

Tratamento tópico de ácido hialurônico 0,2% associado ao laser em baixa intensidade em queimadura de segundo grau.

Topical treatment of 0.2% hyaluronic acid associated with low intensity laser in second degree burns.

Tratamiento tópico de ácido hialurónico al 0,2% asociado con láser de baja intensidad en quemaduras de segundo grado.

Resumo

Objetivo: Descrever por meio de relato de experiência profissional o uso tópico de ácido Hialurônico 0,2% (Hyaludermín®) associado ao Laser de Baixa Intensidade (LBI) na cicatrização de queimadura de segundo grau. **Método:** Trata-se de relato de experiência profissional por meio de atendimento autônomo por enfermeiras especialistas dermatoterapeutas. Este estudo descreve o protocolo de tratamento aplicado em lesão por queimadura de segundo grau em uma paciente de 64 anos, que sofreu queimadura por escaldadura de panela de pressão. Foi realizado registro fotográfico e a avaliação da ferida observando-se as variáveis de tempo de cicatrização, surgimento de cicatrização inestética e o efeito estético final. **Resultados:** Inicialmente, foi realizado protocolo de tratamento com a com sulfadiazina de prata 1% associado LBI vermelho 1J no leito da lesão e Infravermelho 2J na área adjacente. Como não houve resolução, iniciou-se o tratamento com ácido hialurônico (AH) 0.2% diariamente com manutenção do protocolo de LBI. Após 21 dias de tratamento, observou-se completa cicatrização da lesão. O tratamento tópico com AH 0.2% foi mantido sobre a área reepitelizada. A cicatriz apresentou-se com melhora de hiperpigmentação de cicatrização inestética. **Conclusão:** A aplicação tópica de AH 0,2% em associação com LBI em queimadura trouxe como benefícios a redução do tempo de cicatrização, e o resultado estético final.

Descritores: Ácido hialurônico, queimaduras, cicatrização, Fotobiomodulação.

Abstract

Objective: To describe, through a professional experience report, the topical use of 0.2% Hyaluronic acid (Hyaludermín®) associated with Low Intensity Laser (LLT) in the healing of second-degree burns. **Method:** This is a report of professional experience through autonomous care by specialist dermatotherapist nurses. This study describes the treatment protocol applied to a second-degree burn injury in a 64-year-old patient who suffered a burn from a pressure cooker scald. A photographic record and evaluation of the wound were carried out, observing the variables of healing time, appearance of unsightly healing and the final aesthetic effect. **Results:** Initially, a treatment protocol was performed with 1% silver sulfadiazine associated with 1J red LLT in the wound bed and 2J Infrared in the adjacent area. As there was no resolution, treatment with hyaluronic acid (HA) 0.2% was started daily with maintenance of the LLT protocol. After 21 days of treatment, complete healing of the lesion was observed. Topical treatment with 0.2% HA was maintained over the re-epithelialized area. The scar presented with improvement of hyperpigmentation of unsightly healing. **Conclusion:** Topical application of 0.2% HA in association with LLT in

Joceli Pereira Gardino

Graduada em Enfermagem e Pós-graduanda em enfermagem em dermatologia pela UNIEDUK
ORCID: 0000-0002-2558-2989

Valéria Aparecida Masson

Doutora em enfermagem (2012), mestre em enfermagem (2009) bacharel e licenciada em enfermagem pela Universidade Estadual de Campinas (2005). Atualmente, participa do Grupo de Estudos e Pesquisas em Saúde e Trabalho da Faculdade de Enfermagem da Universidade Estadual de Campinas. Especialista em saúde do trabalhador (2008). Especialista em Enfermagem em Estomatoterapia. (UNICAMP).
ORCID: 0000-0002-5076-635X

Marilene Neves da Silva

Pós-doutorado em Queimaduras. Doutora em Clínica Médica (Dermatologia Clínica e Molecular) pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Mestre em Ciências Biomédicas. Graduada em Enfermagem. Membro da Sociedade Brasileira de Enfermagem em Dermatologia (Sobende). Atualmente desenvolve projeto em parceria com o Departamento de Dermatologia da University of Minnesota (USA).
ORCID: 0000-0002-0885-1083

