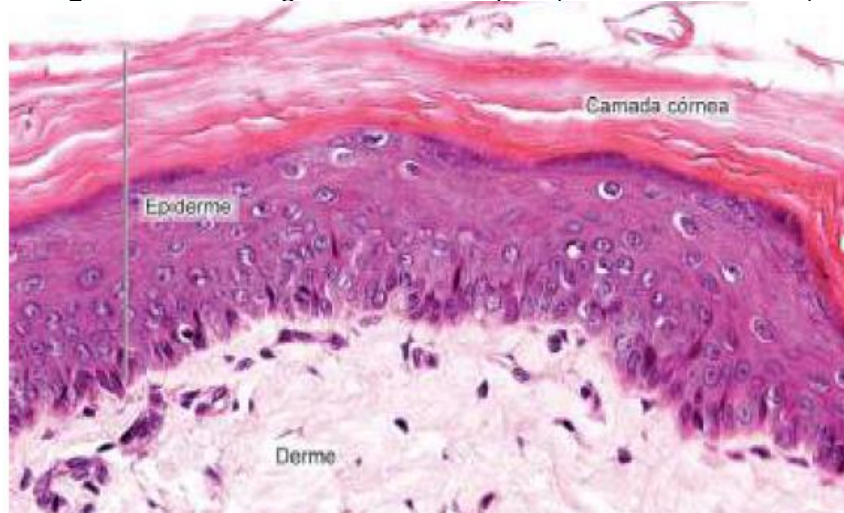
Diante disso, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da FBM com LEDs de diferentes comprimentos de onda (420, 450, 530, 590 e 630 nm) sobre fibroblastos cultivados *in vitro*. Para tanto, foram realizadas análises de viabilidade celular, atividade metabólica, morfologia estrutural e perfil bioquímico por espectroscopia FTIR-ATR, de modo a oferecer subsídios experimentais que auxiliem no desenvolvimento de protocolos clínicos mais seguros e eficazes em estética e medicina regenerativa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pele

A pele é responsável por atuar como barreira protetora e manter a homeostase tecidual. Estruturalmente, a derme concentra os fibroblastos, células fundamentais para a síntese e remodelação da matriz extracelular (MEC). Essas células secretam colágeno, elastina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e fibronectina, componentes essenciais para a manutenção da integridade e da função da pele (Junqueira; Carneiro, 2023).

Figura 1: Fotomicrografia de corte de pele (HE. Médio aumento.)



Fonte: Junqueira; Carneiro, 2023.

A pele constitui a camada mais externa do organismo, com uma área média de 1,8 m², aproximadamente 4kg, correspondendo a aproximadamente 16% do peso corporal. Esse órgão recobre toda a superfície corporal exercendo diversas funções, dentre elas a proteção física do corpo contra o meio externo, incluindo o atrito, a pressão, e regula temperatura corporal como calor e frio (Chambers; Vukmanovic-Stejic, 2020; Junqueira; Carneiro, 2023; Khavkin; Ellis, 2011).

A pele é composta por duas camadas principais: epiderme e derme. A hipoderme, ou tecido subcutâneo, embora frequentemente associada à pele, é uma camada separada que a conecta às estruturas subjacentes, como músculos e ossos.

A epiderme saudável é composta por epitélio escamoso estratificado, cuja principal célula é o queratinócito, responsável pela renovação celular da parte mais

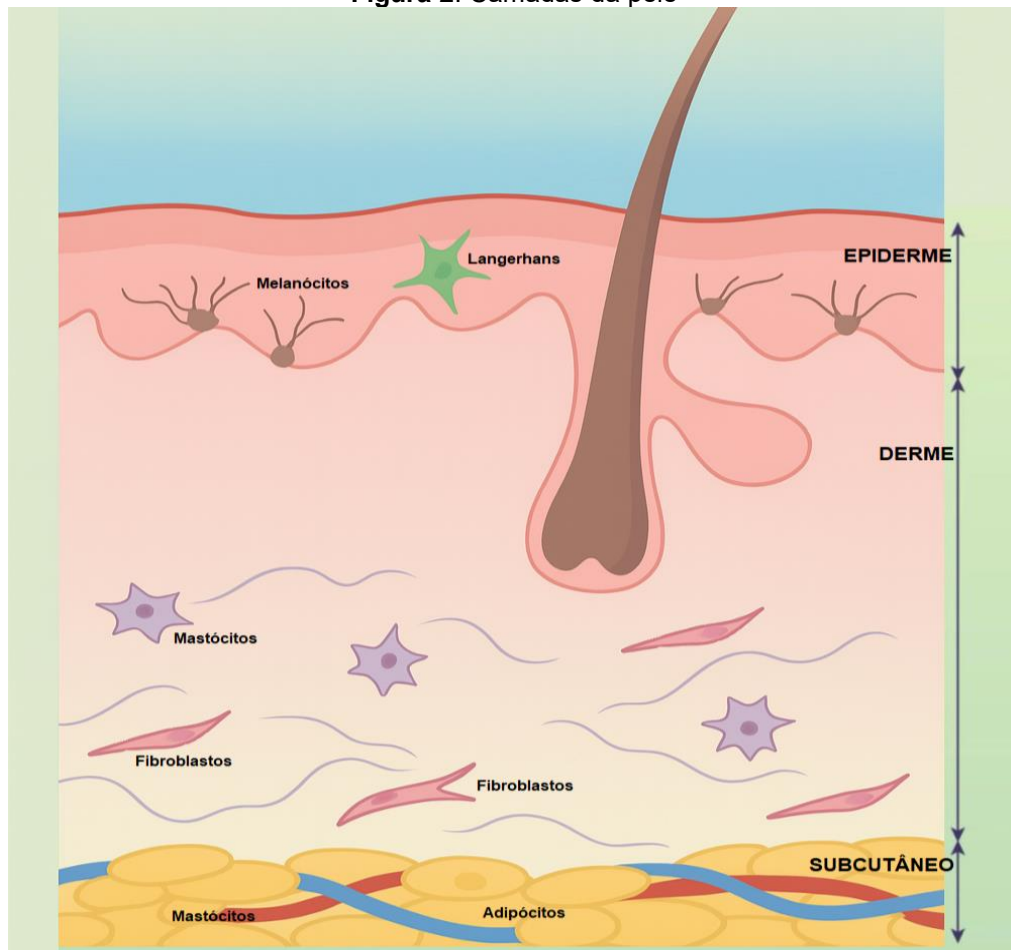
externa da pele. Além deles a epiderme abriga outras células, em menor quantidade, como os melanócitos, produtores de melanina, células de Langerhans com função imunológica e células de Merkel associadas à percepção sensorial (Khavkin; Ellis, 2011).

A derme é a camada intermediária da pele e tem como principal célula o fibroblasto, responsável pela produção de colágeno e fibras elásticas. Essa matriz confere resistência a choques mecânicos, e elasticidade, permitindo que a pele retorne a sua forma original após deformações. Também são encontradas terminações nervosas, responsáveis pela sensação de toque, e vasos sanguíneos que nutrem a derme (Khavkin; Ellis, 2011).

Os fibroblastos desempenham um papel essencial no reparo tecidual, sendo responsáveis pela manutenção da integridade do tecido conjuntivo por meio da síntese dos componentes da matriz extracelular (Junqueira; Carneiro, 2023). Além da produção de colágeno, os fibroblastos também produzem elastina, fibronectina, glicosaminoglicanos e proteases, substâncias essenciais para o desbridamento e remodelamento fisiológico dos tecidos (Rorteau *et al.*, 2020).

Estruturalmente, é composta por epiderme e derme. A epiderme contém predominantemente queratinócitos, responsáveis pela renovação celular, além de melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. A derme, localizada logo abaixo, é caracterizada pela presença abundante de fibroblastos, principais células do tecido conjuntivo cutâneo (Khavkin; Ellis, 2011).

Figura 2: Camadas da pele



Fonte: A autora.

Os fibroblastos desempenham papel essencial na homeostase e no reparo tecidual. São responsáveis pela síntese de colágeno, elastina, fibronectina e glicosaminoglicanos, que compõem a matriz extracelular (MEC), conferindo resistência, elasticidade e suporte estrutural à pele (Junqueira; Carneiro, 2023). Além disso, secretam proteases e fatores de crescimento, regulando processos como remodelamento, cicatrização e angiogênese (Rorteau *et al.*, 2020).

Com o envelhecimento e a exposição crônica a fatores extrínsecos, como radiação ultravioleta, ocorre declínio da atividade fibroblástica, levando à fragmentação do colágeno, redução da elasticidade e comprometimento da regeneração cutânea (Varani *et al.*, 2006; Quan *et al.*, 2015). Essas alterações impactam diretamente a qualidade da pele, sendo alvo central de estratégias terapêuticas regenerativas.

Nesse contexto, os fibroblastos tornaram-se modelo celular amplamente utilizado em pesquisas de fotobiomodulação. Como células sensíveis à estimulação

luminosa, respondem a diferentes comprimentos de onda com alterações em metabolismo, proliferação e síntese de MEC, evidenciando seu potencial na reparação e rejuvenescimento cutâneo (Karu, 1999; Freitas; Hamblin, 2022; Giannakopoulos *et al.*, 2022).

2.2 Fotobiomodulação

A fotobiomodulação (FBM), também conhecida como terapia com luz de baixa intensidade, é uma técnica que utiliza a luz para modular processos biológicos e celulares. Essa abordagem promove a entrega controlada e gradual de fótons, estimulando respostas terapêuticas nos tecidos-alvo (Ferrari, 2021).

A segurança da aplicação da luz de baixa intensidade na faixa do vermelho em tecidos vivos vem sendo estudada há mais de 50 anos. Diversos experimentos demonstraram que, embora não haja evidências de alterações cancerígenas associadas a essa terapia, efeitos benéficos foram observados, como aceleração do crescimento capilar e melhora da cicatrização de feridas. Estudos também confirmaram que a exposição à luz vermelha e infravermelha próxima estimula a multiplicação celular (Glass, 2021).

A fotobiomodulação foi descoberta de forma não intencional em 1967, pelo médico húngaro Endre Mester, durante uma tentativa de reproduzir um experimento publicado por McGuff e colaboradores, 1965, em Boston (EUA), que utilizava laser para tratar células tumorais em animais (McGuff; Deterling; Gottlieb, 1965). Contudo, o dispositivo de laser de rubi construído para Mester possuía apenas uma fração da potência do equipamento utilizado no estudo original. Como resultado, em vez de curar os tumores experimentais, a radiação de baixa intensidade estimulou o crescimento de pelos e acelerou a cicatrização de feridas em ratos, nos locais onde os tumores haviam sido implantados. Essa descoberta levou à publicação de uma série de artigos, nos quais Mester cunhou o termo “bioestimulação a laser”, mais tarde conhecido como “terapia a laser de baixa intensidade”, LLLT (Mester; Szende; Gärtner, 1968), e posteriormente Fotobiomodulação (FBM) (Zein; Selting; Hamblin, 2018).

Karu e sua equipe se dedicaram a estudar as alterações que ocorriam após o uso da terapia com a luz vermelha, entre 1970 e 1990, e descobriram que a ativação

da enzima Citocromo c oxidase aumenta a produção de ATP pelas mitocôndrias, resultando em maior atividade metabólica das células (Glass, 2021; Karu, 1999).

A interação da luz com tecidos vivos ocorre por meio dos processos ópticos de reflexão, transmissão, espalhamento e absorção. Esses fenômenos desencadeiam reações fotoquímicas que podem estimular o reparo tecidual, reduzir a inflamação e promover a regeneração celular (Ferrari, 2021).

A incidência da luz sobre tecidos biológicos resulta na reflexão de parte da radiação na interface com o meio. A fração que adentra o tecido pode ser subdividida em luz absorvida, luz espalhada (scatter) e luz transmitida. (Ferrari, 2021).

Quando a luz é absorvida, fornece energia específica ao tecido e a profundidade de penetração da luz, ou seja, a camada do tecido em que a absorção ocorrerá, pode ser controlada alterando o comprimento de onda da luz incidida, atingindo no tecido alvo estruturas conhecidas como cromóforos (Ferrari, 2021).

Em ordem crescente de frequências, as cores do espectro visível são: vermelho, laranja, amarelo, verde, ciano, azul e violeta como ilustra a figura a seguir (Ferrari, 2021):

Figura 3: Profundidade de permeação da luz



Fonte: Ferrari, 2021.

Segundo Ferrari (2021), cada comprimento de onda dentro do espectro visível está associado a uma cor específica e possui indicações terapêuticas distintas, conforme descrito no Tabela 1.

Tabela 1: Indicações de tratamentos para cada comprimento de onda

Led azul 405 nm	Acne inflamatória, dermatite perioral, eczema facial, psoríase, vitiligo.
Led Amarelo âmbar 590 nm	Rejuvenescimento
Led Vermelho 635 nm	Rejuvenescimento, pós-operatório, acne inflamatória, dermatite perioral, eczema facial, úlcera crônica
Infravermelho 940 nm	Cicatrização em pós-operatório, pós laser ablativo, pós peeling médio e profundo, úlceras crônicas, rejuvenescimento, infecções por herpes, dor, líquen plano, edema.

Fonte: Ferrari, 2021.

Algumas características da luz utilizada na fotobiomodulação dependem da fonte emissora. No caso do laser, a luz apresenta propriedades como monocromaticidade, colimação e coerência, o que permite uma propagação mais direcional e com menor divergência. Já fontes não coerentes, como os LEDs, também são amplamente utilizadas na FBM, emitindo luz com leve variação espectral e maior ângulo de abertura. Essas características favorecem aplicações em áreas maiores e com menor risco térmico, mantendo eficácia nos efeitos fotobiológicos desejados. A utilidade terapêutica da FBM consiste em emitir uma luz monocromática que é seletivamente absorvida por fotorreceptores moleculares chamados de cromóforos. Enquanto o cromóforo absorve a energia luminosa, as moléculas adjacentes não absorvem (Duarte; Buense; Kobata, 2006).

Na área da estética, a fotobiomodulação tem sido adotada como uma alternativa não invasiva para promover a produção de colágeno, reduzir rugas e melhorar a textura da pele (Cavalcanti *et al.*, 2011).

Com sua natureza não térmica e efeitos biológicos positivos, a FBM continua a despertar interesse para pesquisa em diversas áreas da saúde, oferecendo uma abordagem promissora para a promoção da saúde e bem-estar (Kuffler, 2016; Mineroff *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, a aplicação da FBM, tem ganhado destaque entre os pesquisadores que reconhecem a sua eficácia no tratamento de várias condições dermatológicas. Desde acne e cicatrização de feridas até rejuvenescimento da pele como uma alternativa não invasiva e promissora às terapias convencionais (Hernández-Bule *et al.*, 2024; Mineroff *et al.*, 2024).

