

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA**

SILVANA APARECIDA GIRÃO DE GODOI

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FOTOTÉRMICO DO LASER DE DIODO λ
1470 NM NA PELE EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS**

**EVALUATION OF THE PHOTOTHERMAL EFFECTS OF THE DIODE
LASER λ 1470 NM ON THE SKIN IN AN EXPERIMENTAL RAT MODEL**

São Paulo – SP

2024

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

SILVANA APARECIDA GIRÃO DE GODOI

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FOTOTÉRMICO DO LASER DE DIODO λ
1470 NM NA PELE EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS**

Qualificação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Prof(a). Dr(a). Lívia Assis
Orientador(a)

Prof(a). Dr(a). Carla Roberta Tim
Coorientador(a)

São Paulo – SP
2024

Ficha catalográfica
(em construção)

TERMO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE
BRASIL

TERMO DE APROVAÇÃO

SILVANA APARECIDA GIRÃO GODOI

**“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FOTOTÉRMICO DO LASER DE DIODO
À 1470 NM NA PELE EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



Documento assinado digitalmente
LÍVIA ASSIS GARCIA
Data: 21/06/2024 10:30:24 -0300
Verifique em: <https://verificar.br.gov.br>

Prof.(a) Dr.(a) Lívia Assis Garcia (Presidente-Orientadora)



Documento assinado digitalmente
ANA LAURA MARTINS DE ANDRADE
Data: 21/06/2024 11:11:36 -0300
Verifique em: <https://verificar.br.gov.br>

Prof(a). Dr(a). Ana Laura Martins de Andrade (Membro Interno)



Documento assinado digitalmente
VILMA DA NATIVIDADE DA SILVA
Data: 21/06/2024 14:46:17 -0300
Verifique em: <https://verificar.br.gov.br>

Prof.(a) Dr.(a) Vilma da Natividade da Silva (Membro Externo)

São Paulo, 26 de junho de 2024
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a). Lívia Assis Garcia

Houve alteração do Título: sim () não ()

Campus Itaquera
Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030
WhatsApp: (11) 4858-6272
www.ub.edu.br

FOLHA DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DO TEXTO NA PÁGINA UNIVERSIDADE BRASIL E CATÁLOGO DE TESES E DISSERTAÇÕES DA CAPES E REPRODUÇÃO DO TRABALHO



UNIVERSIDADE
BRASIL

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: "AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FOTOTÉRMICO DO LASER DE DIODO À 1470 NM NA PELE EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS"

Houve alteração do Título: sim () não (Test):

Autor(es):

Discente: **SILVANA APARECIDA GIRÃO DE GODOI**  Documento assinado digitalmente
SILVANA APARECIDA GIRÃO DE GODOI
Data: 27/06/2024 14:55:39 -0300
Verifique em <https://verifica.br.gov.br>

Assinatura: _____

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Lívia Assis Garcia**  Documento assinado digitalmente
LIVIA ASSIS GARCIA
Data: 27/06/2024 10:10:06 -0300
Verifique em <https://verifica.br.gov.br>

Assinatura: _____

Coorientador(a):

Assinatura: _____

São Paulo, 26 de junho de 2024

Campus Itaquera
Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030
WhatsApp: (11) 4858-6272
www.ub.edu.br

*Ao meu pai Antonio (In memoriam), à
minha mãe Sebastiana, pela honradez e
pela eterna perseverança legada.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus em primeiro lugar**, por me permitir a oportunidade de vivenciar toda essa conquista.

Aos meus pais Antonio (*In memoriam*) e Sebastiana que iluminaram meu caminho com suas orações.

Ao meu grande parceiro, amigo e amor maior, **Peterson**, pelo apoio incondicional na realização de mais um sonho. Seu amor, carinho e compreensão foram essenciais ao longo desta jornada.

Aos meus filhos amados **Lucas** e **Clara**, que souberam respeitar minha ausência e com amor tolerar por vezes minhas ansiedades.

Aos meus **amigos** verdadeiros que entenderam minha ausência, por todos os momentos de desabafos e que com suas palavras motivacionais me fortaleceram.

À minha preciosa orientadora **Profa. Dra. Livia Assis Garcia**, não tenho palavras suficientes para declarar a gratidão, carinho, respeito e admiração que tenho por você. Ser humano incrível que não hesita em compartilhar todo o seu conhecimento. Incontáveis foram as nossas conversas, e você sempre disponibilizando seu tempo, sua atenção com palavras de incentivo e mesmo em meio as cobranças necessárias, sempre foram com palavras gentis, amigas e carinhosas. Seus ensinamentos me trouxeram além da pesquisa a oportunidade de me desafiar, de dar o meu melhor e evoluir como pessoa. A minha eterna gratidão!

À minha coorientadora **Profa. Dra. Carla Tim** pela oportunidade de fazer parte de sua equipe de pesquisa e de todas as considerações realizadas neste trabalho. Admiro sua dedicação ao mundo da ciência.

Aos meus **colegas do LaBETEC** com os quais tive a oportunidade de vivenciar a experiência de realizar um trabalho dentro do laboratório equipado, o qual pesquisa pode ter sido realizada com fidelidade.

Aos responsáveis pelo Biotério, pelas orientações necessárias, tornando o manejo com os animais seguro durante todo o experimento.

À **Profa. Dra. Estela Correia Sant 'Ana**, por todo o seu apoio e solicitude em todos os momentos que mais precisei.

Às **professoras da banca examinadora**: Profa. Dra. Ana Laura Martins de Andrade, Dra. Vilma da Natividade pela disponibilidade, gentileza e por contribuir no aprimoramento deste trabalho.

A **Universidade Brasil** pelo apoio e sempre solicita em toda a esfera, sem dúvida nenhuma imprescindível para essa jornada acadêmica.

A **todos os professores** das disciplinas do mestrado do programa Engenharia Biomédica, meu respeito, carinho e gratidão.

À empresa **Fismatek** pelo suporte com o equipamento de Neolaser durante o experimento e de todas as devolutivas das minhas solicitações.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.”
Roberto Shinyashiki

RESUMO

O laser de diodo de alta potência subdérmico é uma terapia que vem sendo frequentemente utilizado, como tratamento do envelhecimento da pele. Entretanto, existe a necessidade de estudos com intuito de verificar alterações morfológicas e moleculares da pele acionados por essa tecnologia de luz. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos fototérmicos do laser de diodo comprimento de onda (λ) 1470 nm na pele de ratos. Foram utilizados 20 ratos Wistar, machos, aleatorizados em 2 grupos: laser placebo (LP): foi utilizado o tratamento com laser subdérmico desligado; laser ativo (LA): foi utilizado o tratamento com laser subdérmico. Para a terapia foi utilizado equipamento de laser de diodo de alta potência ($\lambda = 1470$ nm; $P = 2$ W; área do feixe = $240 \mu\text{m}^2$; divergência do feixe em rad: 0,227; modo contínuo), aplicados em 5 vetores subdérmicos na região do dorso do animal em uma área de 24 cm^2 depositando uma média de energia de 200 J, em uma única sessão e o tecido foi avaliado 15 dias após a intervenção. Para avaliação dos efeitos do tratamento foram realizadas análises histológicas, morfométricas e a imunoexpressão do fator de crescimento transformador do tipo beta (TGF- β) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Os resultados demonstraram que os animais laser ativo mostraram melhor arranjo das bandas das fibras de colágeno um aumento da espessura da derme e do número de vasos. Além disso, os animais tratados com laser ativo apresentaram um aumento imunoexpressão de TGF- β e VEGF em comparação com o placebo. Assim, podemos concluir que o laser de diodo de alta potência subdérmico demonstra ser uma opção promissora na dermatologia estética, visto que foi capaz de aumentar a vascularização e a expressão de fatores que potencializam o rejuvenescimento da pele.

Palavras-chave: Laser de alta potência; Laser subdérmico; Envelhecimento da pele, Rejuvenescimento facial; Medicina estética; Endolaser.

ABSTRACT

The subdermal high-power diode laser is a therapy that has been frequently used as a treatment for skin aging. However, there is a need for studies to verify morphological and molecular changes in the skin triggered by this light technology. Thus, the objective of the present study was to evaluate the photothermal effects of diode laser wavelength (λ) 1470 nm on the skin of rats. 20 male Wistar rats were used, randomized into 2 groups: placebo laser (LP): treatment with subdermal laser turned off; active laser (LA): subdermal laser treatment was used. For therapy, high-power diode laser equipment was used ($\lambda = 1470$ nm; P = 2 W; beam area = 240 μm ; beam divergence in rad: 0.227; continuous mode), applied in 5 subdermal vectors in the region of the animal's back in an area of 24 cm^2 depositing an average of energy of 85 J/cm^2 , in a single session and the tissue was evaluated 15 days after the intervention. To evaluate the effects of the treatment, histological, morphometric analyzes and immunoexpression of transforming growth factor beta (TGF- β) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were performed. The results demonstrated that active laser animals showed a better arrangement of collagen fiber bands and an increase in the thickness of the dermis and the number of vessels. Furthermore, animals treated with active laser showed an increased immunoexpression of TGF- β and VEGF compared to placebo. Thus, we can conclude that the subdermal high-power diode laser proves to be a promising option in aesthetic dermatology, as it was capable of increasing vascularization and the expression of factors that enhance skin rejuvenation.

Keywords: High power laser; Subdermal laser; Skin aging, Facial rejuvenation; Aesthetic medicine; Endolaser.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Esse estudo experimental foi realizado com o propósito de verificar os efeitos do laser de alta potência subdérmico na pele de ratos através da verificação de aspectos morfológicos e imunoistoquímicos. A terapêutica mostrou ser um método capaz de aumentar a vascularização e estimular fatores de crescimento responsáveis pelo remodelamento da pele.

Com a realização desse estudo é possível propor que o laser de alta potência subdérmico poderia ser implementado como um tratamento inovador para atenuar os sinais de envelhecimento da pele, entretanto, faz-se necessário ensaios clínicos controlados e randomizados com o objetivo de avaliar a eficácia e segurança da técnica.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo do modelo experimental de tratamento	29
Figura 2 - Fotomicrografias representativas da análise histopatológica da pele	33
Figura 3 - Avaliações referentes a análise da espessura da derme	34
Figura 4 - Análise de número de vasos sanguíneos	35
Figura 5 - Fotomicrografias representativas da análise imunoistoquímica do marcador TGF- β	36
Figura 6 - Fotomicrografias representativas da análise imunoistoquímica do marcador VEGF	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 PELE E ENVELHECIMENTO	20
3.2 LASER DE ALTA POTÊNCIA	24
4 MATERIAIS E MÉTODO	27
4.1 LOCAL DE ESTUDO	27
4.2 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	27
4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS	27
4.4 MODELO EXPERIMENTAL DE TRATAMENTO COM LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA SUBDÉRMICO	28
4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS E EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	29
4.6 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	30
4.7 ANÁLISES	30
4.7.1 Avaliações macroscópicas da evolução da pele	30
4.7.2 Análise histológica descritiva	30
4.7.3 Espessura da derme	31
4.7.4 Análise do número de vasos sanguíneo	31
4.7.5 Avaliação de imunoistoquímica	31
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
5 RESULTADOS	33
5.1 ANÁLISE MASCROSCÓPICA	33
5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA	33
5.3 ANÁLISE DA ESPESSURA DA DERME	33
5.4 ANÁLISE DO NÚMERO DE VASOS SANGUÍNEOS	34
5.5 ANÁLISE DE TGF- B	35
5.6 ANÁLISE DE VEGF	36
6 DISCUSSÃO	38

7 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXO I – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	47

1 INTRODUÇÃO

A pele, órgão mais volumoso e visível do corpo, onde todas as alterações, incluindo envelhecimento, são claramente distinguíveis (Khavkin; Ellis, 2011). O envelhecimento da pele é um processo complexo influenciado por fatores intrínsecos (genéticos) e extrínsecos (epigenéticos/ambientais) caracterizados por uma perda progressiva da funcionalidade e do potencial regenerativo tecidual (Wang *et al.*, 2019; Farage *et al.*, 2008; Krutmann *et al.*, 2017).