Gislaine Vieira-Damiani

Possui graduação em Ciências Biológicas Modalidade Médica (Bacharelado e Licenciatura), mestrado (2009) e doutorado (2012) em Fisiopatologia Médica - Universidade Estadual de Campinas (2009). Pós-doutorado em Clínica Médica na Universidade Estadual de Campinas. Estudo da matriz extra celular (colágeno) e Diagnóstico de Bartoneloses humana. Professora do Instituto Federal de São Paulo. ORCID: 0000-0001-8036-6616

Pedro Gonçalves de Oliveira

Graduado em Farmácia e Bioquímica pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas Oswaldo Cruz - FCF-FOC (1992), com Doutorado em Fármaco e Medicamentos pela FCF-USP (2002). ORCID: 0000-0001-9853-0031

João Cezar Castilho

Graduação em Farmácia Industrial, mestrado em Farmacologia pela Universidade Federal do Paraná e especialização em Farmácia Estética. ORCID: 0000-0002-8649-1714

burns brought benefits in reducing healing time and the final aesthetic result.

Descriptors: Hyaluronic Acid, burns, wound healing, Photobiomodulation.

Resumen

Objetivo: Describir, a través de un relato de experiencia profesional, el uso tópico del Ácido Hialurónico al 0,2% (Hyaludermin®) asociado al Láser de Baja Intensidad (TLBI) en la cicatrización de quemaduras de segundo grado. Método: Se trata de un relato de experiencia profesional a través del cuidado autónomo por parte de enfermeras especialistas en dermatoterapia. Este estudio describe el protocolo de tratamiento aplicado a una quemadura de segundo grado en un paciente de 64 años que sufrió una quemadura por escaldadura con olla a presión. Se realizó registro fotográfico y evaluación de la herida, observando las variables tiempo de cicatrización, apariencia de cicatrización antiestética y efecto estético final. Resultados: Inicialmente se realizó un protocolo de tratamiento con sulfadiazina de plata al 1% asociada a LLLT 1J rojo en el lecho de la herida y 2J Infrarrojo en la zona adyacente. Al no haber resolución, se inició tratamiento con ácido hialurónico (AH) al 0,2% diariamente manteniendo el protocolo de TLBI. Después de 21 días de tratamiento se observó la curación completa de la lesión. Se mantuvo tratamiento tópico con AH al 0,2% sobre la zona reepitelizada. La cicatriz presentaba mejoría de hiperpigmentación de cicatrización antiestética. Conclusión: La aplicación tópica de AH al 0,2% en asociación con TLBI en quemaduras trajo beneficios en la reducción del tiempo de cicatrización y el resultado estético final.

Palabras clave: Ácido hialurónico, cicatrización de heridas, quemaduras, Fotobiomodulación.

RECEBIDO: 06/05/2022 | APROVADO: 11/09/2022

INTRODUÇÃO

As queimaduras estão entre as maiores causas de lesão de pele, são muito frequentes no mundo inteiro, ocupando o segundo lugar entre os acidentes que mais ocorrem, estando relacionado a altas taxas de morbidade e mortalidade¹.

Estimativas do Ministério da Saúde do Brasil apontam cerca de um milhão de novos casos de vítimas de queimaduras ao ano, sendo 100 mil atendimentos hospitalares e, destes, cerca de 2.500 óbitos em função das lesões².

Em estudo conduzido no Brasil por Malta et al. (2020) Os casos de queimadura foram mais frequentes: em adultos com idade entre 20 e 39 anos (40,7%); em homens (57%); no domicílio (67,7%); em decorrência do manuseio de substâncias quentes (52%). Acidentes no domicílio foram mais frequentes nas faixas etárias de 0 a 15 anos (92%) e idosos (84,4%) e em mulheres (81,6%)³.

As queimaduras são lesões que em geral apresentam um processo cicatricial complexo, e por isso impõem um doloroso processo de enfrentamento pelos pacientes, bem como para os profissionais

envolvidos na interface do cuidar destas lesões^{4,5}.