A eficácia da fotobiomodulação está diretamente relacionada a diversos parâmetros da luz utilizada, tais como comprimento de onda, fluência, densidade de potência, duração do tratamento, área, distância e modo de pulso (Zein; Selting; Hamblin, 2018).

A quantidade de energia luminosa entregue por unidade de área ao longo de um período, é denominada pela fluência (J/cm^2). A luz empregada na FBM pode apresentar diferentes comprimentos de onda, medidos em nanômetros (nm), o que determina seu posicionamento no espectro eletromagnético e, conseqüentemente, suas propriedades terapêuticas específicas (Maghfour *et al.*, 2024).

A densidade de potência, também denominada irradiância é expressa em miliwatts por centímetro quadrado (mW/cm^2) e corresponde à quantidade de energia entregue por uma unidade de tempo e por unidade de área da superfície da pele (Maghfour *et al.*, 2024). Em geral fontes de luz utilizadas na FBM geram densidades de potência na faixa de 5 a 100 mW/cm^2 .

Outro parâmetro relevante para a eficácia do tratamento é o período de aplicação, que inclui tanto o tempo de exposição (variando de segundos a minutos a horas) quanto a frequência das aplicações, que pode ser diária, semanal ou conforme o protocolo terapêutico estabelecido.

No presente estudo foram investigados os efeitos terapêuticos de diferentes comprimentos de onda no espectro visível: violeta (420 nm), azul (450 nm), âmbar (490 nm), verde (530 nm) e vermelho (630 nm). A seguir, apresenta-se uma breve revisão de evidências científicas encontradas em cada uma dessas faixas espectros.

Estudos *in vitro* têm demonstrado que diferentes comprimentos de onda apresentam efeitos distintos nos fibroblastos. A luz vermelha (600–700 nm)

Em estudos recentes, Crous, Van Rensburg e Abrahamse (2024) compararam diferentes comprimentos de onda em fibroblastos e observaram que tanto a faixa do verde quanto a do infravermelho promoveram efeitos positivos no metabolismo celular, embora por vias distintas. Outros trabalhos confirmam que a resposta celular

depende não apenas do comprimento de onda, mas também da fluência, da densidade de potência e do tempo de exposição (Avci *et al.*, 2013; Hamblin, 2018).

Assim, a literatura evidencia que a PBM é capaz de modular respostas biológicas em fibroblastos, favorecendo processos de reparo, regeneração e homeostase cutânea. Entretanto, os resultados variam de acordo com os parâmetros adotados, o que reforça a necessidade de investigações adicionais com diferentes comprimentos de onda e protocolos padronizados para fundamentar a prática clínica

Os estudos sobre o efeito da fotobiomodulação utilizando luz violeta com comprimento de onda em 420 nm ainda são limitados. Zein, Selting e Hamblin (2018), em experimentos *in vitro* observaram a eficiência na diferenciação de células-tronco derivadas de tecido adiposo humano em osteoblastos, promovendo a formação óssea, na dosimetria 3 J/cm² utilizando 16 mW/cm² (Zein; Selting; Hamblin, 2018). Outro estudo demonstrou os efeitos antibacterianos e antiproliferativos desse comprimento de onda, com dosimetria de 20 J/cm², por 10 min, utilizada em fibroblastos dérmicos humano, *in vitro*, demonstrando a redução de ATP e inibição da proliferação celular, sem toxicidade significativa, sendo potencialmente útil no tratamento de cicatrizes hipertróficas e condições fibróticas (BRÜNING *et al.*, 2023). Chen e Chang em seus estudos utilizando a irradiação 420 nm, *in vitro*, utilizaram a dosimetria de 10 J/cm², em células epiteliais da córnea, observando aceleração na formação de junções celulares sem induzir morte celular, porém com efeitos semelhantes observados após 9 dias de cultivo celular sem a irradiação de luz (Chen; Chang, 2024). Kam e colaboradores (2021), demonstraram que aplicando 40 mW/cm² por 15 minutos diários, por 1 semana, nesse mesmo comprimento de onda, houve redução da atividade metabólica e aumento da permeabilidade de membrana com recuperação parcial de ATP após 72 horas (Kam *et al.*, 2021).

A luz azul, no comprimento de onda 450 nm é uma das faixas mais investigadas na fotobiomodulação, com um número crescente de publicações científicas. Uma de suas principais aplicações identificadas é a inibição bacteriana. Adamskaya *et al.*, 2011, obtiveram resultado positivo na cicatrização de feridas em modelo animal (Ratos *Sprague Dawley*), com redução da ferida em 50% no sétimo dia pós-operatório, além de aumentar a epitelização e alteração na expressão de mRNA de queratina, utilizando uma potência de 50 mW/cm², por 10 minutos em cada sessão, por cinco dias consecutivos (ADAMSKAYA *et al.*, 2011). Sousa e colaboradores identificaram que uma única irradiação nas fluências de 6, 12, 18 e 24 J/cm², promoveu inibição de

Staphylococcus aureus e *Pseudomonas aeruginosa*, com efeito mantido por até 48 horas após a irradiação. A bactéria *Escherichia coli* também apresentou inibição nas fluências 3, 6, 12, 18 J/cm² houve sucesso na inibição bacteriana mesmo sem fotossensibilizador. Para *S. aureus* e *P. aeruginosa*, a inibição significativa se deu nas fluências acima de 6 J/cm². *E. coli*, foi inibida em todas as fluências, exceto 24 J/cm² (Sousa *et al.*, 2015). Outro estudo registrou a supressão total (100%) de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) em culturas planctônicas com fluência de 7,6 J/cm², e densidade de potência de 3 mW/cm², aplicadas três vezes com intervalos de 30 minutos (Bumah *et al.*, 2015).

A luz verde, 530 nm, tem ganhado destaque recente nos estudos da FBM, de 2021 a 2024, apresentando resultados promissores para a ciência. Silva, Crous e Abrahamse (2024), demonstraram que a irradiação com luz verde promoveu diferenciação osteogênica de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo, visando a terapia regenerativa no reparo de lesões ósseas. A luz verde promoveu a diferenciação osteogênica inicial, com aumento significativo demarcadores osteogênicos como RUNX2 (3.0 vezes) e BGLAP (2.5 vezes) após 24 horas de tratamento. Após 7 dias, houve progressão para maturação da matriz, com aumento de marcadores como BGN (3.0 vezes) e SOST (2.8 vezes), indicando diferenciação avançada para osteoblastos e osteócitos, e morfologia das células mudou para uma forma cuboidal, típica de osteoblastos maduros utilizando a fluência de 5 J/cm², na densidade de potência de 57,47 mW/cm², por 87 segundos (Silva; Crous; Abrahamse, 2024). Em outro estudo, Crous, Van Rensburg e Abrahamse (2022) relataram a proliferação e diferenciação celular, após irradiação com fluência de 5 J/cm², densidade de potência de 574 mW/cm², e tempo de irradiação de 83 segundos. Os resultados mostraram um aumento significativo na proliferação celular após 48 horas até 7 dias de tratamento, com aumento da produção de ATP, indicando maior atividade metabólica. Também foi observado aumento na produção de ERO intracelulares, essenciais para o processo de diferenciação celular (Crous; Van Rensburg; Abrahamse, 2022). Tamimi *et al.* (2022), verificaram aumento na proliferação celular no quinto dia após a irradiação, seguido por redução no sétimo dia, indicando um efeito dependente do tempo. Além disso, foi evidenciado um potencial anti-inflamatório, utilizando uma fluência de 44 J/cm², potência de 50 mW, densidade de potência de 6 mW/cm² e tempo de irradiação de 7 segundos a cada dois dias (Tamimi *et al.*, 2022).

A luz âmbar, com comprimento de onda 590 nm, tem se mostrado promissora em estudos recentes de FBM, especialmente em aplicações dermatológicas e imunomoduladoras. Dai *et al.* (2022) observaram melhora significativa na hiperpigmentação e no eritema facial, reduzindo do índice MASI (Melasma Area and Severity Index) de 17 para 13 na 8ª semana, com manutenção da melhora até a 20ª semana, sem relatos de piora ou efeitos adversos. Também foi observada a redução significativa na migração celular, com diminuição da expressão de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), na fluência de 20 J/cm², densidade de potência 20 mW/cm² irradiada 1 vez por semana, durante 8 semanas (Dai *et al.*, 2022). Souza *et al.* (2024) relataram modulação significativa das citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-10 e TNF- α), e observou-se aumentou a produção de IL-10 em monócitos e linfócitos para o fenótipo pró inflamatório, com densidade de potência de 23 mW/cm², e fluência de 1,4 J/cm². (Sousa *et al.*, 2024). Lan *et al.* (2015) observaram redução dos níveis de ERO e aumento da expressão da enzima catalase, promovendo maior capacidade antioxidante, e redução da expressão de MMP-1 (metaloproteinase-1), associada ao fotoenvelhecimento (Lan *et al.*, 2015). Mota e colaboradores (2023) relataram redução de rugas periorculares (pés de galinha) em pacientes com diabetes ou tendência a queloides, onde procedimentos altamente inflamatórios não são recomendados. Foi observado uma redução de 29,9% no volume das rugas periorculares após o tratamento com luz âmbar (590 nm). O volume médio das rugas reduziu de 187 mm³ para 131 mm³, a dosimetria utilizada foi de 3,8 J/cm², durante 10 minutos. Foram realizadas 10 sessões, de 2–3 vezes por semana durante 4 semanas, em contato direto com a pele (Mota *et al.*, 2023).

Em relação à luz vermelha (630 nm), Zein, Selting e Hamblin (2018) destacaram em revisão de literatura, parâmetros para dosimetria e os benefícios do aumento da produção de ATP, por meio do estímulo mitocondrial e regulação de ERO, fornecendo melhora na regeneração e reparo tecidual, com a faixa ideal para estimulação metabólica, na fluência de 3–10 J/cm² (Zein; Selting; Hamblin, 2018). Gao *et al.* (2022) verificaram aumento da expressão de miR-877-3p, promovendo a proliferação de cardiomiócitos neonatais para reparo miocárdico, na densidade de potência: 2,5 mW/cm², por 10 min, com dados coletados após 24h da irradiação (Gao *et al.*, 2022). Zhang e Ji (2023) em seus estudos em um modelo experimental de osteoartrite em camundongos, obtiveram dados de controle da dor e modulação de mediadores inflamatórios, com preservação da cartilagem articular, na densidade de

potência de 10 mW/cm², e fluência de 36 J/cm², uma vez ao dia por 4 semanas (Zhang; Ji, 2023). Couturaud e colaboradores (2023), evidenciaram a reversão de sinais de envelhecimento da pele, como rugas, flacidez, densidade dérmica reduzida, aspereza e poros dilatados, com fluência de 15,6 J/cm², durante 12 minutos por sessão, duas vezes por semana, durante 3 meses (Couturaud *et al.*, 2023). Lee e colaboradores (2024), observaram os efeitos da FBM no rejuvenescimento cutâneo e na cicatrização de feridas em modelo animal, resultando em aumento da expressão de colágeno e fatores de crescimento, com redução da expressão de metaloproteinases (MMP-1 e MMP-2), e aumento da densidade de fibras colágenas na derme e redução de rugas, na densidade de potência de 4,6 mW/cm², e fluência variável entre 1,5 e 20 J/cm² (Lee *et al.*, 2024). Schmidt e colaboradores (2025), demonstraram aceleração da cicatrização de feridas cutâneas e modulação da inflamação, com aumento da viabilidade de queratinócitos, avaliando a redução de marcadores inflamatórios (IL-1, IL-10 e TNF- α), aumento da atividade antioxidante (níveis de GSH) e redução do estresse oxidativo, na densidade de potência de 2,7 mW/cm², por 7 minutos (Schmidt *et al.*, 2025).

O Quadro 1 apresenta os dados coletados, com os respectivos comprimentos de onda, dosimetria, indicações e referências.

Quadro 1: Comprimento de onda, dosimetria, indicações e referências.

Comprimento de Onda	Dosimetria	Indicação	Referência (Autores)
Violeta (420 nm)	3 J/cm ² , 16 mW/cm ²	Formação óssea	Zein et al. (2018a)
Violeta (420 nm)	20 J/cm ² , 10 min	Efeitos antibacterianos e antiproliferativos	Brüning et al. (2023)
Violeta (420 nm)	10 J/cm ²	Aceleração de junções celulares, sem induzir morte celular	Chen et al. (2024)
Violeta (420 nm)	40 mW/cm ² , 15 min diários	Redução da atividade mitocondrial e aumento da permeabilidade de membrana	Kaam et al. (2021)
Azul (450 nm)	50 mW/cm ² , 10 min por 5 dias	Cicatrização de feridas	Adamskaya et al. (2011)
Azul (450 nm)	6–24 J/cm ²	Inibição de bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Escherichia coli</i>	De Sousa et al. (2015)
Azul (450 nm)	7,6 J/cm ² , 3x com intervalos de 30 min	Supressão total de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilicina (MRSA)	Bumah et al. (2015)
Verde (525 nm)	5 J/cm ² , 57.47 mW/cm ² , 87 s	Diferenciação osteogênica inicial e avançada	Da Silva et al. (2024)
Verde (525 nm)	5 J/cm ² , 574 mW, 59.66 mW/cm ² , 83 s	Aumento de ATP, proliferação celular e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS)	Crous et al. (2022)
Verde (525 nm)	44 mJ/cm ² , 50 mW, 7 s a cada 2 dias	Efeito anti-inflamatório e aumento da proliferação celular no quinto dia	Tamimi et al. (2022)
Âmbar (590 nm)	20 J/cm ² , 20 mW/cm ² , 8 semanas	Melhora de hiperpigmentação e redução de eritema facial	Dal et al. (2022)
Âmbar (590 nm)	1,4 J/cm ² , 23 mW/cm ²	Modulação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-10 e TNF- α)	De Brito Sousa et al. (2024)
Âmbar (590 nm)	3,8 J/cm ² , 6,4 mW/cm ² , 10 min	Redução de rugas periorculares (pés de galinha)	Mota et al. (2023)
Vermelho (630 nm)	3–10 J/cm ²	Aumento da produção de ATP e estímulo mitocondrial	Zein et al. (2018a)
Vermelho (630 nm)	2,5 mW/cm ² , 10 min	Proliferação de cardiomiócitos neonatais para reparo miocárdico	Gao et al. (2022)
Vermelho (630 nm)	36 J/cm ² , 10 mW/cm ²	Controle da dor e modulação de mediadores inflamatórios em osteoartrite	Zhang et al. (2023)
Vermelho (630 nm)	15,6 J/cm ² , 12 min/sessão	Reversão de sinais de envelhecimento da pele	Couturaud et al. (2023)
Vermelho (630 nm)	1,5–20 J/cm ²	Rejuvenescimento da pele, cicatrização de feridas	Lee et al. (2024)
Vermelho (630 nm)	2,7 mW/cm ² , 7 min	Aceleração de cicatrização de feridas cutâneas e modulação da inflamação	Schmidt et al. (2025)

Fonte: a autora.

