

Luz intensa pulsada no fotoenvelhecimento: avaliação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica*

Intense pulsed light in photoaging: a clinical, histopathological and immunohistochemical evaluation

Régia Celli Ribeiro Patriota¹
Luiz Carlos Cucé³

Consuelo Junqueira Rodrigues²

Resumo: FUNDAMENTOS: A luz intensa pulsada tem sido muito utilizada no tratamento do fotoenvelhecimento sem completo conhecimento de seu mecanismo de ação.

OBJETIVO: Estudar a ação da luz intensa pulsada no fotoenvelhecimento e na resposta imunológica cutânea por meio de estudo clínico, histopatológico, avaliando células de Langerhans (CD1), expressão da molécula de adesão intercelular, de linfócitos CD4 e CD8 e quantificação de colágeno e fibras elásticas. MÉTODOS: Um total de 26 pacientes, com idades entre 40 e 65 anos, com fototipos II a III de Fitzpatrick, foram tratadas do fotoenvelhecimento usando LIP, em 5 sessões, com intervalo mensal, durante o ano de 2006. Todas as pacientes foram submetidas à avaliação histológica e imuno-histoquímica 6 meses após o tratamento.

RESULTADOS: Ao término do tratamento, houve melhora clínica em 76,92% dos casos, estando relacionada ao aumento significativo de fibras colágenas (51,33%) e elásticas (44,13%). O tratamento com luz intensa pulsada promoveu redução de linfócitos CD4 e não alterou a intensidade de linfócitos CD8. Além disso, promoveu aumento significativo de pequenos vasos sanguíneos, não ectásicos, molécula de adesão intercelular positivos.

CONCLUSÃO: O tratamento facial com luz intensa pulsada promoveu intensa melhora clínica que foi comprovada pelo estudo histopatológico da pele, constituindo boa opção de tratamento para o fotoenvelhecimento cutâneo, por ser técnica não-ablativa, segura e eficaz.

Palavras-chave: Colágeno; Envelhecimento da pele; Lasers; Rejuvenescimento; Tecido elástico

Abstract: BACKGROUND: Intense pulsed light has been used in the treatment of photoaging without a full understanding of its mechanism of action.

OBJECTIVE: To study the effect of intense pulsed light on photoaging and on the skin immune response by means of a clinical and histopathological study, evaluating Langerhans cells (CD1), expression of intercellular adhesion molecule, of CD4 and CD8 lymphocytes and quantification of collagen and elastic fibers.

METHODS: In 2006 a total of 26 patients, aged 40 to 65 years, with phototypes II to III (Fitzpatrick scale), were treated for photoaging using intense pulsed light in five sessions with a monthly interval. All the patients were subjected to histological and immunohistochemical evaluation 6 months after treatment.

RESULTS: At the end of the treatment clinical improvement was observed in 76.92% of cases. This improvement was associated to a significant increase of collagen (51.33%) and elastic (44.13%) fibers. Intense pulsed light treatment led to a reduction of CD4 lymphocytes and did not alter the amount of CD8 lymphocytes. It also led to a significant increase of small, nonectatic blood vessels, positive intercellular adhesion molecule.

CONCLUSION: Facial treatment with intense pulsed light promoted major clinical improvement that was confirmed by histological examination of the skin. This technique is a good treatment option for skin photoaging because it is non-ablative, safe and effective.

Keywords: Collagen; Elastic tissue; Lasers; Skin aging; Rejuvenation

Recebido em 26.08.2010.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 21.12.2011.

* Trabalho realizado no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) – São Paulo (SP), Brasil

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest: None*

Suporte financeiro: Nenhum / *Financial funding: None*

¹ Mestre pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Médica-assistente, Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) - São Paulo (SP), Brasil.

² Professora-associada da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Laboratório Biomecânica (LIM 41) – São Paulo (SP), Brasil.