A literatura atual mostra que durante o envelhecimento há uma produção excessiva espécie reativas de oxigênio (ROS) e redução na produção de enzimas antioxidantes que favorecem o aparecimento de microambiente com características inflamatórias crônica de baixa magnitude na pele, conhecida como “*inflammaging*”. Sugere-se que as células senescentes presentes na pele ativam componentes de SAPS (fenótipo secretor associado ao estado senescente), citocinas e metaloproteinases de matriz (MMP), que degradam componentes da matriz extracelular, desempenhando um papel importante no envelhecimento da pele (Csekes *et al.*, 2021; Wang *et al.*; 2019; Lee *et al.*, 2021; Pilkington *et al.*, 2021).

Assim, à medida que a pele envelhece, ocorre uma redução das funções das células da pele, com perda progressiva da vascularização, fibras dérmicas (fibras colágenas, reticulares e elásticas) e da substância fundamental (glicoproteínas e proteoglicanos) (Csekes *et al.*, 2021). A significativa redução da epiderme e derme que ocorre no envelhecimento são clinicamente manifestadas por xerose, discromias, flacidez, perda de elasticidade, telangiectasias e rugas, com destaques para áreas mais foto expostas (Lee *et al.*, 2021), que pode impactar diretamente na saúde mental, na autoconfiança e na autoestima do indivíduo (Chang *et al.*, 2019).

No que tange a medicina dermatológica e estética, a busca pela vitalidade e beleza da pele incentivou avanços tecnológicos e inovadores em procedimentos minimamente invasivos ou não invasivos. Tradicionalmente, os tratamentos disponíveis para restaurar a aparência de uma pele jovem eram opções limitadas, muitas vezes envolvendo procedimentos cirúrgicos invasivos com tempo de inatividade e riscos associados (Manafi *et al.*, 2020). No entanto, nas últimas décadas, os novos métodos de tratamento prometem rejuvenescer e redefinir a pele com invasividade mínima e eficácia clínica elevada (Zouboulis *et al.*, 2019; Benar *et al.*, 2024).

O laser de alta potência subdérmico tem recebido considerável atenção na área da dermatologia no tratamento de rejuvenescimento da pele. A terapia utiliza uma fibra óptica, tendo como alvo a camada subdérmica da pele, estimulando a produção de colágeno da região tratada. Estudos demonstram que a tecnologia pode ser utilizada para o tratamento de distúrbios da pele, tais como cicatrizes hipertróficas e de acne (Philandrianos *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Nilforoushzadeh *et al.*, 2021), adiposidade submentoniana, braço e abdômen (Nilforoushzadeh *et al.*, 2022c), bolsa ocular inferior (Nilforoushzadeh *et al.*, 2022b), levantamento de pálpebra superior e ptose das sobrancelhas (Nilforoushzadeh *et al.*, 2020), remodelamento do nariz (Lotfi *et al.*, 2020) e flacidez da pele (Benar *et al.*, 2024).

Ainda, estudos mostram que a terapia é capaz de promover um processo regenerativo natural, atenuando os sinais de envelhecimento (Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Nilforoushzadeh *et al.*, 2023; Nilforoushzadeh *et al.*, 2022d). Desta forma, o desenvolvimento tecnológico vem permitindo a manufatura de dispositivos cada vez mais modernos e precisos e que, por sua vez, proporcionam a fototermólise seletiva e ideal, o que garante a consistência e segurança da terapia (Benar *et al.*, 2024).

Desta forma, apesar da crescente popularidade do laser de alta potência subdérmico na prática clínica comum, algumas questões referentes à utilização da tecnologia em reduzir os sinais de envelhecimento da pele ainda não são bem compreendidas. Em particular, há carência de estudos na literatura investigando os efeitos fototérmicos do laser de alta potência subdérmico no comprimento de onda infravermelho 1470 nm sobre os aspectos celular e molecular da pele. Nesse contexto, foi levantada a hipótese de que o laser subdérmico, poderia promover o remodelamento da pele, constituindo-se em um tratamento adequado e eficaz a ser utilizado na prática clínica (Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Benar *et al.*, 2024).

Nesse sentido, evidências imuno-histopatológico perante esse cenário seriam de grande valia para compreender com exatidão os benefícios da utilização desta abordagem terapêutica no tratamento do envelhecimento da pele. Usando um modelo experimental, utilizando uma região pré-estabelecida da pele do dorso do animal, realizamos um estudo focando na análise histopatológica e da imunoexpressão de fatores de crescimento relacionados ao reparo da pele.

Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos fototérmicos do laser de alta potência subdérmico no comprimento de onda (λ) 1470 nm na pele, através de um estudo experimental em ratos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos fototérmico do laser de alta potência subdérmico no comprimento de onda (λ) 1470 nm na pele de ratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar os efeitos do laser subdérmico nos aspectos histopatológicos da pele;
- Analisar a ação do laser de diodo sobre a expressão de marcadores envolvidos com o processo de reparo da pele.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PELE E ENVELHECIMENTO

A pele é caracterizada como um órgão complexo e dinâmico que recobre toda superfície do corpo humano, sendo responsável pela barreira física que atenua a perda de água e eletrólitos, protege contra a penetração de substâncias indesejáveis e microrganismos, auxilia na regulação da temperatura corporal, fornece vigilância imunológica, além de possuir terminações nervosas autônomas e sensoriais que detectam estímulos de dor, pressão, toque, vibração e temperatura (Arda *et al.*, 2014). Ainda, é considerada como um componente importante da beleza externa (Khavkin; Ellis, 2011).

Com relação aos aspectos morfológicos e funcionais, a camada mais externa da pele, denominada de epiderme é constituída de um epitélio estratificado pavimentoso e queratinizado. O epitélio compreende diferentes tipos celulares, sendo o queratinócito a célula mais abundante (95% das células epiteliais). Esta camada é organizada em estratos de acordo com o estágio de diferenciação dos queratinócitos, morfológicamente distintas, sendo elas classificadas do superficial para o mais profundo como: estrato córneo, granuloso, espinhoso e basal ou germinativo. Outros tipos de células são encontrados na epiderme como os melanócitos (produtores de melanina), células de *Langerhans* (defesa imunológica) e células de *Merkel* (receptores mecânico e tátil) (Fore *et al.*, 2006).

Delimitando o final da epiderme e o início da derme há uma membrana basal formada por colágeno o tipo IV e laminina, denominada de junção dermo-epidérmica, que conferem adesão entre a derme e a epiderme, confere resistência da pele contra forças de cisalhamento (Arda *et al.*, 2014; Thulabandu *et al.*, 2018).

Imediatamente abaixo da membrana basal, encontra-se a derme, uma camada espessa de tecido conjuntivo que apresenta uma alta densidade de macromoléculas extracelulares (MEC) com destaque para os componentes fibrilares colágeno e a elastina que conferem resistência e elasticidade, respectivamente, para a pele. De acordo com a distribuição e organização dessas fibras pode-se observar dois arranjos distintos na derme, sendo um mais frouxo denominado de derme papilar e outro mais denso, a derme reticular (Fore *et al.*, 2006).

A derme papilar é a derme mais superficial composta por uma predominância feixes de fibras de colágeno frouxamente organizados, com uma predominância do colágeno do tipo I e de fibras elásticas (oxitalâmicas) fundidas perpendicularmente à membrana basal. Essa camada apresenta também diversos capilares sanguíneos e linfáticos, assim como terminações nervosas livres (Khavkin; Ellis, 2011).

A derme mais profunda, derme reticular apresenta fibras mais densas de colágeno, sendo o mais predominante o do tipo I (90%) e III (10%), que se entrelaçam com fibras elásticas. É encontrado também uma alta predominância de substância fundamental amorfa da MEC, arteríolas, vênulas e anexos cutâneos como o folículo piloso e glândulas sebáceas e sudoríparas (Arda *et al.*, 2014). De maneira geral, os componentes celulares da derme incluem células dendríticas, macrófagos, mastócitos e fibroblastos. Os fibroblastos são as células responsáveis por sintetizar os componentes da MEC, ou seja as fibras dérmicas (fibras colágenas, elásticas e reticulares) e a substância fundamental (glicoproteínas e proteoglicanos) (Arda *et al.*, 2014).

Destaca-se que o colágeno é o principal constituinte da derme, aproximadamente 90% das fibras dérmicas com destaque para os tipos I e III, conferindo resistência tênsil e resistência mecânica à pele (Khavkin; Ellis, 2011). As fibras elásticas são responsáveis por devolver a pele à sua configuração normal após a deformação e estendem-se desde a lâmina densa da junção dermo-epidémica até a derme reticular. Já, as fibras reticulares também estão presentes na derme e consistem em fibras finas de colágeno e fibronectina (Thulabandu *et al.*, 2018).

Abaixo da pele, encontra-se a hipoderme (também conhecida como tela subcutânea), uma camada de tecido conjuntivo frouxo associado ao tecido adiposo, com função de proteção e isolamento, além de servir como reserva de energia. É possível observar adipócitos, fibroblastos, macrófagos e uma grande quantidade de substância fundamental. Os adipócitos apresentam dispostos em lóbulos separados por septos de tecido conjuntivo. A espessura dessa camada mostra variação anatômica e individual, e reflete o estado nutricional do indivíduo (Csekes *et al.*, 2021; Khavkin; Ellis, 2011).

O envelhecimento é um processo dependente do tempo, determinado por mudanças persistentes na funcionalidade e reprodutibilidade do organismo e aumento da probabilidade de morbidade e mortalidade (Höhn *et al.*, 2017). A pele humana fornece as primeiras marcas óbvias da passagem do tempo, visto que está

constantemente exposta a estímulos internos e externos, fato que impacta na sua estrutura e funcionalidade com a progressão da idade (Nikolakis *et al.*, 2013; Csekes *et al.*, 2021).