2.3 Interação Luz X Tecido

Um conceito importante na fotobiomodulação é a “janela óptica” ou “janela terapêutica” de um tecido. Essa janela corresponde a uma faixa espectral onde os tecidos apresentam baixa absorção de luz, permitindo que a radiação penetre com maior profundidade, atingindo o cromóforo alvo. Quanto menor a absorção da luz pelo tecido biológico, maior será sua profundidade de penetração. Portanto a escolha do cromóforo alvo que receberá essa luz, está relacionada com a profundidade em que ele se encontra (Veloso; Fonseca; Santos, 2022).

Os cromóforos são moléculas, que possuem espectros específicos capazes de absorver luz ultravioleta ou visível (Hönigsmann, 2001). Os cromóforos amplamente estudados são ácidos nucleicos, ácido urocânico, aminoácidos aromáticos

(proteínas), citocromo, opsinas, flavinas, hemoglobina, desoxihemoglobina e derivados da heme como as porfirinas, melaninas e seus precursores (Austin *et al.*, 2021; Salehpour *et al.*, 2018; Young, 1997).

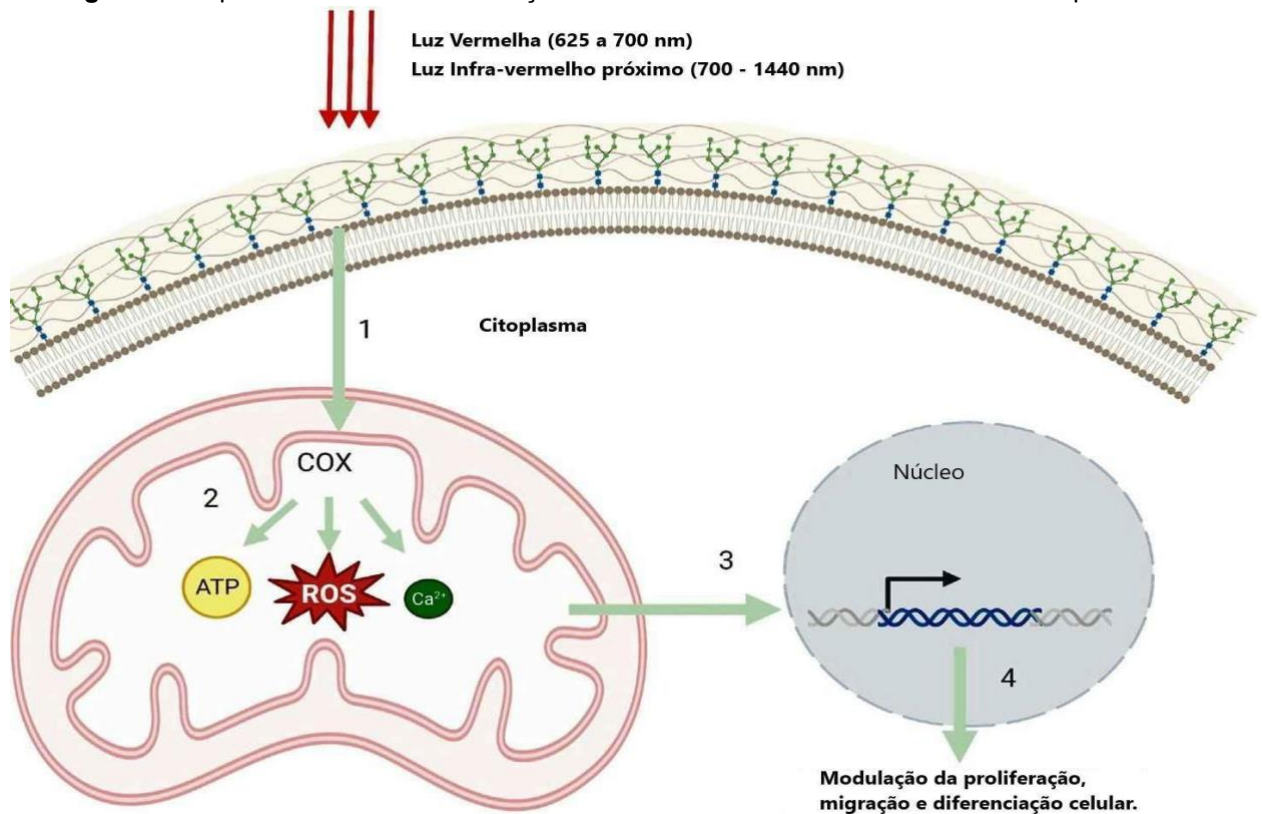
As radiações emitidas por lasers e LEDs de baixa potência situam-se dentro da chamada janela óptica dos tecidos biológicos, que abrange o intervalo espectral que vai do final da faixa do ultravioleta A (UV-A) até o infravermelho próximo, correspondendo aproximadamente aos comprimentos de onda entre 390 e 1.200 nm (Karu, 1999).

Os diferentes comprimentos de onda da luz têm diferentes graus de absorção, dispersão e reflexão por meios biológicos e tecidos. Geralmente, os tecidos biológicos contêm uma variedade de cromóforos, como água, oxihemoglobina (HbO₂), desoxihemoglobina (Hb), mioglobina, melanina, citocromos e flavinas (Salehpour *et al.*, 2018).

O principal fotorreceptor intracelular identificado como responsável pela interação com a luz vermelha e infravermelha próxima é a enzima COX, localizada na cadeia transportadora de elétrons das mitocôndrias. Essa organela tem sido amplamente estudada no contexto da FBM, uma vez que desempenha papel central na geração de energia celular. Na matriz mitocondrial, são encontrados fotorreceptores que sob exposição da luz são potenciais absorvedores de energia. Sua principal função é atuar como “usina de energia” da célula, gerando ATP, que é a principal fonte de energia para a atividade e o metabolismo celular, realizando a respiração celular, mantendo as células vivas e funcionantes. A COX, é uma enzima encontrada nas mitocôndrias, que ao absorver a luz promove uma regulação positiva no metabolismo celular com aumento da síntese de adenosina trifosfato (ATP), aumento das ERO, e do óxido nítrico (NO) e cálcio (Ca²⁺) (Hamblin, 2018).

Ao regular os níveis de cálcio intracelular (Maghfour *et al.*, 2024; Mohamad *et al.*, 2021), outras vias de sinalização são ativadas, como a enzima Adenil ciclase, que aumenta o metabolismo das células como mastócitos e fibroblastos (Maghfour *et al.*, 2024; Matuz-Mares *et al.*, 2022; Stutzmann; Mattson, 2011).

Figura 4: Proposta do mecanismo de ação da FBM da luz vermelha e infra vermelho próximo



1 - Penetração ideal para os comprimentos de onda no vermelho e infravermelho, dentro da "janela óptica". 2 - A luz vermelha e infravermelha próxima, estimulam a COX, levando à regulação positiva da cadeia de transporte de elétrons (ETC). Essa regulação promove o aumento da adenosina trifosfato mitocondrial (ATP), a geração de ERRO e aumento dos níveis de cálcio (Ca^{2+}). 3 - O aumento dos níveis de ATP, ERO e (Ca^{2+}) ativa fatores de transcrição que respondem ao equilíbrio entre oxidação e redução dentro da célula. Um desses fatores é o fator nuclear kappa B (NF- κ B), que regula genes ligados à inflamação e ao estresse celular. Outro é o fator induzível por hipóxia (HIF), que age quando há pouco oxigênio disponível. Essa ativação leva à transcrição de genes importantes para a adaptação celular 4 - A ativação dessas vias de sinalização em cascatas contribui para processos biológicos essenciais, como a proliferação, migração e diferenciação celular, influenciando diretamente a resposta celular ao ambiente e promovendo adaptações metabólicas e funcionais.

Fonte Maghfour *et al.*, 2024: adaptado pelo autor

O tecido biológico é constituído em maior percentual por água, portanto, se faz necessário considerar o potencial de absorção dessa molécula, que ocorre principalmente nos espectros infravermelho, acima de 1.200 nm e no ultravioleta abaixo de 200 nm (Veloso; Fonseca; Santos, 2022).

A radiação correspondente às faixas do vermelho ao infravermelho próximo situa-se entre os comprimentos de onda 650 e 1.200 nm, sendo que nessa faixa a absorção de radiação pela água e moléculas orgânicas é baixa, e tem como resposta um alto grau de penetração da radiação, atingindo tecidos mais profundos (Veloso; Fonseca; Santos, 2022).

A enzima mitocondrial Citocromo c oxidase, é o fotorreceptor primário mais estudado pelos pesquisadores. Ela está localizada na membrana interna da mitocôndria e atua na transferência de elétrons do citocromo mitocondrial para o

oxigênio molecular, promovendo aumento síntese de ATP, e conseqüentemente, a síntese de DNA e RNA (Wu *et al.*, 2014). Além disso, Dungal e colaboradores demonstraram que a dissociação do óxido nítrico (NO) da COX, promovida pela interação com a luz em determinados comprimentos de onda, a respiração mitocondrial foi normalizada, trazendo assim benefícios terapêuticos (Dungal *et al.*, 2008).

A estimulação da síntese de ATP, gera ERO, que em níveis moderados tem efeitos benéficos, promovendo proliferação celular e síntese de colágeno (Di Meo *et al.*, 2018). Porém, níveis elevados de ERO podem acarretar danos celulares, como disfunção mitocondrial e morte celular (Korge *et al.*, 2011; Veloso; Fonseca; Santos, 2022).

As ERO, produzidas pelo aumento de ATP, também são mediadoras da ativação de um fator nuclear importante, conhecido como kappa B (NF- κ B), que ao ser estimulado, promove efeitos como síntese de colágeno, proliferação celular e regulação de citocinas inflamatórias, que contribuem para uma fotobiomodulação positiva (Chen; Chang, 2024).

O aumento de cálcio (Ca^{2+}) nos níveis intracelulares induzido pela FBM, demonstra que a irradiação com a luz vermelha e infravermelha próxima promove o aumento benéfico nos níveis intracelulares de cálcio (Ca^{2+}). Essa elevação moderada de Ca^{2+} intracelular pode estimular processos como a proliferação celular e apoptose de células cancerígenas (Levchenko *et al.*, 2019).

De forma particular foi observado que a FBM também regula os níveis de Ca^{2+} nos neurônios ativando vias de sinalização neuroprotetoras prevenindo efeitos destrutivos como a excitotoxicidade, sendo útil no tratamento de condições patológicas, como doenças neurodegenerativas e lesões cerebrais (Golovynska *et al.*, 2021; Johnstone *et al.*, 2016).

Em resumo quando a FBM é aplicada em baixas doses, a luz interage com os cromóforos que estão dentro das células, principalmente nas mitocôndrias. Esses cromóforos absorvem a energia luminosa e desencadeiam processos biológicos. O principal alvo dentro das mitocôndrias é a enzima Citocromo c oxidase, que vai estimular a produção de ATP (a energia da célula), aumentando o consumo de oxigênio. Esse processo pode alterar os níveis de óxido nítrico (NO), ativando vias de sinalização celular e estimulando a produção de fatores de crescimento, que irão auxiliar na regeneração dos tecidos. Esse nível de energia é suficiente para ativar a

célula, mas não causa aquecimento excessivo nem danos fotoquímicos. Isso faz com que o FBM tenha efeitos terapêuticos sem comprometer a integridade celular (Zein; Selting; Hamblin, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Comparar os efeitos da luz em diferentes comprimentos de onda em fibroblastos *in vitro*.

3.2 Objetivo Específico

- Avaliar, *in vitro*, o efeito da fotobiomodulação em diferentes comprimentos de onda sobre a viabilidade celular dos fibroblastos por meio do teste de exclusão com azul de Trypan.

- Analisar a atividade metabólica dos fibroblastos submetidos à fotobiomodulação, utilizando ensaio de sensibilidade celular **3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo**.- Investigar, por meio da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), as alterações bioquímicas nos fibroblastos após a FBM, com foco em modificações em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos.

- Caracterizar a morfologia celular dos fibroblastos por meio da coloração de Giemsa, verificando alterações em núcleo e citoplasma.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Cultivo celular dos Fibroblastos

Para este estudo foram utilizadas células de fibroblastos L929 (NCTC clone 929), derivadas de tecido subcutâneo de camundongo C3H/An. Essa linhagem foi estabelecida em 1948 a partir da linhagem parental *Strain L*, sendo considerada um dos primeiros clones mantidos em cultura contínua. Atualmente, é amplamente empregada em ensaios de toxicidade, estudos de metabolismo celular e como hospedeiro de transfecção (Banco de Células do Rio de Janeiro, 2025; Sanford; Earle; Likely, 1948). As células foram cultivadas em meio DMEM (Gibco), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina, e mantidas em incubadora a 37 °C com 5% de CO₂.

4.2 Parâmetros de Irradiação

As células foram irradiadas 24 horas após a semeadura, utilizando dois dispositivos distintos a base de LED. Os comprimentos de onda de 420 nm (43,7 mW/cm²), 450 nm (33,6 mW/cm²), 530 nm (83,3 mW/cm²) e 630 nm (38,6 mW/cm²) foram aplicados por meio do sistema Biotables Photobios. A irradiação em 590 nm (150,0 mW/cm²) foi realizada com o equipamento Vênus (MMOptics). A energia fornecida foi padronizada entre todos os grupos, com uma fluência uniforme de 5 J/cm² aplicada.

As análises de viabilidade celular, atividade mitocondrial, morfologia e espectroscopia no infravermelho médio (FTIR-ATR) foram realizadas 24 horas após a irradiação.

4.3 Análise da viabilidade celular dos fibroblastos pelo do método de exclusão com Azul de Trypan:

Para os experimentos de viabilidade celular as células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 1x10⁵ de células/poço e mantidas por 24 horas antes da irradiação. O teste de viabilidade celular pelo método de exclusão com Azul de Tripan baseia-se no princípio de que células viáveis possuem membranas intactas,

impedindo a entrada do corante, enquanto células não viáveis permitem sua penetração, resultando em coloração azul.

A viabilidade celular foi avaliada 24 horas após a irradiação com diferentes comprimentos de onda, utilizando a solução de Azul de Tripano a 0,2% e incubação por cinco minutos. Em seguida, a solução foi removida e as células foram lavadas com PBS. Para cada poço, foram capturadas imagens de 15 campos aleatórios em um microscópio invertido Zeiss Axio Vert A1, e o número de células vivas e mortas foi contabilizado. Os ensaios foram realizados em quintuplicata em um único experimento para os comprimentos de onda de 420 nm, 450 nm, 530 nm, 590 nm e 630 nm. A porcentagem de células viáveis foi determinada por meio da equação 1.