As queimaduras levam a inúmeras repercussões orgânicas que vão desde a reação inflamatória sistêmica que altera o metabolismo, até o desenvolvimento de infecções secundárias da área queimada, o que impõem ainda maiores dificuldades ao tratamento. As infecções secundárias podem ser resultantes da perda da barreira cutânea e da imunossupressão resultante da própria queimadura. No caso de pacientes com queimadura de médio e grande porte, as diversas alterações orgânicas ocasionadas interferem e

dificultam o tratamento⁶.

Entre as diversas tecnologias utilizadas no tratamento de feridas, incluindo as lesões de pele causadas por queimaduras, destaca-se o ácido hialurônico (AH), molécula constituída por dissacarídeos, compostas de ácido D-glucurônico e N-acetilglicosamina, unidas por ligações β -glicosídicas, cujos efeitos têm se mostrado benéficos nas lesões tegumentares, já que contribui na formação da matriz extracelular e reparação tecidual, com características essenciais as cobertura de origem biológica, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e nãoimunogênicas⁷⁻¹⁰.

Estudos conduzidos com AH tópico para tratamento de queimaduras demonstraram eficácia quando comparado ao tratamento tópico convencional. Estudo internacional conduzido com 43 pacientes com lesões de pele por diferentes etiologias mostrou que o uso tópico do AH melhorou a evolução e a qualidade estética da cicatriz¹¹. Outro estudo realizado na Europa com 16 pacientes portadores de queimaduras de diversos graus de profundidade e extensão, mostraram que o AH aumentou a velocidade de reepitelização¹². Um relato de caso conduzido no interior de São Paulo com idosa que sofreu queimaduras por escaldadura de panela de pressão mostrou que o AH foi mais efetivo que o tratamento convencional além de melhorar a qualidade estética da cicatriz¹³.

O laser (light amplification by stimulated emission of radiation), ou amplificação da luz por emissão estimulada de radiação é uma terapia adjuvante que vem sendo utilizada na reparação tecidual de feridas agudas, crônicas e outras lesões de pele por diferentes etiologias, tais como a radiodermatite, fissura mamária e outras¹⁴. Essa modalidade de fototerapia vem se mostrando promissora também no tratamento de queimaduras¹⁴⁻¹⁶.

A fotobiomodulação por laser de baixa intensidade (LBI) envolve a aplicação de luz em comprimento de onda específico para estimular os processos celulares. Os efeitos da fototerapia são químicos e as respostas celulares acontecem como resultado de mudanças nas moléculas

ração celular e a síntese de colágeno¹⁴.

O objetivo deste estudo foi descrever por meio de relato de experiência profissional o uso tópico de ácido Hialurônico 0,2% (Hyaluderm®) associado ao Laser de Baixa Intensidade (LBI) na cicatrização de queimadura de segundo grau.

METODOLOGIA

Estudo descritivo exploratório de relato de experiência profissional realizado por meio de atendimento domiciliar autônomo de enfermeiras dermatoterapeutas no interior de São Paulo. O presente estudo descreveu o protocolo de tratamento aplicado em queimadura de segundo grau superficial em uma paciente de 64 anos, que sofreu queimadura por contato com panela de pressão no dia 16 de janeiro de 2022.

Paciente KMCC, mulher, branca, 64 anos, apresentando diabetes mellitus tipo 2 e obesidade. O atendimento foi realizado por enfermeiras especialistas em feridas e estomas. A coleta de dados foi efetuada entre os meses de janeiro e fevereiro de 2022, três vezes por semana por meio da aplicação de instrumento de avaliação da lesão que constava das seguintes variáveis: tipo, localização, conteúdo microbiano, exsudato, bordas, pele adjacente, dor, mensuração e espaço para observações adicionais.

A evolução do tratamento foi mensurada por meio de registros fotográficos da lesão. As fotos foram obtidas a uma distância de 20 centímetros, com máquina digital de 16 megapixels, posteriormente as imagens foram analisadas por meio do software ImageJ®. Neste software o cálculo das áreas é feito pela contagem de pixels das regiões selecionadas pelo usuário ou por um algoritmo específico.