O envelhecimento da pele é caracteriza-se por processos intrínsecos e extrínsecos (Farage *et al.*, 2008). O envelhecimento intrínseco ou cronológico é um processo inevitável determinado por fatores genéticos e epigenéticos. A nível celular, as células perdem sua capacidade proliferativa (limite de *Hayflick*) e entram em um estado de parada irreversível do ciclo celular, mais tarde denominada senescência celular ou replicava devido a redução dos telômeros (Csekes *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2019). Já, o envelhecimento extrínseco é considerado mais deletério para a pele e é ocasionado por fatores externos, tais como, radiação UV, fatores nutricionais, falta de sono, estresse, poluição do ar, fumaça de cigarro, dentro outros estressores (Farage *et al.*, 2008; Krutmann *et al.*, 2017).

É conhecido que, tanto no processo de envelhecimento intrínseco assim como no extrínseco, ocorre danos às estruturas celulares e destruição da integridade dos componentes da MEC. que compõe a pele. Devido ao excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidos durante o envelhecimento associado à reduzida queda da produção de enzimas antioxidantes, favorecendo ainda mais o estresse oxidativo tecidual (Wang *et al.*, 2019). Evidências crescentes sugerem que o excesso de ROS nos queratinócitos e fibroblastos senescentes ativa a via de sinalização de marcadores inflamatórios, como o fator nuclear kappa β (NF- κ β), o que ocasiona o aumento da secreção de citocinas pro-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e de metaloproteinases de matriz (MMPs), promovendo inflamação, comprometimento mitocondrial, deterioração tecidual e otimização do envelhecimento da pele (Lee *et al.*, 2021; Pilkington *et al.*, 2021).

O aumento da produção destes componentes conhecidos como SASP (fenótipo secretor associado ao estado senescente) é uma das marcas mais relevantes da senescência (Csekes *et al.*, 2021). Assim, o envelhecimento da pele é caracterizado por inflamação crônica persistente de baixo grau, termo conhecido, do inglês como “*inflammaging*”, ocasionando a modificações molecular, celular e fisiológica na pele (Lee *et al.*, 2021; Pilkington *et al.*, 2021).

Na pele envelhecida, é observado histomorfologicamente, uma redução na espessura da epiderme e achatamento da junção dermo-epidérmica, o que contribui para oxigenação deficiente, aumento da fragilidade da pele e da formação de rugas.

A capacidade proliferativa dos queratinócitos basais diminui, fato que ocasiona um reparo mais lento (Csekes *et al.*, 2021). A derme torna-se atrofica com número reduzido de fibroblastos, a síntese dos componentes da MEC é prejudicada, o número e o diâmetro dos feixes de fibras de colágeno diminuem, a proporção de colágeno tipo III para colágeno tipo I aumenta (principalmente devido à perda de colágeno I). Ocorrem também alterações na organização das fibras elásticas, que se manifestam como adelgaçamento dérmico progressivo, aumento do enrugamento e perda de elasticidade (Wang *et al.*, 2019).

Sabe-se que o conteúdo total de colágeno por unidade de área da superfície da pele diminui aproximadamente 1% ao ano associado a uma diminuição do tecido adiposo subdérmico (Autio *et al.*, 1994). Ainda, a pele envelhecida pode ser verificado acúmulo de material de elastina logo abaixo da junção dermo-epidérmica, conhecido como elastose, fragmentação acelerada do colágeno e das fibras elásticas (devido intensa atividade de MMPs). Ocasionalmente rugas mais profundas, flacidez, opacidade e aspereza (Wang *et al.*, 2019; Krutmann *et al.*, 2021; Zouboulis *et al.*, 2019).

Todas as alterações na morfologia da pele citadas manifestam-se clinicamente por flacidez, xerose e algumas linhas de expressão, ressecamento, pigmentação irregular, perda de elasticidade, telangiectasias e áreas de púrpura especialmente nas áreas foto expostas (Lee *et al.*, 2021).

Estudos mostram que na meia idade, embora a presença de flacidez e rugas seja natural, a cobrança imposta pela sociedade ainda determina a beleza física como padrão para a qualidade de vida e muitos indivíduos se deparam com a baixa na autoestima, uma vez que esses fatores afetam a satisfação pessoal, corroborando com os dados observados no presente estudo (Chang *et al.*, 2019).

A dermatologia estética, pode contribuir para o envelhecimento saudável desempenhando um papel significativo na prevenção, regeneração e retardo do envelhecimento da pele (Zouboulis *et al.*, 2019). Várias estratégias antienvhecimento tem sido desenvolvidas nos últimos anos, tais como medidas preventivas (evitando fatores exógenos do envelhecimento, correção de estilo de vida e hábitos), estratégias cosmetológicas, agentes terapêuticos tópicos e sistêmicos e procedimentos invasivos (Landau *et al.*, 2017; Zouboulis *et al.*, 2019). Nesse cenário, o uso do laser de diodo de alta potência subdérmico aumentou consideravelmente nos últimos anos (Nilforoushzadeh *et al.*, 2021; Lofti *et al.*, 2022; Nilforoushzadeh *et*

al., 2022a; Nilforoushzadeh *et al.*, 2022b; Nilforoushzadeh *et al.*, 2022c; Nilforoushzadeh *et al.*, 2023; Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Bener *et al.*, 2024).

3.2 LASER DE ALTA POTÊNCIA

Os tratamentos que usam as tecnologias a laser têm recebido considerável atenção na área dermatológica aplicada ao tratamento de rejuvenescimento da pele (Archer *et al.*, 2019). O rejuvenescimento da pele com laser de CO₂ e érbio:YAG são, nos últimos 10 anos, os mais utilizados na prática clínica (Hamilton *et al.*, 2018).

Entretanto, uma nova geração de dispositivos foi desenvolvida com base nos princípios do laser, ou seja, amplificação da luz por emissão estimulada pela radiação, com destaque para o laser de diodo de alta potência subdérmico (Benar *et al.*, 2024).

Esses dispositivos foram desenvolvidos, principalmente, no comprimento de onda de infravermelho, devido ao seu importante espectro de absorção com a água (Li *et al.*, 2020) e foram baseados nos conceitos básicos do Dr. Dell'Avanzato o qual desenvolveu a técnica Endolift® em 2005, sendo que ENDO significa interno e LIFT elevar/retrair.

A técnica que visa elevar tecidos de camadas mais profundas ganhou popularidade no mercado global por ser tratar de um procedimento relativamente simples e seguro, produzindo resultados imediatamente visíveis (Dell'avanzato *et al.*, 2022; Longo *et al.*, 2022)

A energia do laser subdérmico é entregue através de um tipo específico de fibra óptica nua com diâmetro que variam de 200 a 600 microns. A fibra óptica, com irradiação laser direcional, permite a penetração através do tecido até uma profundidade de 2–3 mm, depende do ângulo da penetração da fibra, ocasionando uma penetração mais profunda quando comparado com outros dispositivos a laser, como os laser fracionado não ablativo e ablativos que fornecem energia direcionada através da epiderme superficial e, portanto, sofre dispersão, além de poder ser técnicas mais doloridas (Li *et al.*, 2020). As fibras ópticas utilizadas pelo laser, são um meio de transmissão muito prático devido à sua flexibilidade e ao seu pequeno diâmetro (Li *et al.*, 2019).

O laser subdérmico é emitido no comprimento de onda infravermelho, sendo a luz absorvida pela água e pela hemoglobina, particularmente pela desoxihemoglobina, resultando em ablação e coagulação de tecidos alvo, fenômeno

conhecido como fototermólise seletiva (Li *et al.*, 2020; β). Acredita-se que o laser subcutâneo possui mecanismo de ação duplo, ou seja, fototermólise acústica e mecânica seletiva do tecido alvo, ou seja, dano térmico localizado dentro de uma faixa estreita (Longo *et al.*, 2022). De acordo com Havel *et al.*, 2014, durante a aplicação do laser, o colágeno degenera e encolhe enquanto o calor difuso leva à desnaturaçãodas proteínas e à coagulação do tecido.

As primeiras pesquisas com o uso do laser com fibra óptica de 1470 nm foram realizadas por Gayen *et al.* 2023, em modelo *ex vivo* em amostras de aorta humana e suína e também em pele. O dispositivo foi usado pela primeira vez na prática clínica por Seitz *et al.*, 2007 para tratar hiperplasia prostática benigna. Mais recentemente, o laser subdérmico tem sido usado no tratamento de uma variedade de distúrbios clínicos, incluindo fístula anorretal (Oztürk *et al.*, 2014), varicosidade (Zerweck *et al.*, 2014), problemas do trato respiratório devido ao desvio do septo nasal ou hipertrofia da concha inferior (VEIT *et al.*, 2017), e deposição excessiva de gordura (Leclère *et al.*, 2015).

Nos dias atuais, o laser subdérmico tem sido utilizado no tratamento de uma variedade de aplicações clínicas na dermatologia estética, tais como cicatrizes hipertróficas e de acne (Philandrianos *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Nilforoushzadeh *et al.*, 2021), adiposidade submentoniana, braço e abdômen (Nilforoushzadeh *et al.*, 2022c), bolsa ocular inferior (Nilforoushzadeh *et al.*, 2022b), levantamento de pálpebra superior, ptose das sobrancelhas (Nilforoushzadeh *et al.*, 2022a), remodelamento do nariz (Lotfi *et al.*, 20220), flacidez da pele (BENAR *et al.*, 2024) e rugas faciais (Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Nilforoushzadeh *et al.*, 2023; Nilforoushzadeh *et al.*, 2022d) com resultados clínicos promissores.

A literatura atual afirma que o laser subdérmico é capaz de proporcionar o remodelamento do tecido conjuntivo na pele envelhecida sendo considerado, portanto, uma ferramenta potencial para o rejuvenescimento da pele (Benar *et al.*, 2024). Estudos clínicos mostram que laser o laser subdérmico é capaz de diminuir a flacidez da pele e também pode diminuir as rugas faciais (Nilforoushzadeh *et al.*, 2023).

Nilforoushzadeh *et al.*, 2022a utilizaram o laser subdérmico para tratar a ptose da pálpebra superior e da sobrancelha dos pacientes. Os resultados biométricos mostraram que o tratamento pode aumentar a espessura, densidade e elasticidade da pele na região das pálpebras. Os autores relatam que nas avaliações realizadas

por dermatologistas, mostraram melhora em cerca de 90% dos pacientes tratados. Ainda, foi observado, excelente melhora no questionário de satisfação em 90% dos pacientes que receberam o tratamento. Desta forma, os autores afirmam que o laser subdérmico provou ser eficiente e consistente para o rejuvenescimento e tratamento da ptose da pálpebra superior e sobancelha.

Os mesmos autores, utilizando o laser subdérmico para tratamento de rugas e linhas de expressão na região da testa (Nilforoushzadeh *et al.* 2022d), assim como no sulco nasogeniano (Nilforoushzadeh *et al.* 2023) evidenciaram um aumento significativo da espessura e a elasticidade da pele aumentam após o tratamento tanto na melhora clínica em avaliação realizada por dermatologista o quanto nas respostas positivas de satisfação ao tratamento relatados pelos pacientes.

É importante destacar que a maioria dos ensaios clínicos que utilizaram o laser subdérmico em tratamentos dermatológicos e estéticos apontam que terapia demonstrou ser segura, com reações adversas mínimas ou não significativas (Nilforoushzadeh *et al.* 2023; Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Bener *et al.*, 2024).