³ Professor-titular emérito, Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) - São Paulo (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento cronológico ou intrínseco é determinado geneticamente; e o envelhecimento extrínseco, também chamado fotoenvelhecimento, ocorre por exposição à radiação ultravioleta.¹ Em relação aos fenômenos histológicos do envelhecimento, existem diferenças entre o intrínseco e o extrínseco. No envelhecimento extrínseco, a epiderme apresenta hiperqueratose, os melanócitos estão em maior número e observa-se o achatamento da junção dermoepidérmica. Na derme, há larga faixa de material eosinofílico, chamada de Zona Grenz. Na derme, há larga faixa de material eosinofílico, Zona Grenz, e presença de material elastótico formando massas amorfas basofílicas, que corresponde a acúmulo de fibras elásticas. Os fibroblastos estão em número reduzido e as fibras colágenas são finas²

A luz intensa pulsada desenvolvida por Goldberg, embora não seja um LASER, é uma luz não-coerente, que abrange comprimento de onda amplo para ser absorvido pelo cromóforo desejado, pois trata o alvo com um feixe de luz específico, por meio da utilização de filtros de corte e regulação do tempo de exposição do pulso de luz e intervalo entre estes.³

O fotorrejuvenescimento não-ablativo com a luz intensa pulsada funciona causando dano térmico reversível do colágeno pela penetração da luz na derme e aquecimento direto destas estruturas, poupando a epiderme. Desta forma, obtém-se a contração das fibras de colágeno e a remodelação propriamente dita das fibras após o período inflamatório.

PACIENTES E MÉTODOS

O grupo de estudo consistiu em 26 mulheres, com idades entre 40 e 65 anos (média de 51,7 anos). As pacientes apresentavam fototipos II e III de Fitzpatrick e fotoenvelhecimento cutâneo na face, grau III, pela escala de Glogau.^{4,5} Os procedimentos tiveram início após a explicação detalhada da pesquisa e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Critérios de exclusão foram: pacientes previamente submetidas a algum procedimento cosmético na região da face, incluindo tratamento com LIP ou Laser, pele bronzeada e/ou fototipos V e VI de Fitzpatrick, portadoras de doenças agravadas pela luz, pacientes em uso de drogas fotossensibilizantes, pacientes com história de quelóide ou cicatriz hipertrófica, impossibilidade de fazer fotoproteção durante todo o tratamento, doenças cutâneas em atividade na região da face ou recusa em assinar o termo de consentimento.⁴

O delineamento do estudo consistiu em submeter as pacientes a tratamento facial com LIP e realizar estudo histopatológico da pele pré e pós-tratamento. Para tal, as seguintes rotinas foram adotadas: 1- trinta

dias antes do início das aplicações com a LIP, todas as pacientes fizeram preparo da pele com ácido retinóico 0,025% mais hidroquinona 4% na face, à noite; 2- após o início do tratamento, as pacientes foram orientadas a usar somente filtro solar FPS 30 na face durante o dia e evitar exposição direta ao sol; 3- as pacientes foram submetidas à documentação fotográfica da face pré e 6 meses após o início do tratamento, em três posições: anterior, lateral direita e lateral esquerda; 4- foram realizadas biópsias de pele pré e pós-tratamento; 5- tratamento facial com 5 sessões de LIP; 6- estudo histopatológico das biópsias.

As biópsias de pele foram realizadas na região pré-auricular direita em área acometida pelo fotoenvelhecimento, utilizando “punch” descartável nº 4, após anestesia infiltrativa com lidocaína 2% sem vasoconstritor. A sutura foi feita com fio mononylon 6.0 e os pontos, retirados com 5 dias.

As pacientes foram submetidas a 5 sessões, com intervalo mensal, na região da face com o equipamento de luz intensa pulsada, Record 618, Israel. Este aparelho possui tecnologia de banda larga-GEM (*Geometrical Energy Management*), emite luz nos comprimentos de onda entre 420 a 1100nm, duração de pulso de 10 milissegundos, pulso único, energia de 10 a 22 J/cm², programa de 0 a 12 e resfriamento a ar. Possui ponteira de 1.5 x 5.0 cm. Neste estudo, foi escolhida energia 20 J/cm² (programa 10) para todas as pacientes, a mais adequada para os fototipos II e III de Fitzpatrick. Foi utilizado gel resfriado transparente, formando camada fina para melhor acoplamento da ponteira na pele e também para proteção da epiderme.