Equação 1: Viabilidade celular de fibroblastos
$$\% \text{ viabilidade celular} = \frac{\text{total de células vivas} \times 100}{\text{total de células contadas}}$$

4.4 Determinação da atividade metabólica pelo teste de MTT

Para os experimentos de atividade metabólica as células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 1×10^5 de células/poço e mantidas por 24 horas antes da irradiação. A atividade metabólica dos fibroblastos foi avaliada pelo teste de MTT, um ensaio baseado na conversão do sal [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo] em cristais de formazana pelas células viáveis. O experimento foi realizado em seis placas de 96 poços, sendo uma utilizada como controle e as demais para avaliação dos diferentes comprimentos de onda, conforme descrito no protocolo experimental.

Após a interação com os fibroblastos e a irradiação, foram adicionados 50 μL de MTT diluído em PBS (5 mg/mL) a cada poço. As placas foram suavemente agitadas e incubadas por mais 4 horas a 37 °C, em ambiente úmido e protegido da luz.

Ao final da incubação, a solução de MTT não metabolizada foi removida, e 150 μL de DMSO foram adicionados a cada poço para solubilizar os cristais de formazana. Em seguida, as placas foram agitadas vigorosamente, e a densidade óptica foi medida em um espectrofotômetro, no comprimento de onda de 570 nm. Os valores de absorbância obtidos foram expressos em porcentagem de atividade metabólica em relação ao controle, utilizando a equação 2:

Equação 2: Atividade Metabólica

$$\% \text{ atividade metabólica} = \frac{(\text{abs células tratadas} - \text{abs branco})}{(\text{abs controle} - \text{abs branco})} \times 100$$

Essa equação expressa a atividade metabólica das células tratadas em comparação com o grupo controle. Como o MTT é reduzido a formazana apenas por células metabolicamente ativas, a absorvância medida no espectrofotômetro reflete a viabilidade celular. Quanto maior a absorvância, maior a atividade metabólica e, conseqüentemente, maior o número de células viáveis. Já valores mais baixos podem indicar efeito citotóxico das irradiações testadas.

4.5 Avaliação da Morfologia Celular Após Irradiação por Coloração de May–Grunwald–Giemsa

Para a análise morfológica qualitativa por coloração de May–Grunwald–Giemsa, os fibroblastos foram cultivados em placas de 24 poços contendo lâminas de vidro no fundo, na densidade de 1×10^6 células por poço, sob condições padrão de incubação. Vinte e quatro horas após os tratamentos descritos no procedimento experimental, o meio de cultivo foi removido e as lâminas foram deixadas para secar à temperatura ambiente (22 °C) por 24 horas. Em seguida, foi realizada a coloração para avaliar possíveis alterações morfológicas celulares após a exposição aos diferentes comprimentos de onda. O corante May–Grunwald foi adicionado em cada poço por 1 minuto, seguido pela adição de água destilada por mais 1 minuto, sendo esta posteriormente descartada. A coloração com Giemsa foi então aplicada, permanecendo em contato com as células por 20 minutos. Após a secagem, as lâminas foram montadas permanentemente, com a colocação de lamínulas sobre cada amostra utilizando o meio de montagem sintético Entellan® (Merck), com o objetivo de preservar a coloração e viabilizar a observação microscópica.

As células coradas foram examinadas em microscópio óptico (Leica DM2500), sendo capturadas imagens de seis campos aleatórios por condição experimental, armazenadas no formato TIFF.

4.6 Análise espectroscópica por FTIR-ATR

Neste estudo, as amostras foram analisadas utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR), associada à análise estatística multivariada. Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos na faixa de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , no modo refletância, utilizando 32 varreduras e temperatura controlada de 20°C. Cada amostra teve seu espectro registrado 15 vezes, gerando um total de 90 espectros infravermelhos. As análises foram realizadas em um espectrofotômetro Spectrum Two FTIR-ATR (PerkinElmer).

Para a obtenção dos espectros, as células foram removidas dos frascos utilizando um raspador celular, centrifugadas a 6000 rpm por 10 minutos em solução salina estéril (NaCl a 0,9%) para remoção do meio de cultura e, posteriormente, depositadas em lâminas de vidro. As amostras foram, então, secas em estufa a 37°C por aproximadamente 2 horas antes da análise espectroscópica. Após a secagem, as amostras foram posicionadas no cristal de Diamante/ZnSe do FTIR-ATR, onde os espectros infravermelhos foram adquiridos.

Os espectros obtidos, tanto em transmitância quanto em absorbância, foram processados no software Spectrum 10.6.0 (PerkinElmer), com aplicação de correção de linha de base, suavização espectral por nove pontos do algoritmo Savitzky-Golay e normalização dos dados.

Os espectros obtidos foram analisados qualitativa e quantitativamente. Para análise qualitativa uma inspeção visual dos espectros médios das amostras, inicialmente separadas e depois sobrepostas, foi realizada, para que se pudesse verificar possíveis diferenças espectrais significativas.

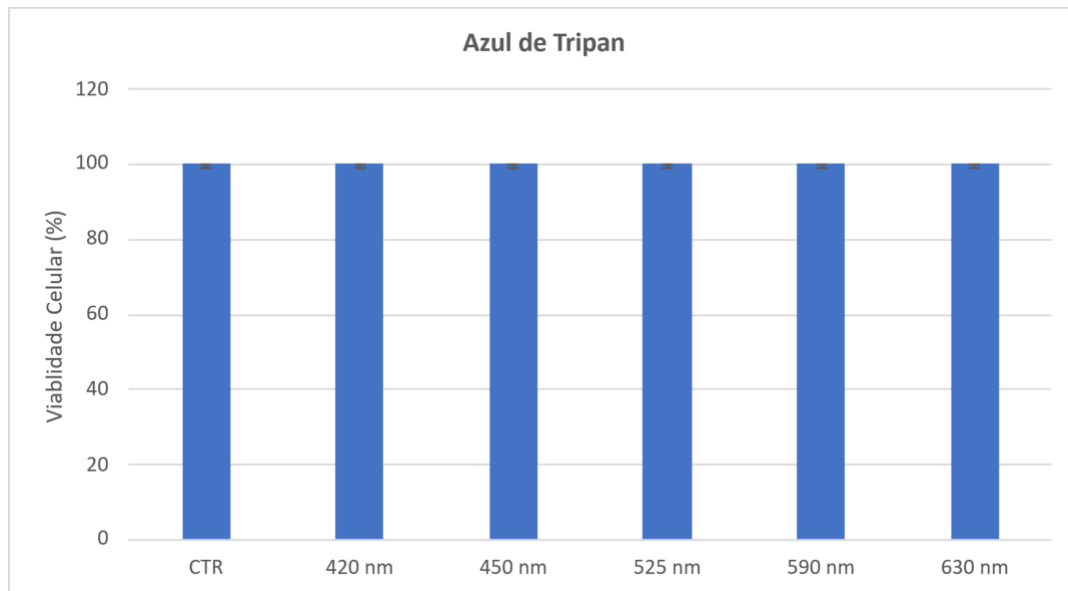
Para a análise quantitativa dos espectros, os softwares OriginPro (versão 8.5) e Minitab (versão 17) foram utilizados para realizar a análise de variância (ANOVA), assim como, a análise estatística multivariada, como a análise hierárquica de agrupamento (HCA), com o objetivo de determinar os níveis de similaridade e se há alguma diferença estatisticamente significativa entre os espectros infravermelhos obtidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da viabilidade celular pelo método de exclusão com Azul de Tripán permitiu determinar a proporção de células viáveis após a irradiação, fornecendo dados sobre possíveis efeitos citotóxicos ou proliferativos associados a cada comprimento de onda testado.

Ensaio de viabilidade, como o teste de exclusão com Azul de Tripán e o ensaio de MTT, indicam que doses de luz moderadas, como 5 J/cm², são indicadas para manter a viabilidade celular (Rossi *et al.*, 2021), corroborando com nossa escolha experimental.

Figura 5: Ensaio de Viabilidade Celular por exclusão de Azul Tripán



Nota. * Fluência: 5 J/cm²

Fonte: a autora.

A determinação da atividade metabólica dos fibroblastos pelo ensaio de MTT forneceu informações sobre a funcionalidade mitocondrial, indicando se a FBM promove estímulo ou inibição da atividade mitocondrial nos diferentes comprimentos de onda avaliados.

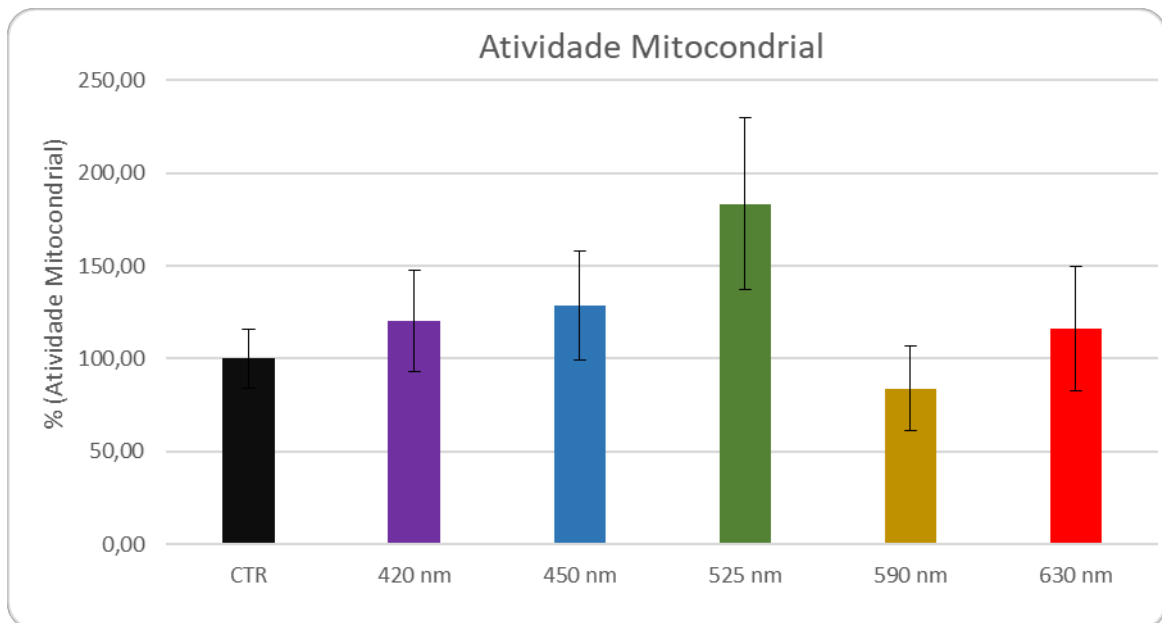
A escolha de 5 J/cm² foi baseada em evidências que demonstram sua eficácia na promoção da viabilidade e atividade metabólica dos fibroblastos, especialmente na luz vermelha, que é amplamente estudada na literatura científica. Este parâmetro se mostrou seguro e eficiente para os testes propostos. Em estudos *in vitro*, fibroblastos

tratados com 5 J/cm² apresentaram aumento significativo na divisão celular e migração. Já em fluências mais altas, como 14,4 J/cm², reduziram a viabilidade celular, sendo 5 J/cm² considerado ideal para a proliferação dos fibroblastos, enquanto doses superiores a 10 J/cm² poderiam inibir esse processo (Maghfour *et al.*, 2024; Zein; Selting; Hamblin, 2018). Feridas tratadas com 5 J/cm² apresentaram a cobertura completa mais rápida por fibroblastos, em comparação com fluências mais altas, que retardaram a cicatrização (Zein; Selting; Hamblin, 2018). Além disso, essa fluência regula os níveis de ERO nos fibroblastos, mantendo-os em níveis fisiológicos que favorecem a viabilidade e atividade metabólica celular, sem induzir estresse oxidativo (Schmidt *et al.*, 2025).

Estudos indicam que doses baixas de luz na região do azul, como 3,43 J/cm² e 6,87 J/cm², estimulam o metabolismo e a proliferação de fibroblastos, enquanto doses de luz superiores a 20,6 J/cm² têm efeitos inibitórios. Doses de luz na faixa de 5 J/cm² são eficazes para promover a viabilidade celular sem induzir efeitos citotóxicos, sendo também eficazes em cicatrização de feridas, melhorando a proliferação celular e a resposta inflamatória (Schmidt *et al.*, 2025).

Neste estudo avaliou-se o efeito dos diferentes comprimentos de onda na atividade metabólica dos fibroblastos L929, utilizando como padrão a fluência constante de 5 J/cm². O grupo controle foi considerado com 100% de viabilidade. No comprimento de onda 420 nm houve aumento para 20,14%, em 450 nm para 28,69%, em 530 nm para 83,36%, e 630 nm para 16,16%, somente no comprimento de onda de 590 nm houve um decréscimo na atividade metabólica para 16,05 %.

Figura 6: Resposta Celular à Fotobiomodulação em diferentes comprimentos de onda



Fonte: a autora.

A irradiação com comprimento de onda vermelho, 630 nm resultou em um aumento da atividade metabólica de 16,16% em relação ao grupo controle, parametrizado na fluência de 5 J/cm², durante 129 s. Esses achados corroboram com estudos de Zhao *et al.* (2022) que demonstraram os efeitos bioestimuladores na cicatrização de feridas, com proliferação celular após irradiações durante períodos entre 100s e 500s, com densidade de potência de 10mW/cm², por 500 s para J/cm² (Zhao *et al.*, 2022). Chaudary *et al.* (2020) observaram aumento de 7% em comparação ao grupo controle nos níveis de ATP mitocondrial em fibroblastos submetidos a FBM com 635 nm e 5 J/cm² sob condições de hipóxia/reoxigenação (Chaudary *et al.*, 2020). Topaloglu, Özdemir e Çevik (2021) obtiveram o ápice de proliferação celular em seus estudos da FBM em fibroblastos, com aumento de 16%, no comprimento de onda 655 nm, na fluência de 5 J/cm² (Topaloglu; Özdemir; Çevik, 2021). Nos estudos de Flores Luna *et al.* (2020), diferentes grupos de fibroblastos foram irradiados e comparados ao grupo controle. O maior índice de proliferação celular foi observado 24 horas após a irradiação no comprimento de onda de 660 nm, com aumento de 12% em relação ao controle, utilizando a fluência de 5,8 J/cm² (Flores Luna *et al.*, 2020). Os resultados observados são compatíveis com os efeitos esperados no aumento da atividade metabólica por fotobiomodulação.