Com relação aos aspectos éticos, a cliente aceitou participar do estudo e foi informada sobre os objetivos e procedimentos envolvidos na pesquisa. O Termo



Estimativas do
Ministério da Saúde
do Brasil apontam
cerca de um milhão de
novos casos de vítimas
de queimaduras
ao ano, sendo 100
mil atendimentos
hospitalares e, destes,
cerca de 2.500 óbitos
em função das lesões



retoreceptoras, os cromóforos. A energia absorvida pelos fotoreceptores estimula o metabolismo celular e pode ser transferida para outras moléculas, causando reações químicas no tecido e atuando como um bioestimulador para o reparo tecidual, aumentando a circulação local, a prolifera-

de Autorização de Uso de Imagem foi assinado pela paciente conforme preconizado pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

KMCC, mulher, 64 anos, obesa, diabética, apresentou-se para atendimento em 18/01/2022 com lesão ocasionada por acidente doméstico (queimadura por contato com panela de pressão) em quadrante inferior lateral da mama esquerda próximo a auréola, ocorrido em 16/01/2022, gerando lesão medindo 5,5cmx 2,5cm. Leito da ferida totalmente recoberto por necrose de liquefação com pontos friáveis e presença de sangramento ativo em pequena quantidade, tecido adjacente com presença de sinais flogísticos, apresentando principalmente eritema e dor local (Figura 1).

Após a primeira avaliação realizada em 21/01/2022, foi iniciado protocolo com limpeza diária com solução salina 0,9% e curativo primário com uso tópico de Sulfatiazina de prata 1% e 2 gotas de soro fisiológico 0,9% para promover meio úmido, com cobertura secundária com gazes e oclusão com fita microporosa. Como tratamento adjuvante foi instituído LBI três vezes por semana no comprimento de onda vermelho (660 nm) 1 joule (J) pontualmente no leito da lesão para acelerar o processo cicatricial e comprimento de onda infravermelho (840 nm) 2 J pontualmente na área adjacente a lesão para modular o processo inflamatório e analgesia local. Este protocolo foi mantido por cinco dias apresentando melhora dos sinais flogísticos e da dor. Entretanto, não houve sucesso no reparo da lesão que mantinha tecido de granulação com pontos de necrose esfacelar.

Após a interrupção do tratamento tópico, foi instituído aplicação diária de fina camada creme à base de AH 0,2%

(Hyaludermin®), a paciente também apresentou reação alérgica a fita microporosa que foi substituído por filme de poliuretano. O protocolo de LBI foi mantido como anteriormente descrito. Os resultados foram registrados em prontuário e por meio de registros fotográficos da lesão. A análise dos efeitos do tratamento foi realizada através de registro fotográfico a uma distância de 20 centímetros, com máquina digital com 14.1 megapixels.

No primeiro dia de tratamento a lesão apresentava leito totalmente preenchido por necrose esfacelar. Após cinco dias de tratamento, observou-se pequena redução do tecido esfacelar e melhora dos sinais flogísticos. Em apenas três dias de uso de creme de AH associado ao LBI foi identificada redução da área da lesão e redução da necrose esfacelar. E após mais nove dias a lesão estava completamente cicatrizada. A cicatriz apresenta-se elástica e com áreas hiperpigmentadas (Figura 1), por isso, optou-se por manter o uso do AH 0,2% para melhora da qualidade estética final por mais 14 dias. O AH não apresentou qualquer efeito colateral local ou sistêmico ou prejuízo a área pericicatrizal, foi de fácil manipulação e remoção, inclusive podendo ser utilizado tanto no leito quanto nas bordas e área adjacente a lesão, o que possibilitou ao próprio paciente realizar a aplicação em domicílio sob orientação da enfermeira.

DISCUSSÃO

O AH 0,2% tem demonstrado inúmeros benefícios no tratamento de feridas por diversas etiologias, atuando inclusive em etapas do processos de cicatrização, podendo ser utilizado na fase inflamatória, de proliferação e maturação, além de acelerar o reparo cicatricial, apresenta benefícios no desbridamento autolítico, na proteção das bordas da lesão e na qualidade e estética cicatricial.⁷⁻¹⁰ O tratamento tópico com AH aumenta a retenção de água, o que favorece a proliferação da células dérmicas, com maior concentração fibras de colágeno e elastina e conseqüentemente acelerando o processo de cicatrização¹⁷. Portanto, os dados levantados na presente pesquisa corroboram com a literatura.