A cada sessão, a aplicação foi realizada em toda a face. Os disparos foram feitos adjacentes um ao outro, sendo feitas 3 passadas. Nas regiões do sulco nasolabial, região glabellar, região peribucal e periorbicular foram feitos mais 2 disparos subsequentes. Óculos de proteção foram utilizados pelas pacientes e pelo pesquisador durante as aplicações. Para alívio do eritema e da ardência decorrentes da aplicação, as pacientes eram orientadas a fazer compressas geladas.

A avaliação dos efeitos colaterais (eritema, edema, ardência e crostas) foi feita imediatamente após a realização de cada sessão e em cada retorno.

A avaliação clínica consistiu em análise das fotografias clínicas pré e pós-tratamento, de cada paciente, por 3 especialistas em Dermatologia. A melhora foi classificada em: melhora discreta, moderada e intensa em relação ao aspecto de textura, clareamento de manchas e melhora de rugas finas da pele facial.

As pacientes foram avaliadas em relação ao grau de satisfação com notas de 0 a 10.

A avaliação histopatológica foi realizada por histomorfometria com auxílio de sistema analisador de

imagens Kontron 300 (Zeiss). As biópsias de pele foram imersas em solução de formalina 10% em tampão fosfato, por 24 horas, seguindo para rotina histológica. Dos blocos de parafinas foram obtidos cortes de $3\mu\text{m}$ de espessura que foram submetidos à coloração de Picrosirius para fibras colágenas, Weigert-oxona para fibras elásticas, e às reações de imuno-histoquímica para linfócitos CD4 e CD8, ICAM-1 para vasos e CD1 para células de Langerhans. A quantificação de fibras colágenas e elásticas e dos vasos foi realizada pela fração de área (%). A avaliação das células de Langerhans foi obtida pelo número de células positivas para CD1 por área de epiderme (μm^2). Células positivas para CD4 e CD8 na derme foram avaliadas por método semiquantitativo.

Os dados obtidos foram analisados por Estatística Descritiva: média, desvio-padrão, valor mínimo, máximo e mediana. Para avaliar se um mesmo tratamento promoveu diferença, compararam-se os dados pré e pós-tratamento. Os valores foram submetidos à teste de normalidade. Quando o teste de normalidade foi significativo, utilizou-se o Teste Estatístico de Análise de Variância. Quando os valores obtidos não se distribuíam segundo uma curva normal, foi utilizado o teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa SigmaStat (Jandel Científico, CA, USA), aceitando como nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

A melhora clínica da pele após 6 meses do início do tratamento foi de moderada a intensa em 76,92% dos casos ($p < 0,05$).

A avaliação histopatológica revelou aumento intenso e significativo de 51,33% ($p < 0,05$) de fibras colágenas e 44,13% de fibras elásticas ($p < 0,05$) (Figuras 1 e 2). Observamos também que estas fibras

colágenas e elásticas neoformadas mostraram distribuição uniforme seguindo eixo paralelo à superfície da epiderme, envolvendo não só a derme reticular superficial e média como também a profunda.

A quantificação de células de Langerhans CD1+ no início do estudo foi de 896.440 cels/mm² e de 725.900 cels/mm² após o tratamento ($p = 0,083$), mostrando não ter ocorrido diferença significativa.