No presente estudo a irradiação com comprimento de onda azul, 450 nm, resultou em aumento da viabilidade celular em 28,69%, em relação ao grupo controle,

parametrizado na fluência de 5 J/cm^2 , durante 149 s. Galo, Prado e Santos (2022), demonstraram, em sua pesquisa, que a exposição a luz azul, 470 nm, na fluência de $284,90 \text{ J/cm}^2$ e densidade de potência de $13,19 \text{ mW/cm}^2$ totalizando 6 horas, foi capaz de inibir em até 75%, o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, com dados obtidos após 24h (Galo; Prado; Santos, 2022). Frequentemente são reportados efeitos inibitórios bacterianos em estudos que utilizam fluências e tempos de exposição mais elevados. Por outro lado, parâmetros com doses de energia mais baixas e tempo de exposição reduzido podem induzir efeitos biomoduladores, como estimulação celular e modulação metabólica. No estudo de Serrage *et al.* (2021), a irradiação com luz azul em 400 nm induziu aumento de 14% na atividade metabólica dos fibroblastos, dado importante para modular processos inflamatórios e prevenir respostas exacerbadas (Serrage *et al.*, 2021). Outro estudo realizado em modelo animal concluiu que uma dose única de irradiação na fluência de 5 J/cm^2 , promove cicatrização de ferida e estimula atividade metabólica sem causar dano celular (Hawkins; Houreld; Abrahamse, 2005). Em fluências mais baixas, a luz azul também pode ser empregada com segurança em condutas clínicas, oferecendo possibilidades terapêuticas sem comprometer a viabilidade celular. Esses achados reforçam a versatilidade da FBM com luz azul, tanto em protocolos antimicrobianos quanto em aplicações dermatológicas seguras.

No presente estudo, a irradiação com luz violeta (420 nm), na fluência de 5 J/cm^2 durante 114 segundos, promoveu um aumento de 20,14% na atividade metabólica dos fibroblastos em comparação ao grupo controle. Esse achado sugere um possível efeito bioestimulador em condições de baixa energia. Este resultado indica um possível efeito bioestimulador em condições de baixa energia. Em contraste, no estudo de Brüning *et al.*, doses mais altas, 10 e 20 J/cm^2 de luz violeta não demonstraram toxicidade significativa sobre fibroblastos, mas resultaram em redução de aproximadamente 50% na concentração intracelular de ATP uma hora após a irradiação, quando comparadas ao grupo não irradiado. Nesse mesmo experimento, a atividade metabólica avaliada pelo ensaio de resazurina apresentou redução de cerca de 30% nas células irradiadas, em relação às células controle (Brüning *et al.*, 2023). Esses achados sugerem que, enquanto doses de luz elevadas podem comprometer temporariamente o metabolismo celular, a utilização de energias mais baixas, como a adotada neste trabalho, pode favorecer respostas bioestimuladoras. Assim, os dados obtidos reforçam a hipótese de que a FBM com

luz violeta, em parâmetros cuidadosamente ajustados, pode ser aplicada de forma segura e eficaz para estimular a atividade celular.

A luz verde, 530 nm, aplicada com fluência de 5 J/cm² durante 60s, promoveu um aumento de 83,36% na atividade metabólica dos fibroblastos em relação ao grupo controle. Nos estudos de Crous, Van Rensburg e Abrahamse (2024), foi observado que a FBM no infravermelho próximo (NIR) exerce um efeito positivo sobre o metabolismo de células-tronco mesenquimais derivadas (Silva; Crous; Abrahamse, 2024). Anwer *et al.* (2012), demonstrou um aumento significativo na proliferação celular das células derivadas do tecido adiposo, utilizando a fluência de 5 J/cm², após 48 horas, no comprimento de onda de 532 nm (Anwer *et al.*, 2012). Apesar de ainda haver poucos estudos, com a luz verde, os achados citados corroboram o aumento da atividade metabólica promovido por essa faixa espectral, quando aplicada em baixa energia, como evidenciado neste trabalho.

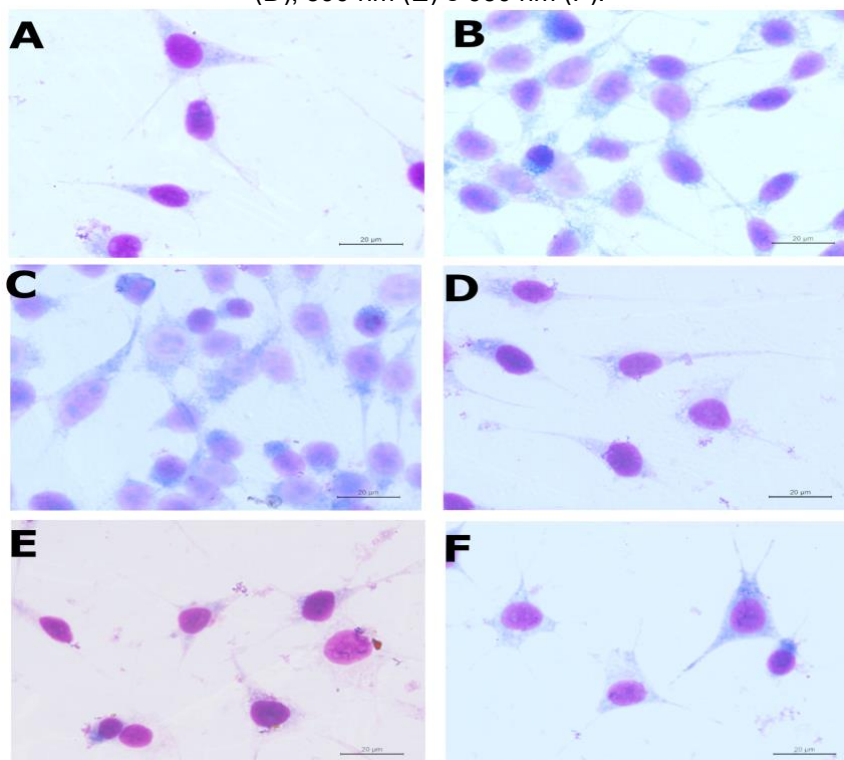
Por fim, a irradiação do comprimento de onda âmbar, 590 nm, resultou em um decréscimo da atividade metabólica em 16,05% em relação ao grupo controle, parametrizado na fluência de 5 J/cm², durante 33 s. Embora existam poucos estudos que investiguem os efeitos específicos desse comprimento de onda em fibroblastos, dados recentes apontam para um potencial efeito modulador da luz âmbar sobre células do sistema imune, promovendo alterações na produção de citocinas pró e anti-inflamatórias (Brüning *et al.*, 2023).

Um estudo conduzido por Lan *et al.* (2015), demonstrou a redução na síntese de proteínas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α), e na produção de IL-10 em monócitos e linfócitos, essas reduções indicando uma atividade moduladora imunológica da FBM em nível celular (Lan *et al.*, 2015). A fluência específica de 5 J/cm² não é mencionada diretamente no texto fornecido. No entanto, a redução nos níveis de ERO em fibroblastos pode ser considerada como um resultado indireto relacionado à menor atividade metabólica ou à diminuição de estresse oxidativo sob os parâmetros de 5 J/cm². Esses achados, ainda que preliminares, sugerem que a luz âmbar pode exercer um papel regulador, em vez de bioestimulador direto, nos fibroblastos, especialmente quando aplicada em determinadas condições de dose de luz e tempo de irradiação. Portanto, a observação de uma leve inibição metabólica abre espaço para novas hipóteses experimentais, como seu possível uso clínico para controle de processos hiperproliferativos ou inflamatórios, desde que parametrizada corretamente.

A avaliação da morfologia celular após irradiação pela coloração de Giemsa possibilita a observação de possíveis modificações estruturais nos fibroblastos, incluindo alterações no formato celular, organização citoplasmática e adesão celular, aspectos que podem refletir efeitos diretos da fotobiomodulação sobre a dinâmica celular.

A análise morfológica com coloração de Giemsa mostrou que os fibroblastos irradiados com os diferentes comprimentos de onda mantiveram sua estrutura preservada, próxima à observada no grupo controle. As células seguiram com o formato fusiforme, núcleo bem definido e prolongamentos citoplasmáticos intactos, sem sinais de retração ou estresse visível. Isso mostra que, mesmo após a exposição à luz, elas continuaram estáveis, sem alterações que sugerissem dano. Quando o fibroblasto mantém sua morfologia característica, isso indica que a célula está metabolicamente ativa, produzindo colágeno, comunicando-se com outras células e participando da migração necessária para o processo de regeneração tecidual. A preservação dessa estrutura é fundamental para que o fibroblasto desempenhe adequadamente suas funções biológicas. Estudos anteriores dão suporte a essa observação. Medrado *et al.* (2003) mostraram que a irradiação com laser de baixa intensidade mantém os contornos celulares e estimula sua atividade funcional, enquanto Rola *et al.* (2022) observaram que mesmo após exposições repetidas à luz, não houve sinais de dano ao DNA (Medrado *et al.*, 2003; Rola *et al.*, 2022).

Figura 7: Micrografias obtidas por microscopia de campo claro para análise de morfologia celular após irradiação pela coloração de Giemsa dos grupos Controle (A), 420 nm (B), 450 nm (C), 530 nm (D), 590 nm (E) e 630 nm (F).



Fonte: a autora.

5.1 Análise qualitativa dos espectros infravermelhos obtidos

Primeiramente, a partir deste ponto, todas amostras irradiadas foram divididas em grupos, de acordo com as informações descritas no Quadro 2.

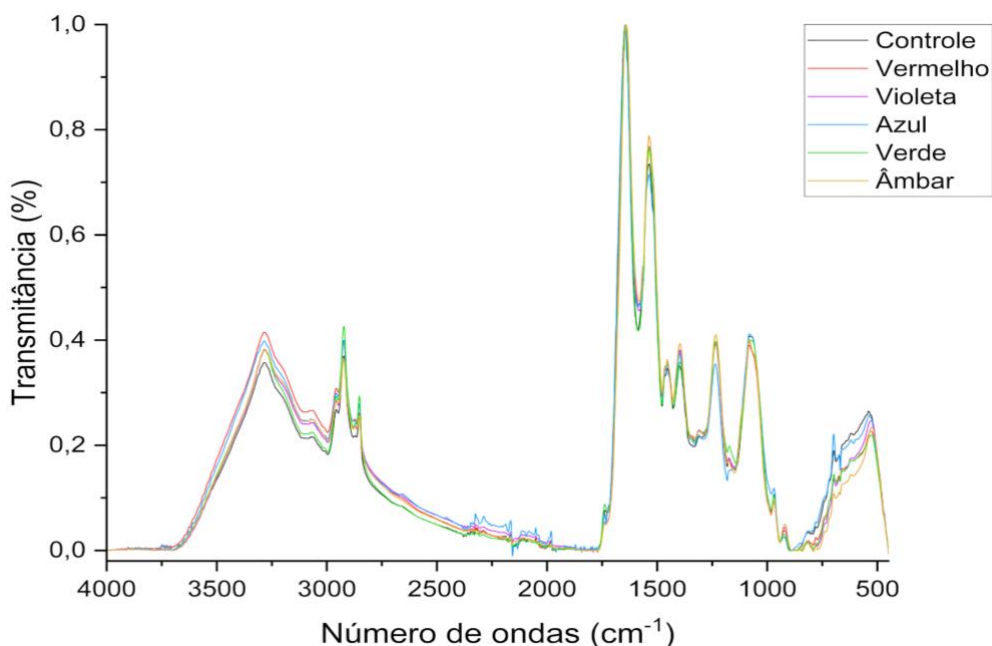
Quadro 2: Nomenclatura para os grupos dos fibroblastos irradiados.

Comprimento de onda utilizado para a irradiação dos fibroblastos (nm)	Grupo
420	Violeta
450	Azul
530	Verde
590	Âmbar
630	Vermelho

Fontes: A Autora.

Para iniciar o estudo dos espectros infravermelhos, os espectros médios do grupo controle e de todos os grupos irradiados, foram obtidos e apresentados, em absorbância, na Figura 8, com objetivo de analisar e comparar visualmente cada espectro, em busca de detectar variações nos picos e/ou nas bandas presentes nos espectros.

Figura 8: Espectros médios de todos os grupos de Fibroblastos analisados, na região de 4000 a 450 cm^{-1} .



Fontes: A Autora.

Após comparar visualmente os espectros do grupo controle e dos grupos irradiados (Figura 8), pode-se notar que os espectros de todas as amostras de fibroblastos irradiados possuem números de picos e contornos de bandas semelhantes, porém, observam-se algumas diferenças, como por exemplo, alterações nas alturas de picos, em grupos irradiados, em relação ao grupo controle.

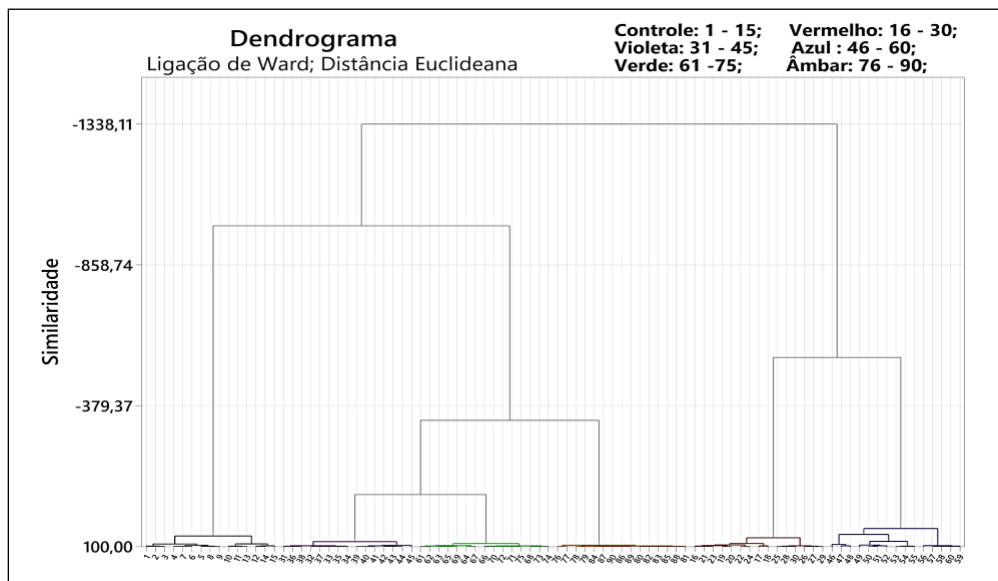
Portanto, torna-se difícil discutir as semelhanças e variações entre o espectro do grupo controle e os dos grupos irradiados, utilizando apenas uma comparação visual, sendo necessário recorrer a cálculos matemáticos e estatísticos, como a análise estatística multivariada (como a HCA), para que se possa discutir o grau de similaridade e determinar se há realmente alguma diferença significativa, entre os espectros analisados.

5.2 Uso da análise hierárquica de agrupamento (HCA) em todos os espectros infravermelhos obtidos

Para determinar se as diferenças observadas na Figura 8, são estatisticamente significativas entre o grupo controle e os grupos irradiados, a HCA foi utilizada para analisar todos os espectros infravermelhos obtidos, na região de 4000 a 450 cm^{-1} .

Considerando que, os resultados de uma HCA são apresentados na forma de um gráfico conhecido como dendrograma, e que em um dendrograma, quanto mais próximo uma linha horizontal estiver do eixo horizontal, maior será o grau de semelhança entre os espectros ou grupos conectados por essa linha, e que, um grau negativo de similaridade indica falta de semelhança entre dois grupos ou espectros. Os resultados da HCA realizada neste estudo estão apresentados, na forma de um dendrograma, na Figura 9.