Apesar da crescente popularidade do laser de alta potência subdérmico no tratamento do envelhecimento facial, a qualidade das evidências que suportam seu uso é baixa devido à falta de métodos consistentes de aplicabilidade. A maioria dos estudos apresentam limitações, que incluem um pequeno tamanho da amostra, a falta de um grupo de controle e, muitas vezes a omissão de parâmetros de aplicação. Ainda, é necessário ter cautela ao interpretar resultados, que na maioria das vezes são decorrentes de análises subjetivas, pois as melhorias podem ser vistas como altamente variáveis devido ao viés do observador da pesquisa.

De acordo com os relatos supracitados, sugere-se que o laser subdérmico possui potencial terapêutico promissor em reduzir os sinais de envelhecimento da pele. No entanto, embora haja o seu uso difundido na prática clínica, algumas questões referentes à técnica ainda não estão bem compreendidas. Em primeiro lugar, não há um consenso padrão a respeito de dosimetrias ideais para o tratamento de rugas faciais. No trabalho atual foi utilizado apenas uma sessão de tratamento com laser subdérmico no comprimento de onda infravermelho (1470 nm), na pele do dorso do animal, mimetizando um tratamento de rejuvenescimento facial. Em segundo lugar, há uma carência de estudos que avaliam a morfologia da pele e fatores de crescimento relacionados ao reparo da pele.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 LOCAL DE ESTUDO

Este estudo foi desenvolvido em parceria com o Laboratório de Biomateriais e Engenharia Tecidual (LaBETec) localizado no Departamento de Biociências da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP - Campus Baixada Santista). O projeto obteve aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da ANILAB com parecer no 01/2023 (Anexo - I).

4.2 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para a execução do estudo proposto, foram utilizados 20 ratos (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*), da linhagem Wistar, machos, com três meses de idade e massa corpórea média de 300 g. Os animais foram mantidos em Biotério de Experimentação e durante todo o período experimental permaneceram em gaiolas coletivas, apropriadas de polipropileno padrão (48,7 x 33,1 x 21,4 cm), transparentes, agrupados em quatro animais por gaiola, sob condições ambientais controladas (ruídos, ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura na faixa de 22-27°C, ambiente higienizado), recebendo ração balanceada e água filtrada a vontade. Todos os animais foram submetidos a ambientação com o local e com a pesquisadora responsável pelos procedimentos, diariamente, por período de 10 dias consecutivos previamente ao procedimento cirúrgico. Ainda, os animais foram observados diariamente pelo pesquisador responsável e por um profissional médico veterinário.

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram pesados e distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais (n = 10):

- Grupo laser placebo (LP): foi realizado o tratamento com laser subdérmico com o equipamento desligado;
- Grupo laser ativo (LA): foi realizado o tratamento com laser subdérmico.

4.4 MODELO EXPERIMENTAL DE TRATAMENTO COM LASER DE DIODO DE ALTA POTÊNCIA SUBDÉRMICO

O tratamento foi realizado de acordo com os princípios éticos de instrumentação animal, sob condições padrão de assepsia e anestesia geral. Antes do início do procedimento, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de ketamina (80 mg/kg), xilazina (8mg/kg), acepromazina (1 mg/kg) e fentanil (0,05 mg/kg) com doses de acordo com o peso corporal do animal. Após a indução anestésica, os animais foram posicionados em uma superfície plana com a extensão dos quatro membros e foi realizada a tricotomia digital no dorso dos mesmos.

Na sequência, foi utilizado o aparelho portátil de laser diodo de alta potência (neoLaser, marca G.N.S[®], Israel, distribuído no Brasil pela Fismatek, São Paulo) no comprimento de onda de 1470 nm; potência de 2 W, área do feixe de 240 µm, divergência do feixe em rad de 0,227, modo contínuo.

Após a seleção dos parâmetros, a pele do dorso do animal foi perfurada com uma agulha 21 G x 1 ¼" para permitir a entrada da fibra óptica. Em seguida, foram realizados percursos em forma de leque em 5 vetores subdérmicos na região do dorso do animal em uma área correspondente a 24 cm² (Figura 1). Durante a operação, uma fibra óptica de 400 µm foi tracionada manualmente e continuamente no sentido caudal até a extremidade distal da área de tratamento demarcada depositando energia acumulada de 200 J, pela técnica de vetores em apenas 1 sessão. Cada passagem ocorreu a uma velocidade e potência predefinidas com base em uma estimativa de aquecimento local de aproximadamente 50 a 60°C (temperatura de coagulação) na frente da ponta da fibra.

Ao término do procedimento os animais receberam analgésico cloridrato de tramadol subcutâneo (12,5 mg/Kg) por via oral (20mg/Kg). Após passado este período os animais foram avaliados 2 vezes ao dia e medicados somente aqueles que apresentavam sinais de dor. As avaliações periódicas foram realizadas segundo identificação de dor por expressão facial e comportamento.

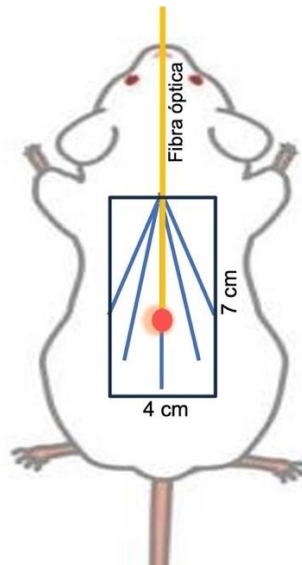


Figura 1 - Esquema representativo do modelo experimental de tratamento.

Após o tratamento foi realizada a antisepsia com auxílio de gaze estéril, iodo degermante 2%, seguido de álcool 70% (passado por três vezes) na área de tratamento.

Os animais foram mantidos por algumas horas em ambiente aquecido com a finalidade de se evitar hipotermia. Por fim, os animais foram alocados em caixas individuais com livre acesso à água e ração e foram monitorados pela pesquisadora responsável pelo projeto até o retorno completo da anestesia, sendo constantemente avaliados os parâmetros de dor. Logo após a recuperação completa da anestesia, os animais foram realocados nas caixas de origem, com um número de 4 animais por caixa e com livre acesso à água e ração até o momento da eutanásia. Para facilitar a alimentação dos animais, nas primeiras 24 horas pós-cirurgia, foi mantida no interior das caixas, ração umedecida sob material (papel toalha) isolado da serragem.

4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS E EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Ao término do período experimental, 15 dias após o tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia com meio de overdose de anestésico (injeção intraperitonal de ketamina 240 mg/Kg e xilazina 24 mg/Kg). Para constatar a morte do mesmo, foi realizado a verificação do batimento cardíaco, frequência respiratória e reflexos que, devem estar ausentes no animal. Em seguida, a pele foi retirada e armazenada.

Todo material coletado foi devidamente identificado e armazenado para processamento e utilização em análises posteriores. Cabe destacar que após a eutanásia, as carcaças dos animais foram descartadas em sacos brancos identificados com o símbolo de risco biológico e foram acondicionadas em freezer (- 20° C) e logo após destinadas a incineração por uma empresa responsável pela coletado material.

4.6 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após a coleta, as peças permaneceram em soluções de formaldeído a 10% para a fixação (por 24 horas) e, posteriormente lavadas em água corrente (por 24 horas). Na sequência as amostras passaram por desidratação em solução crescente de álcool etílico a 70%, 90% e 100%, diafanização em solução de álcool/xilol (1:1), 2 banhos de xilol puro. Após essa etapa, o material foi processado para a inclusão em parafina e posteriormente foram emblocados através de um micrótomo (Leica RM – 2145, Germany), sendo obtidas lâminas histológicas (cortes seriados) com 5 µm de espessura. Os cortes foram realizados em plano coronal à superfície da pele. As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (H.E.) para realizações das análises histológica descritiva e análise de vasos sanguíneos.

Além disso, foram confeccionadas lâminas para as análises imunoistoquímicas (qualitativa e semiquantitativa) para a expressão de TGF-β e VEGF. Todas as análises foram realizadas de maneira cega, por dois pesquisadores treinados (LA e SG).

4.7 ANÁLISES

4.7.1 Avaliações macroscópicas da evolução da pele

A análise macroscópica da área de tratamento foi realizada diariamente com objetivo de investigação em relação às seguintes ocorrências: coloração, inflamação local, queimadura, necrose, fibrose e dor. Essas variáveis foram classificadas como presente ou ausente.

4.7.2 Análise histológica descritiva

A análise qualitativa da pele foi feita por meio de lâminas coradas com H.E., sendo uma lâmina por animal. Foram analisados em três campos distintos com aumento de 200 X. Para tal análise, foi utilizado um microscópio de luz microscópio invertido Axio Observer.D1 Zeiss® e foram observadas alterações morfológicas das camadas da pele.

4.7.3 Espessura da derme

Para a avaliação da espessura da derme, foi utilizado as lâminas coradas com HE. Para a avaliação medidas histomorfométricas (em μm) foi utilizado programa Axio Visio instalado junto ao microscópio invertido Axio Observer.D1 Zeiss®. Foi utilizada uma fotomicrografia por animal na qual foram feitas três medidas da derme da pele. Com essas medidas foi realizada a média aritmética para obtenção do valor a ser utilizado na análise estatística (Baptista *et al.*, 2019).

4.7.4 Análise do número de vasos sanguíneo

Para análise do número dos vasos sanguíneos utilizou-se as lâminas coradas com HE e foram capturas 10 imagens em um aumento de 400 x em microscópio de luz (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). As imagens foram analisadas por dois avaliadores independentes, através do *software Image J*, sendo considerado para a contagem dos vasos presentes integralmente na imagem. Para a análise estatística considerou-se a média aritmética de cada lâmina (Castro *et al.*, 2018).

4.7.5 Avaliação de imunoistoquímica

A análise de imunoistoquímica foi realizada com objetivo de avaliar a expressão proteica de TGF- β e VEGF. Dessa forma, lâminas com cortes de 5 μm foram utilizadas, desparafinizadas e hidratadas. Em seguida, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena, em que os mesmos foram incubados em solução a 30% de peróxido de hidrogênio. Após este período, foram utilizados anticorpos primários de de TGF- β e VEGF, por 60 min, diluição 1:200 (*polyclonal rabbit anti-rat, Sta Cruz biotechnology, California, USA*).

Após lavagem em PBS, o anticorpo secundário na diluição 1:50 por 30 minutos foi utilizado. Em seguida, os cortes foram novamente lavados em PBS e corados com diaminobenzidine (DAB) por 30 min e, em seguida, coradas com Hematoxilina de Harris. Por fim, foi realizado a coloração por hematoxilina e montagem das lâminas. Para o controle negativo os anticorpos primários foram omitidos. Uma vez realizada a marcação, foi avaliados 3 campos de cada corte, em aumento de 200X, por meio de microscopia de luz (Axiolab Zeiss). As lâminas foram pontuadas em uma escala de 1 a 4 (1 = ausente, 2 = fraco, 3 = moderada e 4 = intensa) para a análise imunohistoquímica. Todas as lâminas foram avaliadas por 2 observadores cegos.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de técnicas descritivas, na forma de médias e desvios-padrão. O teste de normalidade de *Shapiro-Wilk's* foi utilizado para todas as variáveis. Para a comparação das avaliações iniciais e finais do tratamento, utilizou-se o teste T de *Wilcoxon* em todas as variáveis analisadas. Para a comparação entre os grupos foi utilizado o teste não paramétrico de *Mann-Whitney* para todas as variáveis. As análises foram realizadas no *software GraphPad Prism*, versão 6.01. Para as conclusões das análises estatísticas foi utilizado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MASCROSCÓPICA

Durante a avaliação macroscópica foi observado um eritema local que foi mais evidente no grupo LA que persistiu durante o primeiro dia de tratamento, ausência de sinais clínicos da inflamação, ausência de necrose, fibrose e dor. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos avaliados.