Pesquisas recentes demonstraram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo. Em queimadura após exposição por fertilizante químico o uso contínuo de AH acelerou o processo de cicatrização, em comparação ao uso de ácidos graxos essenciais (AGE)¹⁸. Em outra pesquisa com relato de caso semelhante ao relatado neste artigo, a aplicação de AH em queimadura por escaldadura por panela de pressão reduziu o tempo de cicatrização e apresentou melhora da hiperpigmentação após cicatrização, quando comparado a Sulfatiazina de prata 1%¹³.

Figura 1: Queimadura de segundo grau em mama esquerda



Fonte: Acervo pessoal dos autores, 2022

Em estudo de coorte europeu com 60 pacientes apresentando queimaduras de espessura parcial mostrou que AH reduziu o tamanho da ferida nos cinco primeiros dias de seguimento. Com cicatrização completa em 21 dias de seguimento na maioria nos casos analisados¹⁹.

O AH também se mostrou benéfico na fase de maturação da cicatrização com melhora na qualidade da cicatrização e redução da chance de cicatrização inesférica nas lesões causadas por queimaduras. Pesquisadores demonstraram que o HA tem o potencial de normalizar o queiloide e as características dos fibroblastos, tais como hiperproliferação, produção de fator de crescimento e deposição de matriz extracelular^{20,21}

O presente estudo associou o LBI ao tratamento tópico de AH. A LBI tem sido utilizada no tratamento de lesões cutâneas

e estudos sugerem que seu uso como terapia adjuvante otimiza a qualidade e tempo da reparação tecidual. Destacam essa tecnologia como uma alternativa promissora ao tratamento devido ao baixo custo, fácil manuseio, riscos mínimos de efeitos colaterais e ser um procedimento minimamente invasivo¹⁴⁻¹⁶.

Um estudo de metanálise da literatura sobre a eficácia do LBI na reparação tecidual, mostrou que o efeito geral da terapia na cicatrização de feridas foi significativo tanto em experimentos animais, quanto em estudos clínicos em humanos. Esse estudo destaca como efeitos positivos significativos a aceleração do processo de inflamação, aumento da síntese de colágeno, aumento da resistência tecidual, redução do tempo de cicatrização e diminuição das dimensões da ferida²².

CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que a aplicação tópica de AH 0,2% em associação com LBI em queimaduras contribuiu para acelerar a cicatrização, melhorou a evolução do tratamento e o resultado estético.

Cabe ressaltar que a ação tópica do AH 0,2% acelerou o processo de cicatrização de queimaduras de espessura parcial ou espessura parcial profunda, assim, a possibilidade para a utilização clínica do produto, principalmente em unidades de assistências, em termos de efetividade e segurança. Quando associado ao LBI além da efetividade no reparo tecidual e manejo da dor, o protocolo demonstrou ser um método viável por ser de baixo custo, fácil manuseio, indolor e não apresentar efeitos colaterais