Figura 9: Dendrograma dos espectros obtidos dos Fibroblastos, na região de 4000 a 450 cm^{-1}



Fontes: a Autora.

Com base nos resultados do dendrograma da Figura 9, pode-se observar que, há uma separação perfeita, não só entre o grupo controle e todos os grupos irradiados, mas também, entre todos os grupos estudados, o que torna possível sugerir que todas as irradiações, independentemente do comprimento de onda utilizado, geraram diferenças expressivas que resultaram em uma discriminação perfeita entre os espectros do grupo controle e cada um dos grupos irradiados estudados, assim como, entre todos os grupos irradiados.

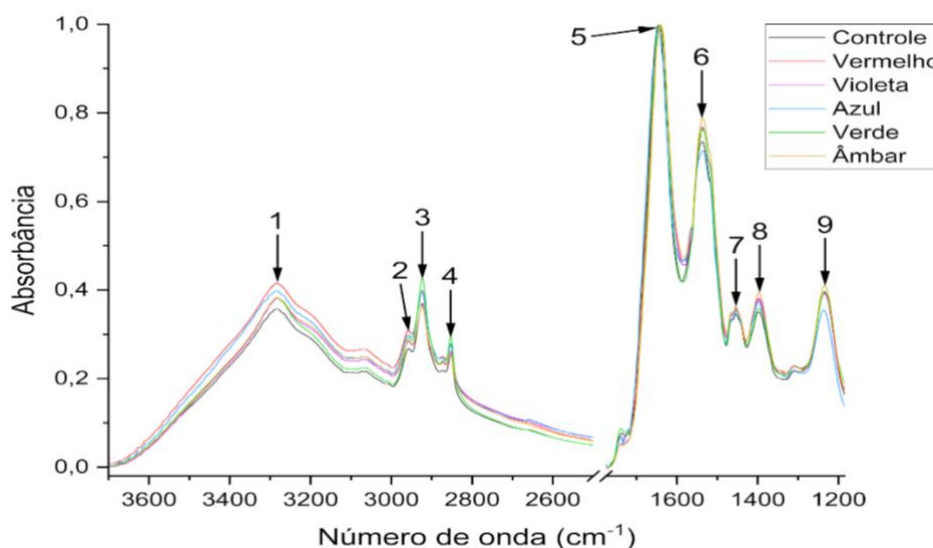
Além disso, também é possível observar que, entre todos os grupos analisados, o grupo Azul é o grupo com a menor homogeneidade entre seus espectros infravermelhos, isto é, possui as amostras menos homogêneas de todos os grupos irradiados analisados.

Portanto, os resultados apresentados no dendrograma da Figura 9, sugerem que todas as irradiações utilizadas, foram capazes de gerar diferenças significativas nos espectros infravermelhos, e conseqüentemente, nas biomoléculas dos fibroblastos analisados.

5.3 Atribuição aproximada de bandas dos espectros infravermelhos dos fibroblastos

Para possibilitar uma análise mais detalhada dos efeitos, que cada comprimento de onda utilizado para as irradiações das amostras obtidas teve nos lipídios, nas proteínas e nos ácidos nucleicos dos fibroblastos, os seguintes picos, e suas respectivas bandas, foram selecionados (Figura 10) e, em seguida, tiveram suas atribuições aproximadas realizadas e apresentadas no Quadro 3.

Figura 10: Espectros médios de todos os grupos dos Fibroblastos, nas regiões de 3700 a 2500 cm^{-1} e 1775 a 1185 cm^{-1} , com os picos atribuídos destacados.



Fontes: A Autora.

Quadro 3: Número de onda e suas atribuições aproximadas.

Picos	Número de onda (cm ⁻¹)	Principais biomoléculas associadas	Atribuições aproximadas
1	~3280	Proteínas	Amida A: Estiramento da ligação N-H
2	~ 2960	Lipídeos	Estiramento assimétrico da ligação C-H em -CH ₃
3	~ 2923	Lipídeos	Estiramento assimétrico da ligação C-H em -CH ₂ - e -CH ₃
4	~ 2855	Lipídeos e proteínas	Estiramento simétrico da ligação C-H em -CH ₃
5	~ 1645	Proteínas	Amida I: Estiramento das ligações de C=O e C-N, e deformação angular simétrica no plano da ligação N-H.
6	~ 1537	Proteínas	Amida II: Estiramento da ligação C-N e deformação angular da ligação N-H.
7	~ 1454	Lipídeos e proteínas	Deformação angular em -CH ₃ e em -CH ₂ -
8	~ 1397	Proteínas	Estiramento simétrico em COO ⁻
9	~ 1234	Ácidos nucleicos	Estiramento assimétrico de ligação PO ₂ ⁻

Fontes: Acikgoz *et al.*, 2019, Al-Kelani; Buthelezi, 2024, Banhara *et al.*, 2022, Barth, 2007, Mateus *et al.*, 2021, Susigan *et al.*, 2025.

Uma vez que a atribuição aproximada das bandas foi concluída, tornou-se possível iniciar a análise quantitativa das biomoléculas selecionadas para este estudo.

5.4 Análise quantitativa de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos nos espectros infravermelhos obtidos

Para analisar quantitativamente os efeitos que cada comprimento de onda utilizado gerou em lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos dos fibroblastos, foram selecionados os picos localizados em, aproximadamente 2923, 1537 e 1234 cm⁻¹,

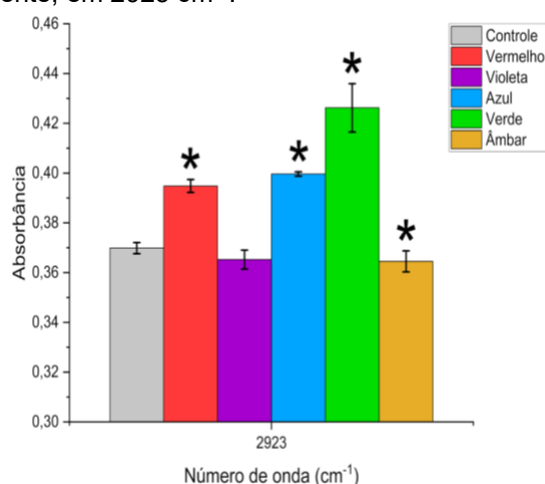
respectivamente. Após concluir a seleção de todos os picos, cada um dos picos teve sua altura média obtida e analisada, utilizando a análise de variância (ANOVA), com um nível de significância de 0,05 ($p < 0,05$).

5.4.1 Lipídeos

Para iniciar a análise das alterações nos lipídeos dos fibroblastos irradiados, as alturas médias do pico localizado, aproximadamente, em 2923 cm^{-1} , foram calculadas e apresentadas na Figura 11, juntamente a um histograma, que demonstra os resultados do teste ANOVA.

Figura 11: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 2923 cm^{-1} .

Grupo	Altura média	Desvio padrão
Controle	0,3698	$\pm 0,0023$
Vermelho	0,3948	$\pm 0,0026$
Violeta	0,3652	$\pm 0,0038$
Azul	0,3996	$\pm 0,0009$
Verde	0,4262	$\pm 0,0097$
Âmbar	0,3645	$\pm 0,0042$



Nota. * → grupos que apresentaram uma diferença estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle, utilizando um nível de significância (p) de $p < 0,05$.

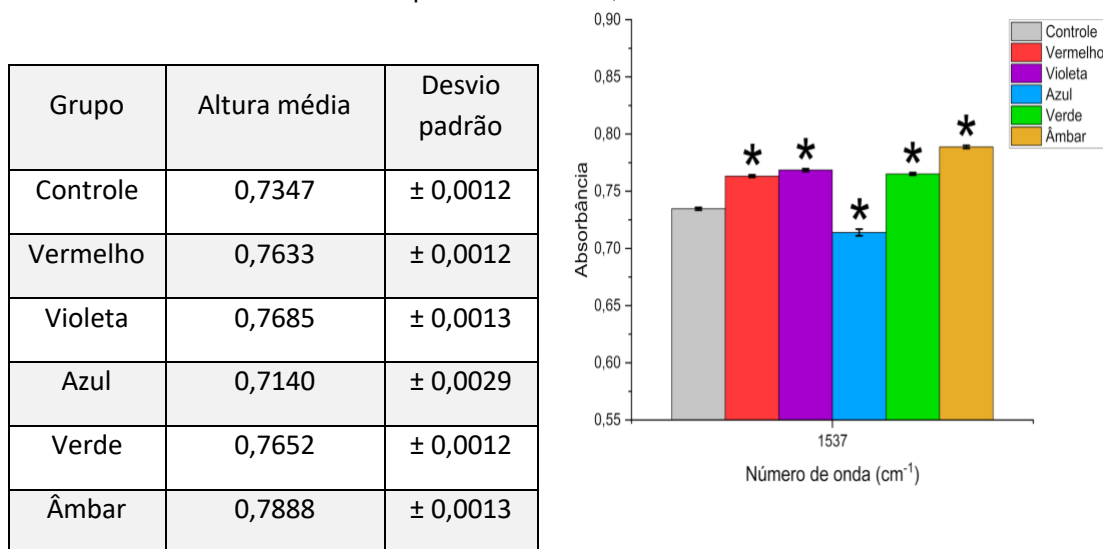
Fontes: A Autora.

Pode-se observar na Figura 11, que os grupos Vermelho, Azul e Verde apresentaram um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo controle, na altura média do pico localizado em 2923 cm^{-1} , que é associado ao estiramento assimétrico da ligação C-H em $-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_3$, em lipídios (Quadro 2). Sendo que, o grupo Verde demonstrou o maior aumento, de todos os grupos estudados. Além disso, vale notar que somente o grupo Âmbar gerou uma diminuição estatisticamente significativa nesse pico e, que o grupo Violeta não apresentou uma alteração significativa.

5.4.2 Proteínas

Para avaliar as alterações geradas nas proteínas dos fibroblastos irradiados, as alturas médias do pico localizado, aproximadamente, em 1537 cm^{-1} , foram calculadas e apresentadas na Figura 12, juntamente a um histograma, que demonstra os resultados da ANOVA.

Figura 12: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 1537 cm^{-1} .



Nota. * → grupos que apresentaram uma diferença estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle, utilizando um nível de significância (p) de $p < 0,05$.

Fontes: A Autora.

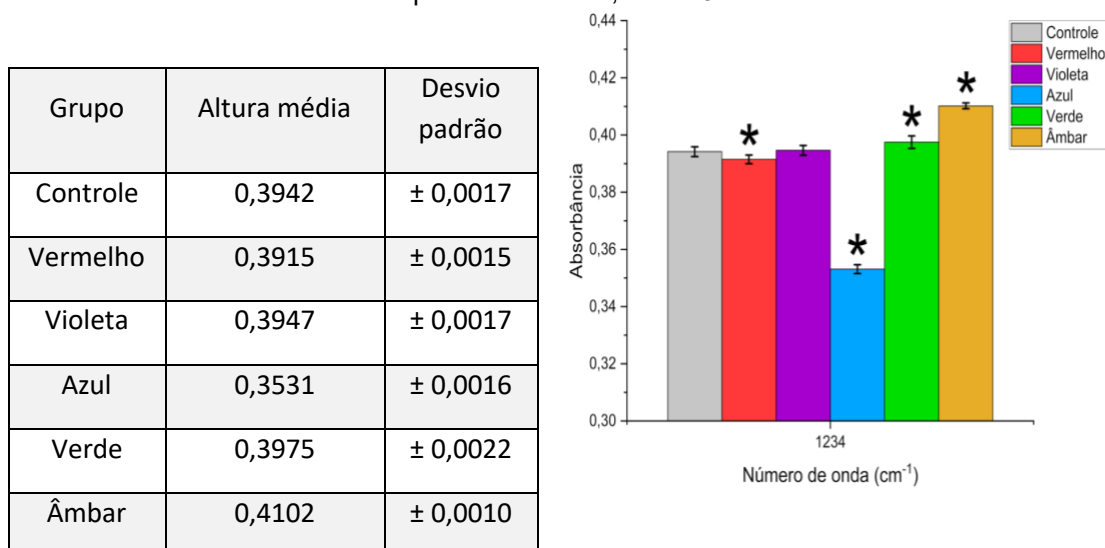
É possível observar na Figura 12, que os grupos Vermelho, Violeta, Verde e Âmbar apresentaram um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo controle, na altura do pico localizado em 1537 cm^{-1} (da banda conhecida como Amida II), que é associado ao estiramento da ligação C-N, a deformação angular da ligação N-H (Quadro 2) (Stuart, 2004; Susigan *et al.*, 2025). É importante notar que o grupo Âmbar demonstrou o maior aumento, em comparação aos outros grupos. Além disso, somente o grupo Azul apresentou uma diminuição estatisticamente significativa na altura do pico da Amida II.

5.4.3 Ácidos nucleicos

Por fim, para analisar as alterações presentes nos ácidos nucleicos dos fibroblastos irradiados, as alturas médias do pico localizado, aproximadamente, em

1234 cm^{-1} , foram calculadas e apresentadas na Figura 13, juntamente a um histograma, que demonstra os resultados da ANOVA.

Figura 13: Valores e histograma das alturas médias, com desvio padrão, do pico localizado, aproximadamente, em 1234 cm^{-1} .



Nota. * → grupos que apresentaram uma diferença estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle, utilizando um nível de significância (p) de $p < 0,05$.

Fontes: A autora.

Utilizando as informações apresentadas na Figura 13, é possível observar que os grupos Verde e Âmbar possuem um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo controle, na altura do pico localizado, aproximadamente, em 1234 cm^{-1} , que é associado ao estiramento assimétrico de ligação PO_2^- dos ácidos nucleicos presentes nos fibroblastos (Quadro 4), sendo que, o grupo Âmbar, apresentou o maior aumento entre todos os grupos. Além disso, os grupos Vermelho e Azul demonstraram uma diminuição estatisticamente significativa na altura deste pico, sendo que, o grupo Azul possui a diminuição mais acentuada.

As análises quantitativas dos picos localizados em, aproximadamente, 2923, 1537 e 1234 cm^{-1} , que foram atribuídos a modos vibracionais de ligações químicas presentes em lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, respectivamente (Quadro 4), demonstraram que todos os grupos irradiados, com exceção do grupo Violeta, apresentaram uma variação significativa nas três biomoléculas analisadas (Figuras 11, 12 e 13), sendo que, somente o comprimento de onda utilizado no grupo Violeta (420 nm), afetou apenas uma das biomoléculas analisadas, que foram as proteínas presentes nos fibroblastos (Figura 12).