5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

Na epiderme não foi observado alterações em ambos os grupos avaliados. Da mesma forma, em ambos os grupos, a derme papilar, apresentou-se ainda com predominância de fibras colágenas compatíveis a região. Na derme reticular, o arranjo das bandas de fibras colágenas características da referida camada, mostrou-se mais organizado quando comparado ao LP. Além disso, o tecido conjuntivo adjacente à camada muscular do grupo LA apresentou ainda fibras colágenas maior volume e com melhora do arranjo elástico-colágeno em relação aos LP.

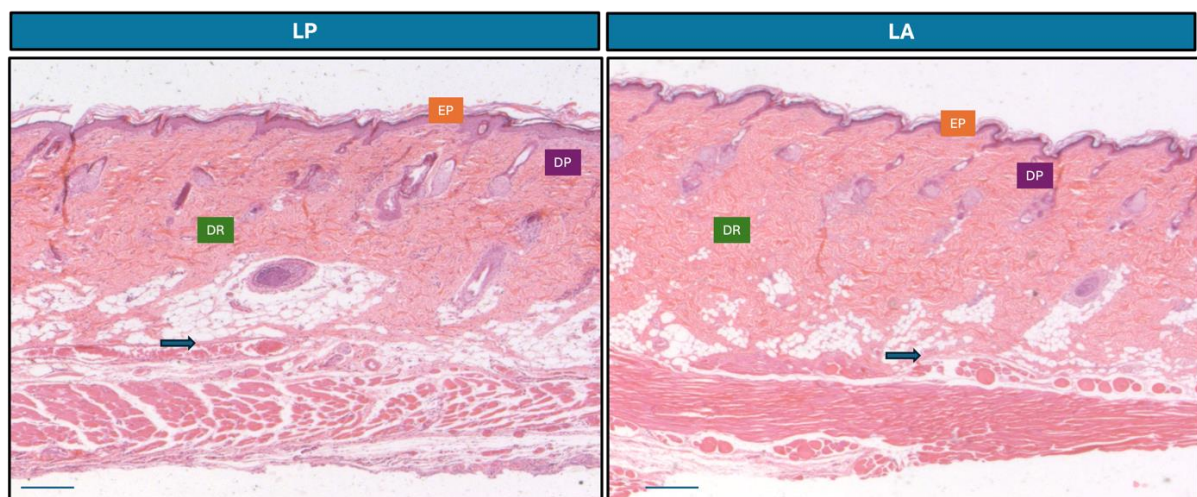


Figura 2 - Fotomicrografias representativas da análise histopatológica da pele
Legenda: Grupo laser placebo (LP); Grupo laser ativo (LA). EP = epiderme; DP= derme papilar; DR = derme reticular; seta = arranjo elástico-colágeno. Barra 500 µm

5.3 ANÁLISE DA ESPESSURA DA DERME

As avaliações referentes a análise da espessura da derme estão demonstradas na figura 3. Entre os grupos mostrou que houve um aumento da espessura da derme no LA quando comparado com LP (* $p = 0,007$).

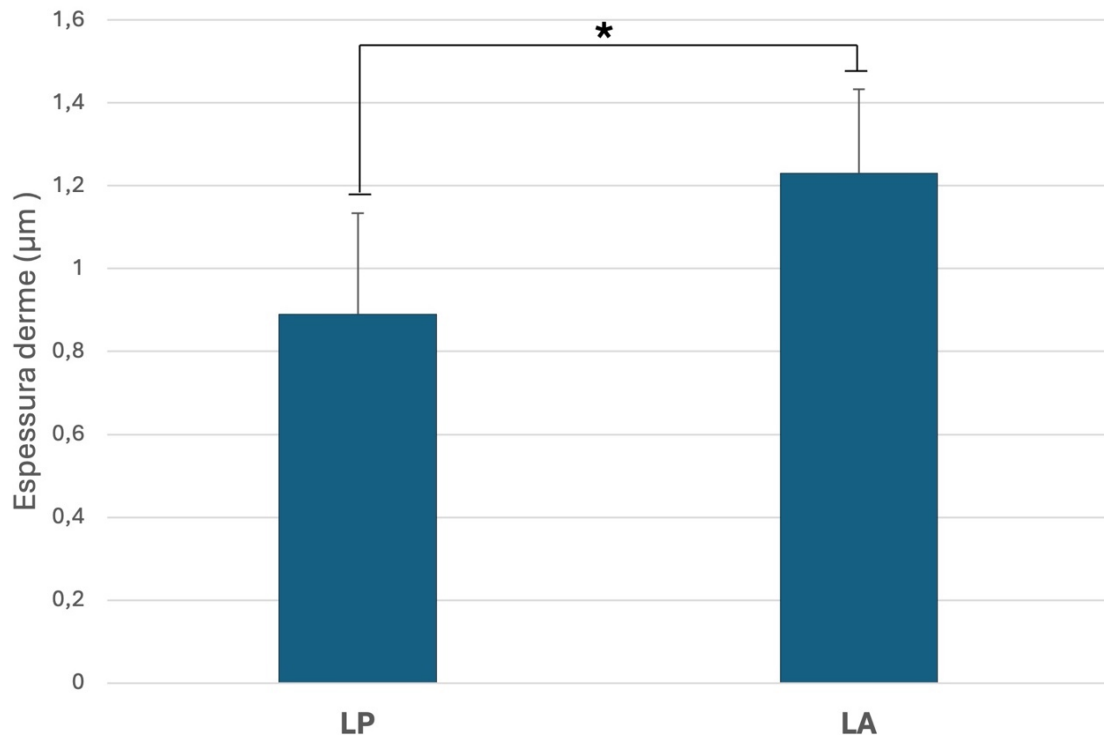


Figura 3 - Avaliações referentes a análise da espessura da derme
Legenda: Grupo laser placebo (LP); Grupo laser ativo (LA) (teste *T de Wilcoxon*).

5.4 ANÁLISE DO NÚMERO DE VASOS SANGUÍNEOS

Os valores obtidos na análise de número de vasos sanguíneos podem ser observados na figura 4. Foi possível observar um aumento no número de vasos no grupo LA quando comparado ao LP (* $p = 0,003$).

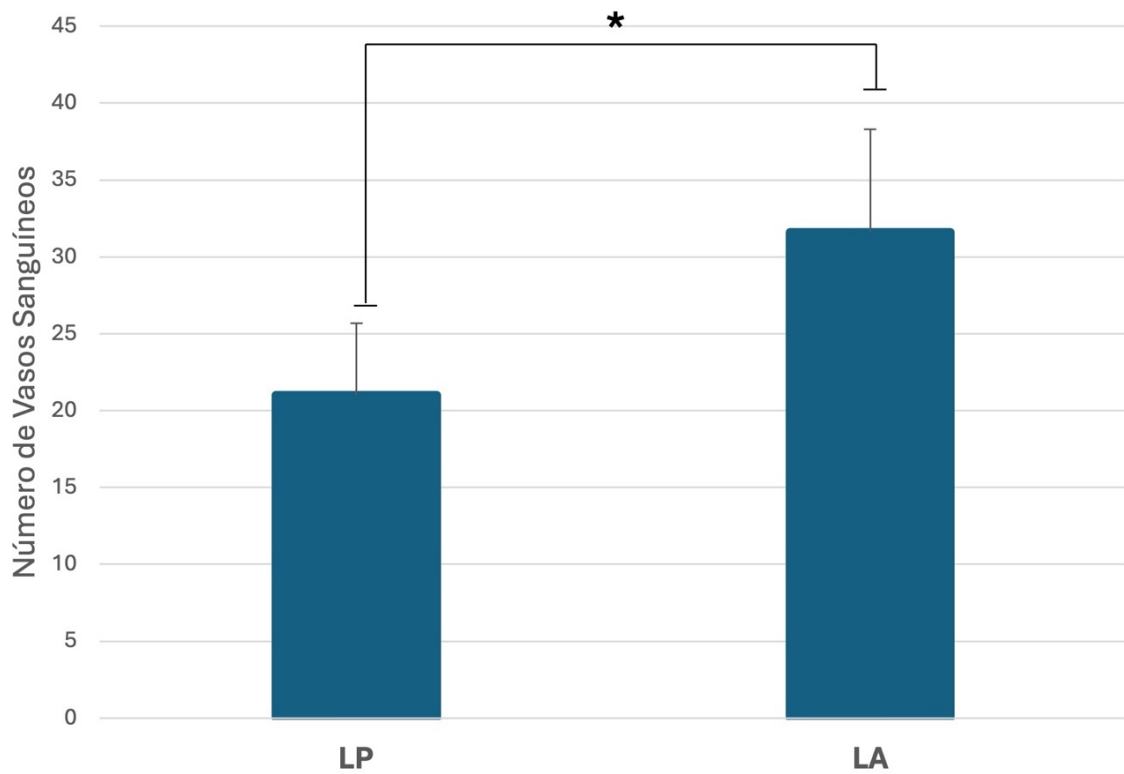


Figura 4 - Análise de número de vasos sanguíneos
Legenda: Grupo laser placebo (LP); Grupo laser ativo (LA) (teste *T* de Wilcoxon).

5.5 ANÁLISE DE TGF- β

A imunexpressão de TGF- β foi observada principalmente nos fibroblastos e em ambos os grupos experimentais (Figura 5A). A análise semi-quantitativa demonstrou um aumento significativo da imunomarcção de TGF- β no grupo LA ($p = 0,017$) quando comparados ao grupo LP (Figura 5B).