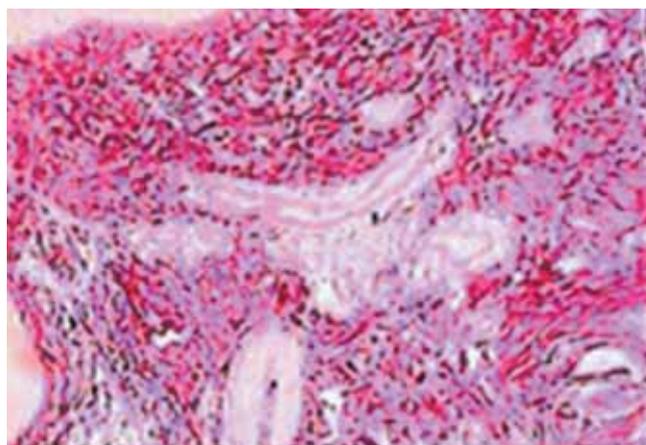
A avaliação dos linfócitos CD8 mostrou não haver diferença ($p = 0,123$) entre pré (1,0) e pós-tratamento (1,0), enquanto em relação aos linfócitos CD4 observou-se redução da intensidade pós-tratamento (3,0) em comparação ao pré-tratamento (2,5), sendo esta diferença significativa ($p = 0,5$).

Houve aumento significativo da fração de área de pequenos vasos sanguíneos na derme, não-ectásicos, expressos pelo ICAM-1 positivo, após 6 meses do início do tratamento, variando de 0,527% para 0,924% ($p < 0,05$) (Figura 3).

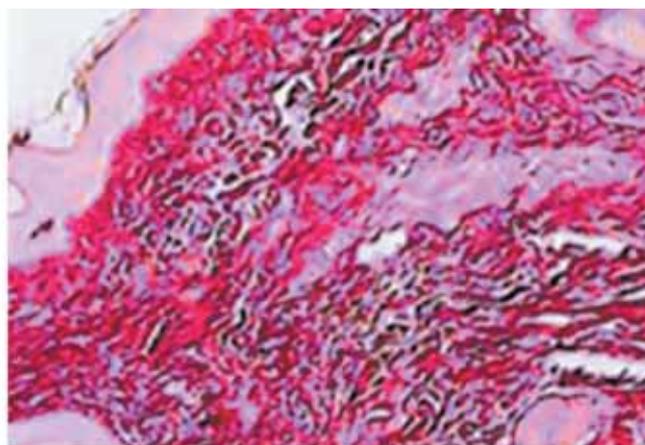
DISCUSSÃO

O fotorrejuvenescimento não-ablativo é um método que tem sido bastante estudado atualmente, visando à reversão do envelhecimento cutâneo, por meio da utilização da LIP, com o objetivo de criar um dano dérmico sem ablação da epiderme. A reação da derme à agressão faz-se pelo aumento da produção de colágeno e reabsorção do material elastótico.⁶ As explicações para a síntese de novo colágeno incluem a absorção da luz pelo sangue, que aumenta a temperatura ao redor dos vasos, transferindo o dano térmico ao tecido adjacente e causando a liberação de mediadores inflamatórios, que induziriam o processo de cicatrização. A energia também estimularia diretamente os fibroblastos a produzir mais colágeno.⁷

As pacientes do presente estudo apresentaram uma melhora da flacidez cutânea, que estaria relacio-



Pré-tratamento



Após 6 meses

FIGURA 1: A avaliação histopatológica revelou aumento intenso e significativo de 51,33% de fibras colágenas