A partir das alturas médias dos picos atribuídos a lipídeos ($\sim 2923\text{ cm}^{-1}$), proteínas ($\sim 1537\text{ cm}^{-1}$) e ácidos nucleicos ($\sim 1234\text{ cm}^{-1}$), foi possível observar que diferentes comprimentos de onda geraram efeitos distintos sobre os principais constituintes biomoleculares dos fibroblastos. O grupo Verde (530 nm) demonstrou o maior aumento na banda dos lipídeos, sugerindo uma possível reorganização ou aumento na fluidez das membranas celulares. A modulação dessas estruturas pode estar associada ao estímulo fotobiológico de membranas plasmáticas, favorecendo mecanismos de sinalização intracelular (Acikgoz *et al.*, 2019; Barth, 2007).

Em relação às proteínas, o grupo irradiado com luz âmbar (590 nm) apresentou o maior aumento na banda relacionada à Amida II, seguida pelos grupos Verde, Violeta e Vermelho. Esse resultado sugere mudanças na estrutura das proteínas ou maior atividade das células na produção de proteínas. Estudos anteriores mostram que FBM nas faixas âmbar e vermelha podem estimular a produção de proteínas importantes para a cicatrização e regeneração da pele (Al-Kelani; Buthelezi, 2024; Mateus *et al.*, 2021).

Para os ácidos nucleicos, o grupo irradiado com luz âmbar (590 nm) apresentou o maior aumento na banda de $\sim 1234\text{ cm}^{-1}$, associada aos fosfatos presentes no DNA e RNA. Esse achado pode indicar maior atividade de produção ou replicação do material genético. Já o grupo Azul (450 nm) demonstrou a maior redução nessa mesma faixa, o que pode refletir uma diminuição na síntese de RNA ou DNA, ou uma desaceleração do ciclo celular. Esse tipo de efeito inibitório da luz azul já foi descrito na literatura, especialmente quando são utilizadas fluências mais elevadas. No entanto, vale destacar que a resposta celular pode variar bastante conforme o tipo de célula e o tempo de exposição à luz (Barth, 2007; Susigan *et al.*, 2025).

A irradiação com luz violeta (420 nm) induziu aumento moderado na atividade mitocondrial dos fibroblastos, sem alterar significativamente a viabilidade celular, confirmado pela coloração com Azul de Tripán. O FTIR demonstrou aumento de proteínas ($\sim 1537\text{ cm}^{-1}$), leve redução nos lipídeos ($\sim 2923\text{ cm}^{-1}$) e estabilidade nos ácidos nucleicos ($\sim 1234\text{ cm}^{-1}$), sugerindo um processo de bioestimulação leve, associado a reorganização celular e síntese de proteínas moderada. A redução lipídica pode indicar modulação da membrana ou consumo de energia. Estudos apontam que baixas fluências de luz violeta favorecem respostas de reparo tecidual sem efeitos citotóxicos, podendo ser úteis no pós-procedimento, como recuperação após “peelings” ou microagulhamento. Brüning *et al.* (2023) confirmaram que fluências

altas reduzem ATP intracelular, enquanto as baixas intensificam a atividade mitocondrial e preservam a função celular. É possível inferir então uma regeneração discreta, ideal para manutenção da integridade da pele, pós-procedimentos leves ou peles sensibilizadas (Brüning *et al.*, 2023).

A luz azul (450 nm) promoveu aumento acentuado na atividade metabólica, com viabilidade preservada. No entanto, houve redução significativa nos lipídeos e ácidos nucleicos, com discreta queda de proteínas. Serrage *et al.* (2021) relataram que a luz azul estimula o metabolismo dos fibroblastos e modula a resposta inflamatória, sendo indicada para condições como acne inflamatória e reparo tecidual controlado (Serrage *et al.*, 2019). Além disso, Hawkins, Houreld e Abrahamse (2005) demonstraram que luz azul em baixa fluência promove cicatrização sem dano celular (Hawkins; Houreld; Abrahamse, 2005). A redução observada nas bandas de proteínas e ácidos nucleicos no FTIR indicam um possível consumo ativo dessas biomoléculas, o que está associado a estados de maior atividade funcional. Durante processos de reparo e remodelação, os fibroblastos utilizam aminoácidos e material genético para a produção de proteínas estruturais e sinalizadoras, o que justifica a redução detectada. Em particular, essa resposta pode envolver ativação ribossomal e estímulo à remodelação da matriz extracelular. Segundo Rossi *et al.* (2021), a exposição de fibroblastos à luz azul estimula genes relacionados ao metabolismo celular e à biossíntese de proteínas, sugerindo que essa faixa do espectro atua como moduladora de vias de tradução e remodelação tecidual (Rossi *et al.*, 2021). Esses achados reforçam a hipótese de que a redução nos níveis dessas biomoléculas está mais associada ao seu uso intensificado pela célula do que à sua perda por dano. Portanto dentro da aplicação clínica será possível gerenciar um processo inflamatório e reparo moderado, ideal para acne, lesões inflamatórias e recuperação de barreira cutânea.

A luz verde apresentou o maior aumento de atividade mitocondrial entre todos os grupos, com elevação significativa nos três biomarcadores: lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Isso sugere um perfil altamente proliferativo e anabólico, compatível com aceleração do ciclo celular, formação de membranas e síntese ativa de colágeno. Esse pico lipídico pode estar relacionado à expansão da membrana celular e à sua capacidade de comunicação e resposta aos estímulos. Anwer *et al.* (2012) relataram que luz verde (532 nm) aumentou significativamente a proliferação de células do tecido adiposo (Anwer *et al.*, 2012). Assim, pode ser aplicada em protocolos que

demandam regeneração intensa, como pós-procedimentos ablativos ou cicatrização acelerada após microagulhamento por exemplo, pós-laser fracionado, após peeling médio/profundo.

Diferente dos outros comprimentos, a luz âmbar (590 nm) foi a única que mostrou leve redução na atividade metabólica, embora a viabilidade celular tenha sido mantida. No FTIR houve aumento nas proteínas e nos ácidos nucleicos, mesmo com a queda dos lipídeos. Isso sugere que essa luz pode ter uma ação reguladora, controlando o metabolismo global da célula, mas mantendo ativa a capacidade de resposta, como em casos de modulação inflamatória ou controle de hiperproliferação. Na prática estética, esse perfil faz muito sentido para peles que não toleram estímulos exagerados como em casos de peles hipersensibilizadas, altamente reativas como no caso de melasma e rosácea. Lan *et al.* (2015) mostraram que a luz âmbar reduz citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- α , o que reforça sua ação imunomoduladora (Lan *et al.*, 2015). Ou seja, é uma luz que pode ajudar a “acalmar” a pele por dentro, sem paralisar a regeneração.

A luz vermelha (630 nm) promoveu aumento da atividade metabólica com elevação nos três biomarcadores, padrão típico de bioestimulação intensa. A literatura é ampla nesse comprimento, reforçando sua ação na síntese de colágeno, ATP mitocondrial e proliferação celular. Chaudary *et al.* (2020) observaram aumento de ATP mitocondrial em fibroblastos irradiados com luz vermelha sob hipóxia (Chaudary *et al.*, 2020). Topaloglu, Özdemir e Çevik (2021) descreveram aumento de 16% na proliferação com 655 nm (Topaloglu; Özdemir; Çevik, 2021). Assim, é a escolha clássica para protocolos de rejuvenescimento, pós-cirurgia, reparo dérmico profundo e estímulo regenerativo em “peelings” e microagulhamento.

Quadro 4: Aplicação Clínica por Comprimento de Onda

Comprimento de Onda	Perfil Celular Observado	Referências	Aplicações Clínicas Sugeridas
420 nm (Violeta)	Bioestimulação leve, aumento de proteínas, redução de lipídeos, sem alteração nos ácidos nucleicos.	Brüning <i>et al.</i> , 2023	Pós-procedimentos leves, peles sensibilizadas, manutenção de barreira cutânea.
450 nm (Azul)	Ativação metabólica com consumo de biomoléculas (redução de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos).	Serrage <i>et al.</i> , 2021; Hawkins <i>et al.</i> , 2005; Hwang; Chien, 2022	Acne inflamatória, reparo sem proliferação excessiva, controle de inflamação.
530 nm (Verde)	Estímulo proliferativo intenso com aumento de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos.	Anwer <i>et al.</i> , 2012; Barth, 2007	Pós-microagulhamento, pós-peeling médio/profundo, regeneração acelerada.
590 nm (Âmbar)	Redução da atividade metabólica com aumento de proteínas e ácidos nucleicos, e redução de lipídeos.	Lan <i>et al.</i> , 2015	Melasma inflamatório, rosácea, pós-procedimentos em peles reativas.
630 nm (Vermelho)	Bioestimulação clássica com aumento em todas as biomoléculas avaliadas.	Chaudary <i>et al.</i> , 2020; Topaloglu, Özdemir e Çevik, 2021	Rejuvenescimento, flacidez, estímulo de colágeno, reparo dérmico.

Fonte: A autora.

Dessa forma, os resultados obtidos com o uso da técnica de FTIR-ATR, associados à análise estatística (ANOVA e HCA), permitiram identificar de maneira clara como diferentes comprimentos de onda da luz visível interferem nas principais biomoléculas dos fibroblastos sendo elas lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. As alterações observadas nos picos vibracionais foram estatisticamente significativas e variaram conforme a faixa de luz utilizada, indicando que a fotobiomodulação tem potencial para modular seletivamente estruturas celulares fundamentais.

Essa abordagem contribui para melhor compreensão dos efeitos biomoleculares induzidos pela luz, e reforça a aplicabilidade do FTIR-ATR como ferramenta sensível para investigar mudanças estruturais em nível celular. Os achados deste estudo podem auxiliar na construção de protocolos mais personalizados e eficazes dentro da estética regenerativa e da biomedicina fotônica, respeitando as especificidades de resposta de cada tecido à luz.

6 CONCLUSÃO

A fotobiomodulação com LEDs, aplicada com fluência de 5 J/cm², demonstrou ser segura para fibroblastos *in vitro*, sem comprometer a morfologia ou a viabilidade celular. Os efeitos observados foram dependentes do comprimento de onda, com destaque para a luz verde (530 nm), que promoveu o maior estímulo metabólico, seguida pelas luzes azul (450 nm) e violeta (420 nm). Já a luz âmbar (590 nm) apresentou uma discreta redução da atividade metabólica, sugerindo um possível efeito modulador. Mesmo sem alterações morfológicas evidentes, foram detectadas modificações bioquímicas em todas as faixas testadas. Esses achados reforçam a importância da escolha criteriosa dos parâmetros de irradiação em protocolos terapêuticos e oferecem subsídios experimentais relevantes para a padronização e segurança da aplicação clínica da fotobiomodulação em contextos estéticos e regenerativos.

REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, Eda *et al.* Glycogen synthase kinase-3 inhibition in glioblastoma multiforme cells induces apoptosis, cell cycle arrest and changing biomolecular structure. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 209, p. 150–164, 15 fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2018.10.036>. Acesso em: 16 mar. 2025.

ADAMSKAYA, Natalia *et al.* Light therapy by blue LED improves wound healing in an excision model in rats. *Injury*, v. 42, n. 9, p. 917–921, Set 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22081819/>. Acesso em: 26 set. 2024.

AL-KELANI, Madeha; BUTHELZI, Ntandoyenkosi. Advancements in medical research: Exploring Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for tissue, cell, and hair sample analysis. *Skin Research and Technology*, v. 30, n. 6, p. e13733, 1 jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/SRT.13733>. Acesso em: 12 fev. 2025.

ANWER, A.G. *et al.* Visible 532 nm laser irradiation of human adipose tissue-derived stem cells: Effect on proliferation rates, mitochondria membrane potential and autofluorescence†. *Lasers Surg. Med.*, v. 44, p. 769-778, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/lsm.22083>. Acesso em: 22 mar. 2025

AUSTIN, Evan *et al.* Visible light. Part I: Properties and cutaneous effects of visible light. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 84, n. 5, p. 1219–1231, Maio 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33640508/>. Acesso em: 16 fev. 2025.

AVCI, P.*et al.* Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. *Semin Cutan Med Surg.*, v. 32, n. 1, p. 41-52, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24049929/>. Acesso em: 16 fev. 2025.

BANHARA, Vanessa Fernandez *et al.* Analysis of biomolecular changes caused by exposure to the drug diclofenac sodium in fish of the Brycon Opalinus species using Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR). *Research, Society and Development*, v. 11, n. 14, p. e201111436080–e201111436080, 24 out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/RSD-V11114.36080>. Acesso em: 25 ja. 2025.

BARTH, Andreas. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1767, n. 9, p. 1073–1101, 1 set. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BBABIO.2007.06.004>. Acesso em: 14 mar. 2025.

BANCO DE CÉLULAS DO RIO DE JANEIRO – BCRJ. **Ficha técnica da linhagem celular NCTC clone 929 [L-929]**. Rio de Janeiro: BCRJ, 2025. Disponível em: <https://bcrj.org.br/>. Acesso em: 19 ago. 2025.

BRÜNING, Anne K. E. *et al.* Low-Dose Blue Light (420 nm) Reduces Metabolic Activity and Inhibits Proliferation of Human Dermal Fibroblasts. **Life**, v. 13, n. 2, p. 331, 25 Jan 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36836688/>. Acesso em: 18 jan. 2025.

BUMAH, Violet V. *et al.* Optimization of the antimicrobial effect of blue light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 47, n. 3, p. 266–272, Mar 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4834034/>. Acesso em: 15 jun. 2024.

CAVALCANTI, Thiago Maciel *et al.* Conhecimento das propriedades físicas e da interação do laser com os tecidos biológicos na odontologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 5, p. 955–960, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/KH8WDHL5Cv9Q3s5DBxgYJGR/?lang=pt>. Acesso em: 10 jun. 2024.

CHAMBERS, Emma S.; VUKMANOVIC-STEJIC, Milica. Skin barrier immunity and ageing. **Immunology**, v. 160, n. 2, p. 116–125, 4 Jun 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31709535/>. Acesso em: 20 fev. 2024.

CHAUDARY, Sidrah *et al.* *In vitro* effects of 635 nm photobiomodulation under hypoxia/reoxygenation culture conditions. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 209, p. 111935, Ago 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32622295/>. Acesso em: 14 fev. 2025.

CHEN, Tsan-Chi; CHANG, Shu-Wen. Non-lethal exposure to short-wavelength light-emitting diodes modulates tight-junction structure in human corneal epithelial cells via cAMP-dependent signaling. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 252, p. 112869, Mar 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38368634/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

COUTURAUD, Virginie *et al.* Reverse skin aging signs by red light photobiomodulation. **Skin Research and Technology**, v. 29, n. 7, 30 Jul 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37522497/>. Acesso em: 8 fev. 2025.

CROUS, Anine; VAN RENSBURG, Madeleen; ABRAHAMSE, Heidi. Single and consecutive application of near-infrared and green irradiation modulates adipose derived stem cell proliferation and affect differentiation factors. **Biochimie**, v. 196, p. 225–233, Maio 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34324922/>. Acesso em: 13 fev. 2025.