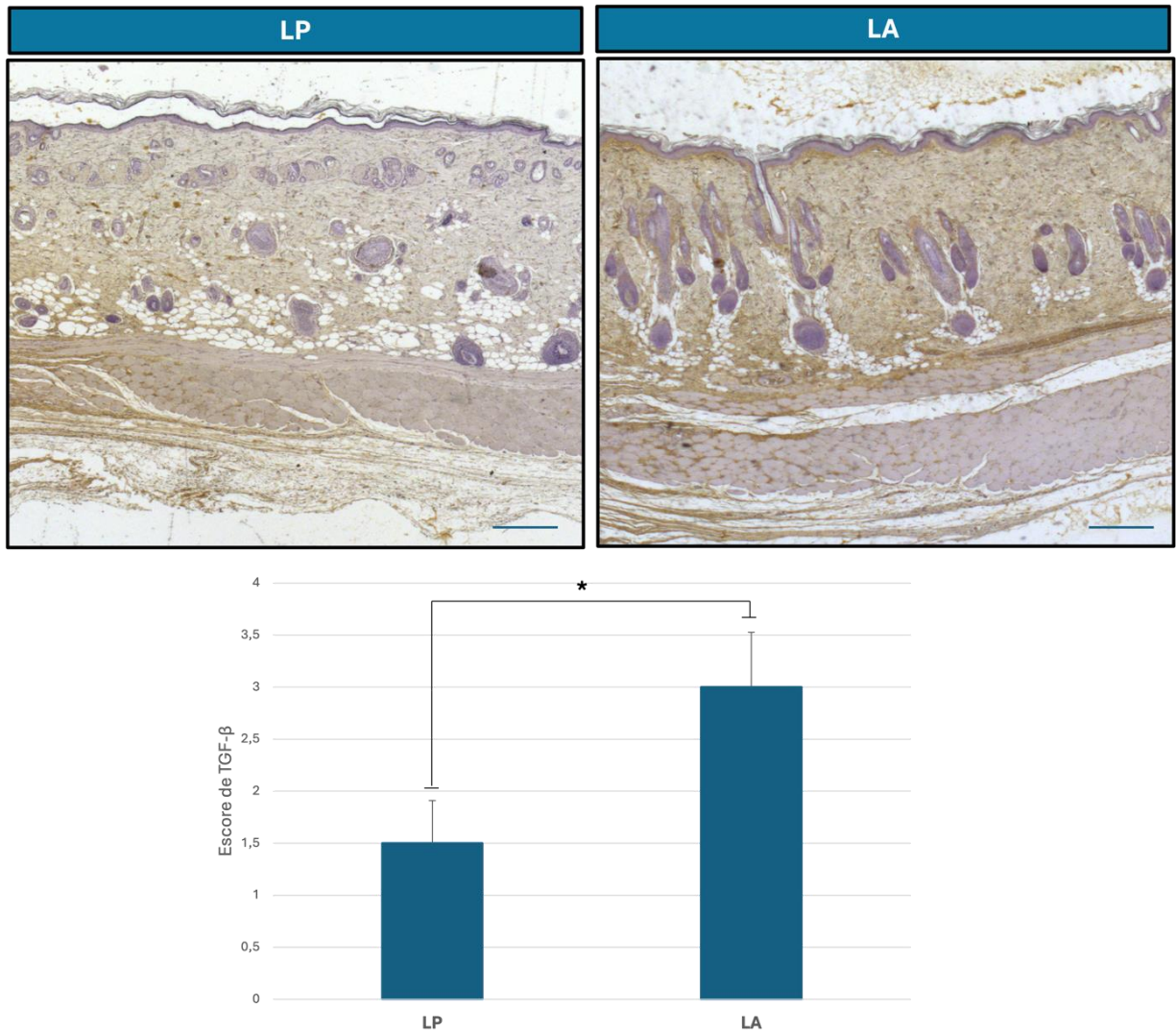


Figura 5 - Fotomicrografias representativas da análise imunoistoquímica do marcador TGF- β

Legenda: A) Imagem representativa da pele dos diferentes grupos experimentais avaliados para TGF- β . Barra de escala 500 μ m. Grupo laser placebo (LP); Grupo laser ativo (LA). B) Gráfico da análise semiquantitativa da imunoistoquímica do TGF- β . (teste *T de Wilcoxon*).

5.6 ANÁLISE DE VEGF

A expressão de VEGF pode ser detectada nos fibroblastos e células endoteliais em todos os grupos experimentais (Figura 6A). Um aumento da imunoexpressão de VEGF foi observado em LA quando comparado ao LP ($p = 0,0189$; Figura 6 B).

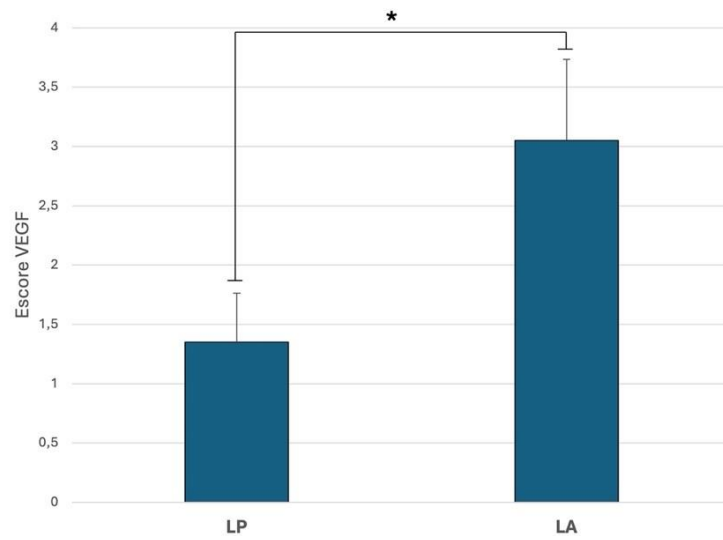
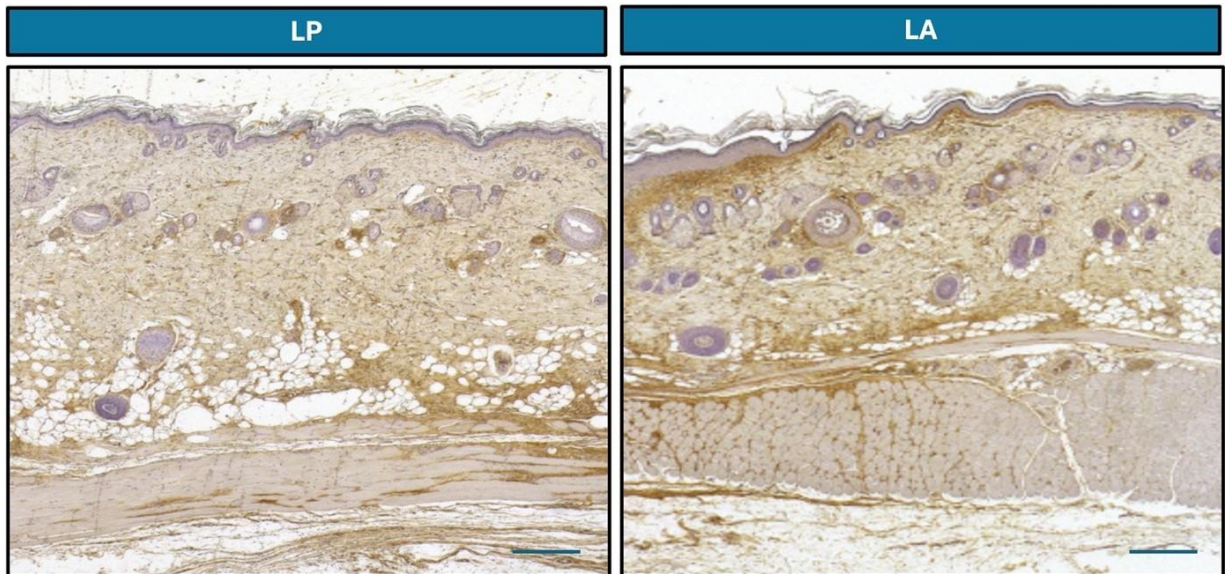


Figura 6 - Fotomicrografias representativas da análise imunoistoquímica do marcador VEGF

Legenda: A) Imagem representativa da pele dos diferentes grupos experimentais avaliados para TGF. Barra de escala 500 μm . Grupo laser placebo (LP); Grupo laser ativo (LA). B) Gráfico da análise semiquantitativa da imunoistoquímica do VEGF. Barra 500 μm

6 DISCUSSÃO

O estudo atual avaliou os efeitos fototérmicos do laser subdérmico (1470 nm) na pele de ratos. Os resultados mostram que nos animais que receberam o laser ativo mostraram melhor arranjo das bandas das fibras de colágeno na derme reticular, aumento da espessura da derme e do número de vasos. Além disso, a imunoe expressão de TGF e VEGF foi maior no grupo tratado com laser ativo.

O aumento crescente na busca por procedimentos estéticos que visam a obtenção do rejuvenescimento da pele impacta significativamente na importância do desenvolvimento de estratégias terapêuticas menor invasividade e que promovam mudanças na aparência da pele (Zouboulis *et al.*, 2019; Benar *et al.*, 2024). Diversas opções de tratamento para o rejuvenescimento da pele têm sido utilizadas na prática clínica, incluindo o laser subdérmico (Bener *et al.*, 2024; Nilforoushzadeh *et al.*, 2023). A literatura reporta que o laser subdérmico é capaz de tratar lesões de provocar a coagulação, de acordo com os princípios fototermólise seletiva, que ocasiona aumento da produção de colágeno e MEC na pele (Li *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2019).

Como descrito anteriormente maioria dos estudos que avaliaram os efeitos do laser subdérmico no tratamento do envelhecimento da pele facial mostraram resultados encorajadores e que a terapia promove efeitos adversos mínimos ou não significativos (Nilforoushzadeh *et al.*, 2024; Nilforoushzadeh *et al.*, 2023; Nilforoushzadeh *et al.*, 2022d; Benar *et al.*, 2024). No entanto, até o momento, a qualidade geral das evidências observadas ainda é baixa, as análises muitas vezes são subjetivas e os mecanismos de ação referente ao tratamento ainda são incertos.

Não foi possível encontrar na literatura atual, estudos experimentais com controle placebo que utilizaram o laser subdérmico na pele em modelo animal, em especial para avaliar os aspectos histopatológicas e da imunoe expressão de fatores de crescimento que influenciam a diferenciação, a proliferação a síntese de células envolvidas no processo de remodelamento da pele. Portanto, esse estudo avaliou histopatologicamente a pele no período experimental de 15 dias após uma única sessão de laser subdérmico, usando um protocolo de tratamento frequentemente utilizado na prática clínica brasileira. O modelo animal utilizado permitiu a realização de biópsias e estudos histológicos sem o problema ético dos possíveis efeitos adversos em relação aos humanos.

De acordo com Csekes *et al.*, (2021), os sinais clínicos que mais incomodam o paciente durante o processo de envelhecimento são a flacidez e o aparecimento das rugas. Dessa forma, atenuar esses sinais continua sendo uma necessidade primária em tratamentos dermatológicos estéticos (Zouboulis *et al.*, 2019). Está bem-conceituado que as manifestações clínicas da pele observadas no envelhecimento possuem relação direta com a presença de um processo inflamatório crônico de baixo grau e à ativação de MMPs, responsáveis por causar danos persistentes nos componentes do tecido conjuntivo da derme, desencadeando o aparecimento de rugas dinâmicas e estáticas (Lee *et al.*, 2021; Pilkington *et al.*, 2021).

Os dados referentes a avaliação histológica e da espessura da derme do estudo mostraram que o laser subdérmico, resultou na otimização do remodelamento da pele após uma única sessão de tratamento. À medida que estas fibras de colagênio são sintetizadas, a base da pele ganha força e o volume é restaurado, o que poderá refletir em uma aparência mais revitalizada da pele (Benar *et al.*, 2024). A síntese gradual de fibras de colágeno observada após o uso do laser subdérmico garante que a transformação pareça gradual e harmoniosa. Resultados semelhantes foram observados nos estudos realizados por Nilforoushzadeh *et al.*, 2023, Nilforoushzadeh *et al.*, 2022c, Nilforoushzadeh *et al.*, 2022 os quais relataram aumento de densidade e espessura da derme, utilizando o laser subdérmico com o mesmo comprimento de onda do presente estudo.