Referências

- Smolle C, Cambiaso-Daniel J, Forbes AA, Wurzer P, Hundeshagen G, Branski LK, et al. Recent Trends in Burn Epidemiology Worldwide: A Systematic Review. *Burns*. 2017; 43(2): 249-57. <http://doi.org/10.1016/j.burns.2016.08.013>.
- Brasil. Ministério da Saúde. Queimados [Internet]. 2017 [acessado em 19 set. 2019]. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/component/content/article/842-queimados/40990-queimados-ces-from-the-patient's-perspective>. *Rev. esc. enferm. USP*. 2007;41(1):21-28.
- Malta, Deborah Carvalho et al. Perfil dos casos de queimadura atendidos em serviços hospitalares de urgência e emergência nas capitais brasileiras em 2017. *Revista Brasileira de Epidemiologia* [online]. 2020, v. 23, n. Suppl 01 [Acessado 30 Julho 2022], e200005.SUPL.1. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-549720200005.supl.1>. Epub 03 Jul 2020. ISSN 1980-5497. <https://doi.org/10.1590/1980-549720200005.supl.1>.
- Carlucci VD, Rossi LA, Ficher AM, Ferreira E, de Carvalho EC. Burn experiences from the patient's perspective. *Rev Esc Enferm USP*. 2007;41(1):21-8.
- Silva MN, Taminato M, Beretta ALRZ. Comparative study of the efficacy of nanocrystalline silver dressing and silver sulfadiazine applied on burns in hospitalized patients. *J Dent Med Sci*. 2014;3(4):63-7. Longinotti C. The use of hyaluronic acid based dressings to treat burns: A review. Carlucci VD, Rossi LA, Ficher AM, Ferreira E, de Carvalho EC. Burn experiences from the patient's perspective. *Rev Esc Enferm USP*. 2007;41(1):21-8.
- Peters DA, Verchere C. Healing at Home: Comparing cohorts of children with medium-sized burns treated as outpatients with in-hospital applied Acticoat to those children treated as inpatients with silver sulfadiazine. *J Burn Care Res*. 2006;27(2):198-201.
- Heden P, et al. Body shaping and volume restoration: the role of hyaluronic acid. *Aesthetic Plast Surg*. 2009; 33(3): 274-82.
- Viana GA, et al. [Treatment of tear trough deformity with hyaluronic acid gel filler]. *Arq Bras Oftalmol*. 2011; 74(1): 44-7.
- Medeiros ADC, Ramos AMO, Dantas Filho AM, Azevedo RCF, Araújo FLFB. Topical treatment of rat burns with hyaluronic acid. *Acta Cir. Bras*. 1999; 14(4).
- Voinchet V, Vasseur P, Kern J. Efficacy and safety of hyaluronic acid in the management of acute wounds. *Am J Clin Dermatol*. 2006; 7(6): 353-7.
- Frenkel JS. The role of hyaluronan in wound healing. *Int Wound J*. 2014; 11(2): 159-63.
- Liang J, Jiang D, Noble P. W. Hyaluronan as a therapeutic target in human diseases. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016; 97: 186-203.
- Silva MN, Damiani GV, Masson VA, Calil SR, Volpato V, Gonçalves N, et al. Efeitos do tratamento tópico com ácido hialurônico 0,2% em queimadura de segundo grau: um relato de experiência. *Rev Bras Queimaduras* 2017; 16(1):49-52
- Tchanque-Fossuo CN, Ho D, Dahle SE, Koo E, Li C, Isseroff RR, Jagdeo J. A systematic review of low-level light therapy for treatment of diabetic foot ulcer. *Wound Rep and Reg*. 2016; 24: 418-426. doi:10.1111/wrr.12399
- Mathur RK, Sahu, K, Saraf S. et al. Low-level laser therapy as an adjunct to conventional therapy in the treatment of diabetic foot ulcers. *Lasers Med Sci*. 2017; 32: 275. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-2109-2>
- Houreld NN. Shedding Light on a New Treatment for Diabetic Wound Healing: A Review on Phototherapy. *The Scientific World Journal*. 2014 Jan 6. doi: 10.1155/2014/398412
- Anilkumar TV, Muhamed J, Jose A, Jyothi A, Mohanan PV, Krishnan LK. Advantages of hyaluronic acid as a component of fibrin sheet for care of acute wound. *Biologicals*. 2011;39(2):81-8.
- Gonçalves N, Franzolin RA, Oliveira PG, Castilho JC. Comparação dos efeitos do ácido hialurônico 0,2% e ácidos graxos essenciais em paciente com queimadura por fertilizante: relato de caso. *Rev Bras Queimaduras*. 2016; 15(3). Ahead of print.
- Uhász I, Zoltán P, Erdei I. Treatment of partial thickness burns with Zn-hyaluronan: lessons of a clinical pilot study. *Ann Burns Fire Disasters*. 2012;25(2):82-5.
- Sun LT, Friedrich E, Heuslein JL, Pferdehirt RE, Dangelo NM, Natesan S, et al. Reduction of burn progression with topical delivery of (antitumor necrosis factor- α)-hyaluronic acid conjugates. *Wound Repair Regen*. 2012;20(4):563-72.
- Hoffmann A, Hoing JL, Newman M, Simman R. Role of Hyaluronic Acid Treatment in the Prevention of Keloid Scarring. *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2013;4(2):23-31.
- Woodruff LD, et al. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg*. 2004; 22(3): 241-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/1549541041438623>.