DAI, Xiaoxi *et al.* 590 nm LED Irradiation Improved Erythema through Inhibiting Angiogenesis of Human Microvascular Endothelial Cells and Ameliorated Pigmentation in Melasma. **Cells**, v. 11, n. 24, p. 3949, 7 Dez 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36552713/>. Acesso em: 13 nov. 2024.

DI MEO, Sergio *et al.* Harmful and Beneficial Role of ROS 2017. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, n. 1, 2 Jan 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27818723/>. Acesso em: 12 mar. 2025.

DUARTE, Ida; BUENSE, Roberta; KOBATA, Clarice. Fototerapia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, n. 1, p. 74–82, Fev 2006.

<https://www.scielo.br/j/abd/a/MRVLjY6yq9RjJN9HM3YvvyQ/?lang=pt>. Acesso em: 17 jun. 2024.

DUNGEL, Peter *et al.* Illumination with blue light reactivates respiratory activity of mitochondria inhibited by nitric oxide, but not by glycerol trinitrate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 471, n. 2, p. 109–115, Mar 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18230326/>. Acesso em: 12 mar. 2025.

FERNANDES NETO, A.J. *et al.* Effects of photobiomodulation with blue Light Emitting Diode (LED) on the healing of skin burns. **Lasers Med Sci.**, v. 38, n. 1, 2023. Disponível em: doi: 10.1007/s10103-023-03929-5. Acesso em: 28 mar. 2025.

FERRARI, Lilian. **Manual Prático do Laser e outras Técnicas em Fisioterapia Dermatofuncional**. 2021. 66f. Dissertação (mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) – Universidade do Vale do Sapucaí, Pouso Alegre, 2021.

FLORES LUNA, Genoveva Lourdes *et al.* Biphasic Dose/Response of Photobiomodulation Therapy on Culture of Human Fibroblasts. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 38, n. 7, p. 413–418, 1 Jul 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32208063/>. Acesso em: 28 mar. 2025.

FREITAS, L. F.; HAMBLIN, M. R. Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. **IEEE J Sel Top Quantum Electron.**, v. 22, n. 3, 2016. Disponível em: doi: 10.1109/JSTQE.2016.2561201. Acesso em: 25 mar. 2025.

GALO, I. D. C.; PRADO, R. P.; SANTOS, W. G. Dos. Blue and red light photoemitters as approach to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* growth. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33787710/>. Acesso em: 25 mar. 2025.

GAO, Xinlu *et al.* Light Emitting Diodes Irradiation Regulates miRNA-877-3p to Promote Cardiomyocyte Proliferation. **International Journal of Medical Sciences**, v. 19, n. 8, p. 1254–1264, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35928721/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

GIANNAKOPOULOS, Efstathios *et al.* The effects of low power laser light at 661 nm on wound healing in a scratch assay fibroblast model. **Lasers in Medical Science**, v. 38, n. 1, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36574084/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

GLASS, Graeme Ewan. Photobiomodulation: The Clinical Applications of Low-Level Light Therapy. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 41, n. 6, p. 723–738, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33471046/>. Acesso em: 20 fev. 2025.

GOLOVYNSKA, Iuliia *et al.* Red and near-infrared light evokes Ca²⁺ influx, endoplasmic reticulum release and membrane depolarization in neurons and cancer cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 214, p. 112088,

Jan 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33278762/>. Acesso em: 15 mar. 2025.

HAMBLIN, Michael R. Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 94, n. 2, p. 199–212, 19 Mar 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29164625/>. Acesso em: 17 fev. 2025.

HWANG, G. J.; CHIEN, Shu-Yun. Definition, roles, and potential research issues of the metaverse in education: An artificial intelligence perspective. **Computers and Education: Artificial Intelligence**, v. 3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.caeai.2022.100082>. Acesso em: 20 fev. 2025.

HAWKINS, D.; HOURELD, N.; ABRAHAMSE, H. Low Level Laser Therapy (LLLT) as an Effective Therapeutic Modality for Delayed Wound Healing. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1056, n. 1, p. 486–493, 22 Nov 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16387711/>. Acesso em: 15 mar. 2025.

HERNÁNDEZ-BULE, Maria Luisa *et al.* Unlocking the Power of Light on the Skin: A Comprehensive Review on Photobiomodulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 8, p. 4483, 19 Abr 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38674067/>. Acesso em: 15 jan. 2025.

HÖNIGSMANN, Herbert. Phototherapy for psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 26, n. 4, p. 343–350, Jun 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11422187/>. Acesso em: 15 fev. 2025.

IARIA, R. *et al.* Laser Photobiomodulation: What Are the Ideal Parameters for Each Type of Laser Used in Dental Practice to Promote Fibroblast Proliferation and Differentiation? A Systematic Review. **Life**, v. 15, n. 6, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life15060853>. Acesso em: 17 mar. 2025.

JOHNSTONE, Daniel M. *et al.* Turning On Lights to Stop Neurodegeneration: The Potential of Near Infrared Light Therapy in Alzheimer's and Parkinson's Disease. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, 11 Jan 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26793049/>. Acesso em: 17 mar. 2025.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica**. 14. ed. Brasil: Guanabara Koogan, 2023.

KAM, Jaimie Hoh *et al.* Mitochondria are specifically vulnerable to 420nm light in drosophila which undermines their function and is associated with reduced fly mobility. **PLOS ONE**, v. 16, n. 9, p. e0257149, 3 Set 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34478469/>. Acesso em: 13 mar. 2025.

KARU, Tuna. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 49, n. 1, p. 1–17, 1999. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10365442/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

KHAVKIN, Jeannie; ELLIS, David A.F. Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 19, n. 2, p. 229–234, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763983/>. Acesso em: 3 fev. 2025

KORGE, Paavo *et al.* Protective Role of Transient Pore Openings in Calcium Handling by Cardiac Mitochondria. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 40, p. 34851–34857, Out 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21859717/>. Acesso em: 12 mar. 2025.

KUFFLER, Damien P. Photobiomodulation in Promoting Wound Healing: A Review. **Regenerative Medicine**, v. 11, n. 1, p. 107–122, 18 Jan 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26681143/>. Acesso em: 13 ago. 2024.

LAN, Cheng-Che E. *et al.* LED 590nm photomodulation reduces UVA-induced metalloproteinase-1 expression via upregulation of antioxidant enzyme catalase. **Journal of Dermatological Science**, v. 78, n. 2, p. 125–132, Maio 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25816722/>. Acesso em: 13 out. 2024.

LEE, Young In *et al.* Exploring the Safety and Efficacy of Organic Light-Emitting Diode in Skin Rejuvenation and Wound Healing. **Yonsei Medical Journal**, v. 65, n. 2, p. 98, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38288650/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LEVCHENKO, Svitlana M. *et al.* Near-Infrared Irradiation Affects Lipid Metabolism in Neuronal Cells, Inducing Lipid Droplets Formation. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 10, n. 3, p. 1517–1523, 20 Mar 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30499655/>. Acesso em: 16 mar. 2025.

MAGHFOUR, Jalal *et al.* Photobiomodulation CME part I: Overview and mechanism of action. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 91, n. 5, p. 793–802, Nov 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38309304/>. Acesso em: 23 fev. 2025.

MATEUS, Tiago *et al.* Fourier-transform infrared spectroscopy as a discriminatory tool for myotonic dystrophy type 1 metabolism: A pilot study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 7, p. 3800, 1 abr. 2021. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33917301/>

MATUZ-MARES, Deyamira *et al.* Mitochondrial Calcium: Effects of Its Imbalance in Disease. **Antioxidants**, v. 11, n. 5, p. 801, 20 Abr 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35624667/>. Acesso em: 14 fev. 2025.

MEDRADO, A. R. *et al.* Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. **Lasers Surg Med.**, v. 32, n. 3, p. 239-44, 2003. Disponível em: doi: 10.1002/lsm.10126. Acesso em: 21 fev. 2025.

MESTER, E.; SZENDE, B.; GÄRTNER, P. The effect of laser beams on the growth of hair in mice. **Radiobiologia, radiotherapia**, v. 9, n. 5, p. 621–6, 1968. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5732466/>. Acesso em: 5 mar. 2025

MGGUFF, Paul E.; DETERLING, Ralph A.; GOTTLIEB, Leonard S. Tumoricidal Effect of Laser Energy on Experimental and Human Malignant Tumors. **New England Journal of Medicine**, v. 273, n. 9, p. 490–492, 1965. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1928359/>. Acesso em: 5 mar. 2025.

MINEROF, F. Jessica *et al.* Photobiomodulation CME part II: Clinical applications in dermatology. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 91, n. 5, p. 805–815, Nov 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38307144/>. Acesso em: 10 fev. 2025.

MOHAMAD, Sherif A. *et al.* Photobiomodulation of mineralisation in mesenchymal stem cells. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 20, n. 5, p. 699–714, 4 Maio 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33945145/>. Acesso em: 12 fev. 2025.

MOTA, Lidiane Rocha *et al.* Photobiomodulation Reduces Periocular Wrinkle Volume by 30%: A Randomized Controlled Trial. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 41, n. 2, p. 48–56, 1 Fev 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36780572/>. Acesso em: 13 jan. 2025.

QUAN, T. *et al.* Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. **Gerontology**, v. 61, n. 5, p. 427–34, 2015. Disponível em: doi: 10.1159/000371708. Acesso em: 17 jun. 2025

ROLA, P. *et al.* Changes in Cell Biology under the Influence of Low-Level Laser Therapy. **Photonics**, v. 9, n. 7, p. 1-15, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/photonics9070502>. Acesso em: 17 jun. 2025.

RORTEAU, Julie *et al.* Vieillesse et intégrité de la peau. **Médecine/sciences**, v. 36, n. 12, p. 1155–1162, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33296632/>. Acesso em: 17 fev. 2025.

ROSSI, Francesca *et al.* Photobiomodulation of Human Fibroblasts and Keratinocytes with Blue Light: Implications in Wound Healing. **Biomedicines**, v. 9, n. 1, p. 41, 5 Jan 2021. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33466557/>

SALEHPOUR, Farzad *et al.* Brain Photobiomodulation Therapy: a Narrative Review. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 8, p. 6601–6636, 11 Ago 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29327206/>. Acesso em: 12 fev. 2025.

SANFORD, K.K.; EARLE, W.R.; LIKELY, G. D. The growth in vitro of single isolated tissue cells. **J Natl Cancer Inst.**, v. 9, n. 3, p. 229-46, 1948. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18105872/>. Acesso em: 12 fev. 2025.

SCHMIDT, T. R. *et al.* Red light-emitting diode on skin healing: an in vitro and in vivo experimental study. **An Bras Dermatol.**, v. 100, n. 1, p. 54-62, 2025. Disponível em: doi: 10.1016/j.abd.2024.02.008. Acesso em: 16 mar. 2025.

SERRAGE, H. J. *et al.* Photobiomodulation of oral fibroblasts stimulated with periodontal pathogens. **Lasers in Medical Science**, v. 36, n. 9, p. 1957–1969, 15 Dez 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33991267/>. Acesso em: 16 mar. 2025.

SILVA, Daniella; CROUS, Anine; ABRAHAMSE, Heidi. Synergistic Effects of Photobiomodulation and Differentiation Inducers on Osteogenic Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells in Three-Dimensional Culture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 24, p. 13350, 12 Dez 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39769115/>

SOUSA, Natanael Teixeira Alves *et al.* Blue Laser Inhibits Bacterial Growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 5, p. 278–282, Maio 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25954830/>. Acesso em: 15 out. 2024.

SOUSA, Kaline Brito de *et al.* Effects of amber LED on inflammatory and regulatory monocytes and lymphocytes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 251, p. 112848, Fev 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134424000083?via%3Dihub>. Acesso em: 12 nov. 2024.

STUART, Barbara H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. Chichester: John Wiley & Sons, 2004.

STUTZMANN, Grace E.; MATTSON, Mark P. Endoplasmic Reticulum Ca²⁺ Handling in Excitable Cells in Health and Disease. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 3, p. 700–727, Set 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3141879/>. Acesso em: 15 mar. 2025.

SUSIGAN, Bianca Felipe *et al.* Photobiomodulation as a strategy to enhance argan oil permeation across diverse hair types. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 341, p. 126391, 15 nov. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2025.126391>. Acesso em: 20 nov. 2025.

TAMIMI, Reyhaneh *et al.* Anti-inflammatory effect of green photobiomodulation in human adipose-derived mesenchymal stem cells. **Lasers in Medical Science**, v. 37, n. 9, p. 3693–3703, 17 Nov 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36385209/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

TOPALOGLU, Nermin; ÖZDEMİR, Merve; ÇEVİK, Ziyşan Buse Yaralı. Comparative analysis of the light parameters of red and near-infrared diode lasers to induce photobiomodulation on fibroblasts and keratinocytes: An *in vitro* study. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 37, n. 3, p. 253–262, 23 Maio 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33332651/>. Acesso: 15 fev. 2025.

VARANI, J. *et al.* Decreased Collagen Production in Chronologically Aged Skin: Roles of Age-Dependent Alteration in Fibroblast Function and Defective Mechanical Stimulation. **The American Journal of Pathology**, v. 168, n. 6, p. 1861–1868, 2006.

Disponível em: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.051302>. Acesso em: 12 fev. 2025.

VELOSO, Tatiane Moraes; FONSECA, Adenilson de Sousa da; SANTOS, Gilson Costa dos. Effects of light-emitting diodes on cell biology. **Frontiers in Photonics**, v. 3, 10 Nov 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/photonics/articles/10.3389/fphot.2022.1018773/full>. Acesso em: 12 fev. 2025.

WU, Shengnan *et al.* Cancer Phototherapy *via* Selective Photoinactivation of Respiratory Chain Oxidase to Trigger a Fatal Superoxide Anion Burst. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 5, p. 733–746, 10 Fev 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23992126/>. Acesso em: 13 mar. 2025.

YOUNG, Antony R. Chromophores in human skin. **Physics in Medicine and Biology**, v. 42, n. 5, p. 789–802, 1 Maio 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9172259/>. Acesso em: 12 fev. 2025.

ZEIN, Randa; SELTING, Wayne; HAMBLIN, Michael R. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. **Journal of Biomedical Optics**, v. 23, n. 12, p. 1, 11 Dez 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30550048/>. Acesso em: 20 ago. 2024.

ZHAO, Hongyou *et al.* Comparative study on Photobiomodulation between 630 nm and 810 nm LED in diabetic wound healing both *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Innovative Optical Health Sciences**, v. 15, n. 02, 31 Mar 2022. Disponível em: <https://www.worldscientific.com/doi/10.1142/S1793545822500109>. Acesso em: 14 fev. 2025.

ZHANG, Yanlei; JI, Quanbo. Current advances of photobiomodulation therapy in treating knee osteoarthritis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, 16 Nov 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38033853/>. Acesso em: 3 fev. 2025.