Adicionalmente, o TGF- β é uma citocina multifuncional, envolvida em grande número de atividades celulares durante o processo de reparo da pele, mediando a migração e proliferação de fibroblastos, produção de colágeno e deposição de MEC (Barrientos *et al.*, 2008), foi avaliado no presente estudo. É demonstrado uma redução significativa de diversos fatores de crescimento que exercem influência sobre os fibroblastos, incluindo a expressão de TGF- β durante o processo de envelhecimento da pele (Zhang *et al.*, 2024). No presente estudo, um aumento significativo da expressão de TGF- β foi observado após o tratamento com laser subdérmico. De acordo com o estudo desenvolvido por Souil *et al.*, (2001), o aquecimento térmico local estimula a proteína de choque térmico (HSP) do tipo 72 e regula os fatores de crescimento que participam do processo de reparo (em particular, através da modificação do perfil do TGF- β), aumentando a taxa de proliferação celular e a velocidade de produção de colágeno. Possivelmente, os estímulos fototérmicos induzidos por pelo laser, foi capaz de excitar vias de sinalização intracelular

responsáveis por estimular fatores de transcrição e proteínas que mediam processos de diferenciação, proliferação e síntese de células dérmicas, intensificando o remodelamento da pele.

Além disso, é conhecido que a formação de novos vasos sanguíneos associado a uma adequada perfusão sanguínea são atributos essenciais para o sucesso dos tratamentos de rejuvenescimento da pele (Bonham *et al.*, 2020).

A família de fatores de crescimento endotelial vascular, VEGF, estão diretamente envolvidos no processo de neovascularização, ou seja, proliferação de células endoteliais e na formação de lúmen vascular (Melincovici *et al.*, 2018). A imunoposição de VEGF é significativamente reduzida em peles de indivíduos mais velhos em comparação os indivíduos mais jovens e saudáveis (Loh *et al.*, 2009). Muitos estudos têm demonstrado os efeitos positivos da estimulação de novos vasos sanguíneos no tratamento de rugas faciais (Bonham *et al.*, 2020; Barrientos *et al.*, 2008).

Assim, o aumento da expressão do VEGF após o tratamento com laser subdérmico associado ao aumento da densidade de vasos sanguíneos mostra que a terapia estimulou a proliferação e migração de células endoteliais, induzindo a formação de novos vasos sanguíneos que podem contribuir para a otimização do rejuvenescimento da pele.

O presente estudo mostra que o laser de alta potência subdérmico, nos parâmetros utilizados no presente estudo, pode ser uma modalidade de tratamento promissora na obtenção do rejuvenescimento da pele, baseado em análises imunohistopatológica. Certamente este método, embora muito válido nos resultados apresentados, não pretende substituir uma cirurgia clássica de *lifting* facial em casos de grau muito avançado de envelhecimento, não induzindo falsas expectativas ao paciente. Entretanto, é uma terapia minimamente invasiva eficaz no remodelamento da pele que pode ajudar, como uma ferramenta adicional poderosa, no arsenal dermatológico e estético.

É importante destacar que o período de acompanhamento do estudo abrange 15 dias após uma única sessão de tratamento. Embora os resultados sejam promissores a curto prazo, um acompanhamento a longo prazo forneceria informações valiosas sobre a sustentabilidade e a longevidade dos efeitos observados. Além disso, para confirmar os resultados encontrados no presente

estudo, são necessárias investigações adicionais sobre a eficácia e segurança da técnica através de ensaios clínicos controlados e randomizados.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, o laser de alta potência subdérmico no $\lambda 1470$ nm exerceu efeitos positivos no remodelamento da pele, visto que foi capaz de aumentar a vascularização e a expressão de fatores que potencializam o rejuvenescimento da pele. Conseqüentemente, os dados apresentados evidenciam o potencial do uso da terapia para otimizar o rejuvenescimento da pele. Este tipo de evidência experimental é necessário para o desenho de ensaios clínicos com intuito de elucidar os benefícios e limitações da técnica no cenário clínico.

REFERÊNCIAS

- ARCHER K. A., CARNIOL P. Diode Laser and Fractional Laser Innovations. *Facial Plast. Surg.* 2019 Jun;35(3):248-255. doi: 10.1055/s-0039-1688846. Epub 2019 Jun 12. PMID: 3118919
- ARDA, O. GOKSUGUR, N. TUZUN, Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clin. Dermatol.* 2014 Jan-Feb;32(1):3-13. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.05.021. PMID: 24314373. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24314373/>. Acesso em: 2 maio 2024.
- AUTIO, P., RISTELI, J., HAUKIPURO, K., RISTELI, L., & OIKARINEN, A.. Collagen synthesis in human skin in vivo: modulation by aging, ultraviolet B irradiation and localization. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 1994 Oct;10(5):212-6. PMID: 7880761. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7880761/> Acesso em: 2 maio 2024.
- BARRIENTOS S., STOJADINOVIC O., GOLINKO M. S., BREM H., TOMIC-CANIC M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008 Sep-Oct;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x. PMID: 19128254.
- BAPTISTA V. I. A., QUINTANA H. T., LAZZARIN M. C., BENFATO I. D., DE CARVALHO F. P., LE SUEUR-MALUF L., DE OLIVEIRA C. A. M., BAPTISTA J. D. S., DE OLIVEIRA F. Short time insulin treatment post burn improves elastic-collagen rearrangement and reepithelization. *Connect Tissue Res.* 2019 May;60(3):230-239. doi: 10.1080/03008207.2018.1484916. Epub 2018 Jul 11. PMID: 29929404.
- BENAR H, BENAR EB. A new nonsurgical combination approach for skin tightening and remodeling; Endoskin-A comparative study. *Journal Cosmet Dermatol.* 2024 Mar 27. doi: 10.1111/jocd.16306. Epub ahead of print. PMID: 38544427.
- BONHAM C. A., KUEHLMANN B., GURTNER G. C. Impaired Neovascularization in Aging. *Adv. Wound Care* (New Rochelle). 2020 Mar 1;9(3):111-126. doi: 10.1089/wound.2018.0912. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31993253; PMCID: PMC6985771.
- CASTRO T. N. S., MARTIGNAGO C. C. S., ASSIS L., DE ALEXANDRIA F. E. D., ROCHA J. C. T., PARIZOTTO N. A., TIM C. R. Effects of photobiomodulation therapy in the integration of skin graft in rats. *Lasers Med. Sci.* 2020 Jun;35(4):939-947. doi: 10.1007/s10103-019-02909-y. Epub 2019 Dec 12. PMID: 31833005
- CHANG, S. R.; YANG, C. F.; CHEN, K. H. Relationships between body image, sexual dysfunction, and health-related quality of life among middle-aged women: A cross-sectional study. *Maturitas.* 2019 Aug;126:45-50. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.218. Epub 2019 Apr 23. PMID: 31239117. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31239117/> Acesso em: 2 maio 2024.

CSEKES E., RAČKOVÁ L. Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols. **Int. Journal Mol. Sci.** 2021 Nov 23;22(23):12641. doi: 10.3390/ijms222312641. PMID: 34884444; PMCID: PMC8657738.

DELL'AVANZATO, R. Endolift® the “lunch-time” laser lifting for the lower eyelids. **Laser Therapy.** 29. 2022. Doi:10.4081/ltj.2022.307.

FORE J. A review of skin and the effects of aging on skin structure and function. **Ostomy Wound Manage.** 2006 Sep;52(9):24-35; quiz 36-7. PMID: 16980727.

GAYEN T. K., KATZ A., SAVAGE H. E., MCCORMICK S. A., AL-RUBAIEE M., BUDANSKY Y., LEE J., ALFANO R. R.. Aorta and skin tissues welded by near-infrared Cr4+:YAG laser. **J Clin Laser Med Surg.** 2003 Oct;21(5):259-69. doi: 10.1089/104454703322564460. PMID: 14651793.

HAMILTON M, CAMPBELL A, HOLCOMB JD. Contemporary Laser and Light-Based Rejuvenation Techniques. **Facial Plast. Surg. Clin. North Am.** 2018 May;26(2):113-121. doi: 10.1016/j.fsc.2017.12.002. PMID: 29636145.7.

HAVEL M, BETZ CS, LEUNIG A, SROKA R. Diode laser-induced tissue effects: in vitro tissue model study and in vivo evaluation of wound healing following non-contact application. **Lasers Surg. Med.** 2014 Aug;46(6):449-55. doi: 10.1002/lsm.22256. Epub 2014 May 16. PMID: 24839034.

KHAVKIN, J.; ELLIS, D. A. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plast. Surg. Clin. North Am.** 2011 May;19(2):229-34. doi: 10.1016/j.fsc.2011.04.003. PMID: 21763983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763983/>. Acesso em: 14 ago. 2022.

KIM S. LncRNA-miRNA-mRNA regulatory networks in skin aging and therapeutic potentials. **Front. Physiol.** 2023 Oct 10;14:1303151. doi: 10.3389/fphys.2023.1303151. PMID: 37881693; PMCID: PMC10597623.

KRUTMANN, J., SCHIKOWSKI, T., MORITA, A., & BERNEBURG, M. Environmentally-Induced (Extrinsic) Skin Aging: Exposomal Factors and Underlying Mechanisms. **Journal Invest Dermatol.** 2021 Apr;141(4S):1096-1103. doi: 10.1016/j.jid.2020.12.011. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33541724. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33541724/>. Acesso em: 2 maio 2024.

LANDAU, M., ANAND, C. V., BESINS, T., CHAO, Y. Y. Y., FABI, S. G., GOUT, U., KERSCHER, M., PAVICIC, T., PENG, P. H. L., RZANY, B., SATTTLER, G., TIRYAKI, T., WALDORF, H. A., & BRAZ, A. First Consensus on Primary Prevention and Early Intervention in Aesthetic Medicine. **Journal Drugs. Dermatol.** 2017 Sep 1;16(9):846-854. PMID: 28915279. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28915279/>. Acesso em: 2 maio 2024.

LECLÈRE F. M., ALCOLEA J. M., VOGT P., MORENO-MORAGA J., MORDON S., CASOLI V., TRELLES M. A. Laser-assisted lipolysis for arm contouring in Teimourian grades I and II: a prospective study of 45 patients. **Lasers Med. Sci.** 2015

Apr;30(3):1053-9. doi: 10.1007/s10103-014-1705-2. Epub 2015 Jan 18. PMID: 25596934.

LEE, Y. I. CHOI S., ROH W. S., LEE J. H., KIM T. G. Cellular Senescence and Inflammaging in the Skin Microenvironment. **Int. Journal Mol Sci.** 2021 Apr 8;22(8):3849. doi: 10.3390/ijms22083849. PMID: 33917737; PMCID: PMC8068194. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33917737/> Acesso em: 2 maio 2024.