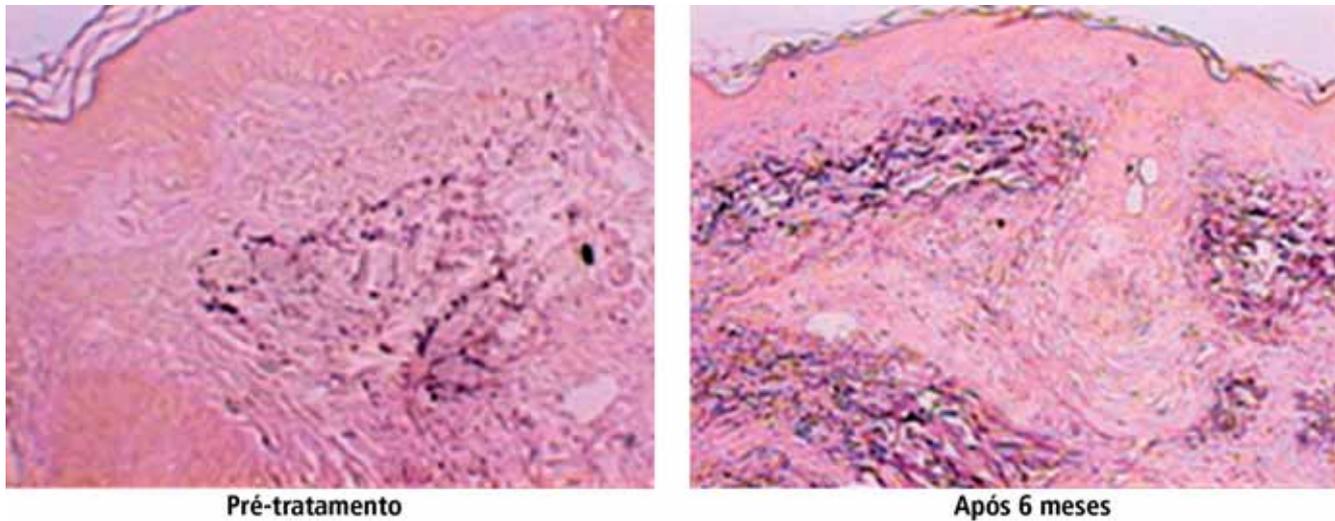


FIGURA 2: A avaliação histopatológica revelou aumento significativo de 44,13% de fibras elásticas

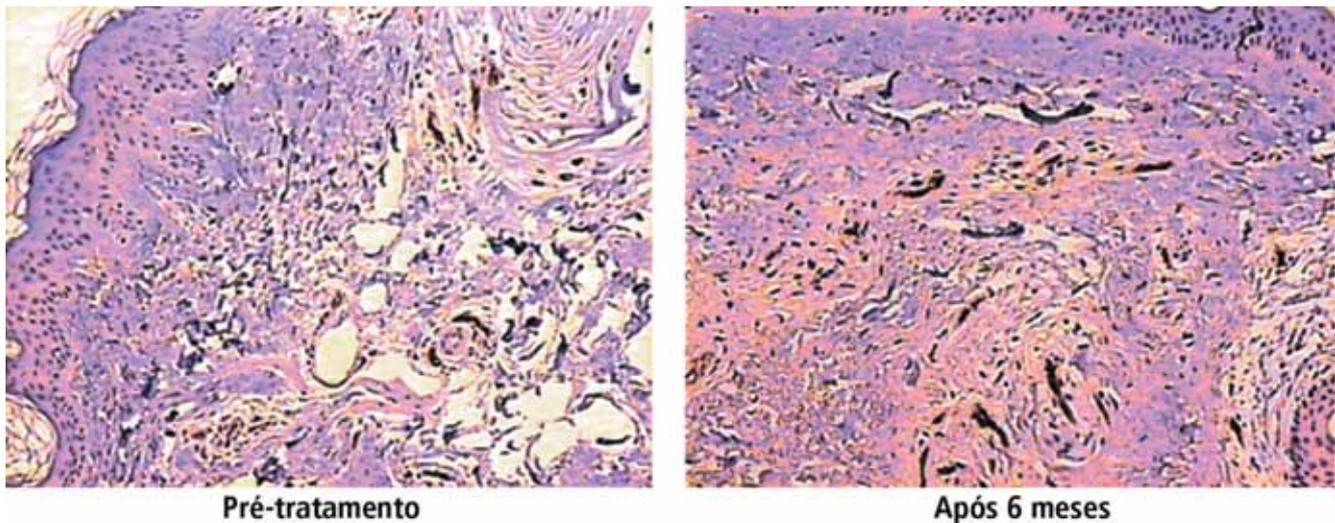


FIGURA 3: Houve aumento significativo da fração de área de pequenos vasos sanguíneos na derme, não-ectásicos, expressos pelo ICAM-1 positivo, após 6 meses do início do tratamento, variando de 0,527% para 0,924% ($p < 0.05$)

nada ao aumento de colágeno na derme reticular profunda, o que promoveu efeito “skin tightening” ao final do tratamento.