LEVI J. R., VEERAPPAN A., CHEN B., MIRKOV M., SIERRA R., SPIEGEL JH. Histologic evaluation of laser lipolysis comparing continuous wave vs pulsed lasers in an in vivo pig model. **Arch. Facial Plast. Surg.** 2011 Jan-Feb;13(1):41-50. doi: 10.1001/archfacial.2010.103. PMID: 21242431.

LI K., NICOLI F., CUI C., XI WJ, AL-MOUSAWI A., ZHANG Z., BALZANI A., NEILL L., SORGE R., TONG Y., ZHANG Y. Treatment of hypertrophic scars and keloids using an intralesional 1470 nm bare-fibre diode laser: a novel efficient minimally-invasive technique. **Sci Rep.** 2020 Dec 10;10(1):21694. doi: 10.1038/s41598-020-78738-9. PMID: 33303965; PMCID: PMC7728807.

LI K., NICOLI F., XI WJ., ZHANG Z., CUI C., AL-MOUSAWI A., BALZANI A., TONG Y., ZHANG Y. The 1470nm diode laser with an intralesional fiber device: a proposed solution for the treatment of inflamed and infected keloids. **Burns Trauma.** 2019 Feb 15;7:5. doi: 10.1186/s41038-019-0143-6. PMID: 30783604; PMCID: PMC6376646.

LOH S. A., CHANG E. I., GALVEZ M. G., THANGARAJAH H., EL-FTESI S., VIAL I. N., LIN D. A., GURTNER G. C. SDF-1 alpha expression during wound healing in the aged is HIF dependent. **Plast Reconstr Surg.** 2009 Feb;123(2 Suppl):65S-75S. doi: 10.1097/PRS.0b013e318191bdf4. PMID: 19182665.

LOTFI E., AHRAMIYANPOUR N., KHOSRAVI S., SALEHI B., GRÖNE D. Endolift laser as new non-surgical technique for nose remodeling. **Journal Cosmet Dermatol.** 2022 Nov;21(11):5704-5708. doi: 10.1111/jocd.15303. Epub 2022 Sep 20. PMID: 35972725.

MANAFI A., ASAADI M., MANAFI N. Facial Skin Necrosis after Facelift Surgery. **World Journal Plast Surg.** 2020 Jan;9(1):106-107. doi: 10.29252/wjps.9.1.106. PMID: 32190603; PMCID: PMC7068184.

MCCULLOUGH J. L., KELLY K. M. Prevention and treatment of skin aging. **Ann N Y Acad Sci.** 2006 May;1067:323-31. doi: 10.1196/annals.1354.044. PMID: 16804006.

MELINCOVICI C. S., BOŞCA A. B., ŞUŞMAN S., MĂRGINEAN M., MIHU C., ISTRATE M., MOLDOVAN I. M., ROMAN A. L., MIHU C. M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. **Rom Journal Morphol. Embryol.** 2018;59(2):455-467. PMID: 30173249.

NILFOROUSHZADEH M. A., FAKHIM T., HEIDARI-KHARAJI M., HANIFNIA A. R., HEJAZI S., TORKAMANIHA E. Efficacy evaluation of Endolift-based Subcision on acne scar treatment. **Journal Cosmet Dermatol.** 2021 Aug;20(8):2579-2582. doi: 10.1111/jocd.13876. Epub 2020 Dec 21. PMID: 33347682.

NILFOROUSHZADEH MA, FAKHIM T, HEIDARI-KHARAJI M, TORKAMANIHA E, NOURI M, ROOHANINASAB M, BEHRANGI E, HANIFNIA A, GOODARZI A. Endolift laser an effective treatment modality for forehead wrinkles and frown line. **Journal Cosmet. Dermatol.** 2022d Jun;21(6):2463-2468. doi: 10.1111/jocd.14884. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35226785.

NILFOROUSHZADEH M. A., HEIDARI-KHARAJI M., BEHRANGI E., LOTFI E., ROOHANINASAB M., NOURI M., NAJAR NOBARI N. Effect of Endolift laser on upper eyelid and eyebrow ptosis treatment. **Journal Cosmet. Dermatol.** 2022a Aug;21(8):3380-3385. doi: 10.1111/jocd.14798. Epub 2022 Feb 1. PMID: 35073449.

NILFOROUSHZADEH M. A., HEIDARI-KHARAJI M., FAKHIM T., HOSSEINI S. T., RAFIEE S., SHAHVERDI M., NAJAR NOBARI N. Efficacy evaluation of endolift laser for treatment of nasolabial folds and marionette lines. **Skin Res Technol.** 2023;29(10):e13480. doi:10.1111/srt.13480

NILFOROUSHZADEH M. A., HEIDARI-KHARAJI M., FAKHIM T., HANIFNIA A., NOURI M., ROOHANINASAB M. Endolift laser for jowl fat reduction: clinical evaluation and biometric measurement. **Lasers Med. Sci.** 2022c Jul;37(5):2397-2401. doi: 10.1007/s10103-021-03494-9. Epub 2022 Jan 27. PMID: 35083532.

NILFOROUSHZADEH M. A., HEIDARI-KHARAJI M., FAKHIM T., NOBARI N. N., TORKAMANIHA E., HANIFNIA A., BEHRANGI E. Endolift laser an effective method for the lower eye bag treatment: a case series study. **Lasers Med. Sci.** 2022b Oct;37(8):3123-3128. doi: 10.1007/s10103-022-03571-7. Epub 2022 May 10. PMID: 35534668.

NILFOROUSHZADEH M. A., HEIDARI-KHARAJI M., NOBARI N. N., TORKAMANIHA E., RAFIEE S., SHAHVERDI M., TEHRANI S, FAKHIM T. Treatment of horizontal neck wrinkles by Endolift laser: Biometric measurement. **Skin Res. Technol.** 2024 Apr;30(4):e13697. doi: 10.1111/srt.13697. PMID: 38634118; PMCID: PMC11024504.

OZTÜRK E., GÜLCÜ B. Laser ablation of fistula tract: a sphincter-preserving method for treating fistula-in-ano. **Dis Colon. Rectum.** 2014 Mar;57(3):360-4. doi: 10.1097/DCR.000000000000067. PMID: 24509460.

PHILANDRIANOS C., BERTRAND B., ANDRAC-MEYER L., MAGALON G., CASANOVA D., KERFANT N., MORDON S. Treatment of keloid scars with a 1210-nm diode laser in an animal model. **Lasers Surg. Med.** 2015 Dec;47(10):798-806. doi: 10.1002/lsm.22428. Epub 2015 Oct 6. PMID: 26437851.

PILKINGYON, S. M., BULFONE-PAUS, S., GRIFFITHS, C. E. M., & WATSON, R. E. B. Inflammation and the Skin. **Journal Invest. Dermatol.** 2021 Apr;141(4S):1087-1095. doi: 10.1016/j.jid.2020.11.006. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33358020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33358020/> Acesso em: 2 maio 2024.

SEITZ M., SROKA R., GRATZKE C., SCHLENKER B., STEINBRECHER V., KHODER W., TILKI D., BACHMANN A., STIEF C., REICH O. The diode laser: a

novel side-firing approach for laser vaporisation of the human prostate--immediate efficacy and 1-year follow-up. **Eur. Urol.** 2007 Dec;52(6):1717-22. doi: 10.1016/j.eururo.2007.06.028. Epub 2007 Jun 26. PMID: 17628326.

SOUIL E., CAPON A., MORDON S., DINH-XUAN A. T., POLLA B. S., BACHELET M. Treatment with 815-nm diode laser induces long-lasting expression of 72-kDa heat shock protein in normal rat skin. **Br. Journal Dermatol.** 2001 Feb;144(2):260-6. doi: 10.1046/j.1365-2133.2001.04010.x. PMID: 11251556.

THULABANDU V., CHEN D., ATIT R. P. Dermal fibroblast in cutaneous development and healing. Wiley Interdiscip **Revista Dev. Biol.** 2018 Mar;7(2):10.1002/wdev.307. doi: 10.1002/wdev.307. Epub 2017 Dec 15. PMID: 29244903; PMCID: PMC5814349.

VEIT J. A., NORDMANN M., DIETZ B., SOMMER F., LINDEMANN J., ROTTER N., GREVE J., VON BOMHARD A., HOFFMANN T. K., RIEPL R., SCHEITHAUER M. O. Three different turbinoplasty techniques combined with septoplasty: Prospective randomized trial. **Laryngoscope.** 2017 Feb;127(2):303-308. doi: 10.1002/lary.26264. Epub 2016 Sep 16. PMID: 27633813.

WANG, Y., WANG, L., WEN, X., HAO, D., ZHANG, N., HE, G., & JIANG, X. NF- κ B signaling in skin aging. **Mech Ageing Dev.** 2019 Dec;184:111160. doi: 10.1016/j.mad.2019.111160. Epub 2019 Oct 18. PMID: 31634486. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31634486/> Acesso em: 2 maio 2024.

ZERWECK C., VON HODENBERG E., KNITTEL M., ZELLER T., SCHWARZ T. Endovenous laser ablation of varicose perforating veins with the 1470-nm diode laser using the radial fibre slim. **Phlebology.** 2014 Feb;29(1):30-6. doi: 10.1258/phleb.2012.012072. Epub 2013 May 6. PMID: 23155134.

ZHANG J., YU H., MAN M. Q., HU L. Aging in the dermis: Fibroblast senescence and its significance. **Ageing Cell.** 2024 Feb;23(2):e14054. doi: 10.1111/accel.14054. Epub 2023 Dec 1. PMID: 38040661; PMCID: PMC10861215.

ZOUBOULIS, C. C., GANCEVICIENE, R., LIAKOU, A. I., THEODORIDIS, A., ELEWA, R., & MAKRANTONAKI, E. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. **Clin. Dermatol.** 2019 Jul-Aug;37(4):365-372. doi: 10.1016/j.clindermatol.2019.04.002. Epub 2019 Apr 26. PMID: 31345325. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31345325/>. Acesso em: 2 maio 2024.

ANEXO I – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Paulinia, 06 de outubro de 2023

CERTIFICADO DE AUTORIZAÇÃO DE USO DE ANIMAIS CEUA ANILAB

Certificamos que a proposta intitulada **Avaliação do laser de diodo de alta potência na produção de colágeno da pele: estudo experimental**, protocolada sob o CEUA nº **01/2023** sob a responsabilidade de **Livia Assis Garcia** e sua equipe composta por Silvana Aparecida Girão de Godoi e Estela Maria Sant Ana Correira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da ANILAB - animais para pesquisa criação e comércio LTDA (CEUA/ANILAB), na reunião de 06/10/2023.

Finalidade da Proposta: **Avaliação do laser de diodo de alta potência na produção de colágeno da pele**

Origem: Anilab Animais para pesquisa criação e comércio Ltda

Espécies/ quantidades: *20 Rattus norvegicus* linhagem wistar, machos, pesando entre 250 e 300g

Data prevista para início: 26/10/2023

Local do estudo: Biotério ANILAB

Devanir Percini, M.V.
Coordenador da CEUA ANILAB
ANILAB

Rubens Aparecido Percini
Dirigente Máximo da instituição