Tais resultados também foram obtidos em estudos que utilizaram diferentes tipos de LASER para o fotorrejuvenescimento não-ablativo no tratamento do envelhecimento cutâneo. Por meio de avaliação histopatológica, demonstraram síntese de colágeno e melhora da elastose solar em diferentes graus.^{3,6-10}

Efeitos colaterais, como edema e eritema da pele fotoenvelhecida, observados imediatamente após a aplicação da LIP, são devido à reação inflamatória da pele, provocada pela interação da luz com o tecido, com liberação de calor.¹¹ Esses efeitos duraram de 24 a 72 horas e desapareceram completamente. É referi-

da na literatura, além de edema e eritema, a possibilidade de vesiculação em 24-36 horas após a sessão, com posterior formação de crostas que desaparecem no período de 7 a 14 dias.¹¹ No presente estudo, 22% de indivíduos apresentaram crostas na face, as quais apareceram 24 horas após a sessão e duraram aproximadamente uma semana. Como sua duração foi menor que o tempo de turnover da epiderme (4 semanas), provavelmente elas foram produzidas por queimadura superficial.¹²

Fournier afirma que, em todos os processos de remodelação ou “resurfacing”, espera-se que a zona grenz se espesse pelo aumento da deposição de colágeno, com reorganização em arranjos paralelos com fibras compactas. Afirma, porém, que este processo leva

meses para ser visualizado, após o procedimento.⁹

Sadick, em um estudo sobre fotorrejuvenescimento não-ablativo, afirma que os resultados são tardios, sendo as modificações de pigmentações, vasculares e pilossebáceas, notadas em 3 a 6 meses, e a redução das rugas após 12 a 18 meses.¹³

Feng e Zhao afirmaram que o mecanismo de ação da LIP no rejuvenescimento pode ser explicado pelo aumento da atividade de fibroblasto, hiperplasia de fibroblasto e rearranjo de colágeno e elastina dentro do estroma.¹⁴

Li et al avaliaram a eficácia e segurança da LIP no tratamento do fotoenvelhecimento da face nos asiáticos; 89,5% dos pacientes classificaram sua melhora geral como excelente ou boa. Os efeitos adversos foram limitados à dor leve e eritema transitório.¹⁵

O tratamento com LIP não promoveu alteração da imunidade da pele em relação a CD1, CD4 e CD8, achados esses ainda não descritos na literatura. Salgado estudou a técnica ablativa com laser de dióxido de carbono

e observou que a quantidade de linfócitos CD4 e CD8 eram iguais, antes e após 15 e 90 dias do tratamento.¹⁶

Este estudo é o primeiro relato que mostrou aumento de ICAM-1 na derme após 6 meses do início do tratamento. Esse aumento foi estatisticamente significativo, demonstrando aumento dos capilares sanguíneos na derme. Sabe-se que o ICAM é uma glicoproteína de membrana de adesão intercelular, estando relacionada à adesão de leucócitos no endotélio vascular. Esta alteração pode estar relacionada ao processo inflamatório, pois a glicoproteína ICAM é produzida quando há invasão da parede dos vasos por leucócitos, ou simplesmente estar evidenciando neoformação vascular por reperfusão de vasos pré-existentes.^{17,18}

CONCLUSÃO

A luz intensa pulsada constitui boa opção de tratamento para o fotoenvelhecimento cutâneo, sendo uma técnica não-ablativa, segura e eficaz, visto que a melhora clínica observada pelos pacientes encontra paralelo na análise histológica. □

REFERÊNCIAS

- Gilchrest BA. Skin aging and photoaging: and overview. *J Am Acad Dermatol*. 1989;21:610-3.
- Odom RB. Topical tretinoin for the treatment of photo damaged skin. In: Weelmd RG, editor. *Cutaneous surgery*. Philadelphia: Saunders; 1994. p.28-9.
- Goldberg DJ, Cutler KB. Nonablative treatment of rhytids with intense pulsed light. *Lasers Surg Med*. 2000;26:196-200.
- Fitzpatrick TB. Fitzpatrick's reactivity of human skin to solar radiation based on skin phototypes I to V: table 138-5. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Gollsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB. *Dermatology in general medicine*. 15th ed. New York: Mc Graw-Hill; 1999. p.1606.
- Glogau RG. Chemical peeling and aging skin. *J Geriatr Dermatol*. 1994;2:30-5.
- Goldberg DJ, Silapunt S. Histologic evaluation of a Q-switched Nd:YAG laser in the nonablative treatment of wrinkles. *Dermatol Surg*. 2001;27:744-6.
- Lee MWC. Combination 532-nm and 1064-nm lasers for noninvasive skin rejuvenation and toning. *Arch Dermatol*. 2003;139:1265-76.
- Menaker GM, Wrona DA, Williams RM, Moy RL. Treatment of facial rhytids with a nonablative laser: a clinical and histologic study. *Dermatol Surg*. 1999;25:440-4.
- Fournier N, Dahan S, Barneon G, Diridollou S, Lagarde JM, Gall Y, et al. Nonablative remodeling: clinical, histologic, ultrasound imaging, and profilometric evaluation of a 1540 nm Er:Glass laser. *Dermatol Surg*. 2001;27:799-806.
- Trelles MA, Allones I, Luna R. Facial rejuvenation with a nonablative 1320 nm Nd:YAG laser: a preliminary clinical and histologic evaluation. *Dermatol Surg*. 2001;27:111-6.
- Spicer MS, Goldberg DJ. Lasers in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1996;34:1-25.
- Kawada A, Shiraishi H, Asai M, Kameyama H, Sangen Y, Aragane Y, et al. Clinical improvement of solar lentigines and ephelides with an intense pulsed light source. *Dermatol Surg*. 2002;28:504-8.
- Sadick NS. Update on non-ablative light therapy for rejuvenation: a review. *Lasers Surg Med*. 2003;32:120-8.
- Feng YJ, Zhao JY. Skin rejuvenation in Asian skin: the analysis of clinical effects and basic mechanisms of intense pulsed light. *J Drugs Dermatol*. 2008;7:273-9.
- Li YH, Wu Y, Chen JZ, Gao XH, Liu M, Shu CM, et al. Application of a new intense pulsed light device in the treatment of photoaging skin in Asian patients. *Dermatol Surg*. 2008;34:1459-64.
- Salgado AGM. Estudo imuno-histoquímico da pele antes e depois do laser de CO2 ultrapulsado [dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2001.
- Cid MC, Cebrián M, Font C, Coll-Vinent B, Hernández-Rodríguez J, Esparza J, et al. Cell adhesion molecules in the development of inflammatory infiltrates in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43:184-94.
- Nowak-Sliwinska P, van Beijnum JR, van Berkel M, van den Bergh H, Griffioen AW. Vascular regrowth following photodynamic therapy in the chicken embryo chorioallantoic membrane. *Angiogenesis*. 2010;13:281-92.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA / MAILING ADDRESS:

Regia Celli Ribeiro Patriota

Divisão de Dermatologia - Instituto Central – 3º andar.

*Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 / sala 3070
05403-000 Cerqueira César - São Paulo*

E-mail: regiapatriota@terra.com.br

Como citar este artigo/How to cite this article: Patriota RCR, Rodrigues CJ, Cucé LC. Luz intensa pulsada no fotoenvelhecimento: avaliação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica. *An Bras Dermatol*. 2011;86(6):1129-33.