MARIA FERNANDA DEMATTÊ SOARES BELICO

*Análise mecânica e histológica do tegumento
facial com seqüela de queimadura após
tratamento tópico com tretinoína*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Cirurgia Plástica
Orientador: Prof. Dr. Rolf Gemperli

**SÃO PAULO
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Belico, Maria Fernanda Demattê Soares

Análise mecânica e histológica do tegumento facial com seqüela de queimadura após tratamento tópico com tretinoína / Maria Fernanda Demattê Soares Belico. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cirurgia.

Área de concentração: Cirurgia Plástica.

Orientador: Rolf Gemperli.

Descritores: 1.Queimaduras/terapia 2.Face 3.Administração tópica
4.Tretinoína/uso terapêutico 5.Estresse mecânico 6.Colágeno/análise 7.Colágeno
tipo III 8.Tecido elástico/patologia 9.Versicanas/análise 10.Qualidade de vida

USP/FM/SBD-228/08

*“Uma coisa só é impossível até que
alguém duvide e prove o contrário.”*

Albert Einstein (1879 – 1955)

Dedico esta tese

*Aos meus amados pais, Milton e Janilze,
presentes em todos os momentos da minha vida pessoal e profissional,
exemplos de caráter, dedicação à família e amor.*

*Às minhas amigas queridas e dedicadas irmãs, Cláudia e Monica,
pela ternura e momentos inesquecíveis.*

*Ao meu querido marido Sávio,
pelo carinho, paciência, amor e incentivo nos momentos mais difíceis.*

*À minha filhinha Bruna,
pelas novas emoções e amor incondicional.*

Agradecimentos

Às pacientes vítimas de queimaduras faciais, que tanto nos motivaram para a realização deste estudo, pela boa vontade com que compareceram às avaliações e por dispensarem seu tempo à causa nobre da ciência.

Ao Prof. Dr. Marcus Castro Ferreira, Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo exemplo de profissionalismo, pela oportunidade e incentivo para a complementação da minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Rolf Gemperli, Professor Associado da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, exemplo de profissional respeitado e de sucesso, pela sua confiança, atenção, paciência e disponibilidade na orientação deste estudo.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva, Professor Titular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por acreditar na idéia e permitir a integração interdisciplinar.

À Profa. Dra. Marisa Dolhnikoff, Professora Associada e Docente do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, exemplo de caráter, integridade e respeito à profissão; pela acolhida, paciência, incentivo e por me permitir usufruir de seus conhecimentos. A seriedade com que conduz sua atividade científica constitui-se em modelo de atitude a ser seguido.

Aos Profs. Drs. Júlio Morais Besteiro e Thais Mauad pelas sugestões e colaboração na elaboração do projeto de pesquisa.

À Profa. Dra. Maria Esmeralda Soares Payão Demattê, Professora Titular Aposentada do Departamento de Produção Vegetal da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Exemplo de dedicação e sucesso profissional, pelo carinho, incentivo, atenção, disponibilidade e contribuição na revisão deste trabalho.

À Dra. Alessandra Grassi Salles, Médica Assistente do Serviço de Cirurgia Plástica e Queimaduras do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela oportunidade, disponibilidade, atenção e contribuição na elaboração e revisão deste estudo.

Ao Dr. César Isaac, responsável técnico pelo Laboratório de Cultura Celular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo, pela amizade, paciência, e valorosa contribuição na organização, realização e revisão deste estudo.

Ao Dr. Maurício de Maio, responsável por meu interesse nesta área de atuação tão pouco explorada.

À Dra. Marcia Aparecida Martins Da Silva Freire, pela amizade, incentivo e disponibilidade para a revisão da tese.

À Doutoranda Tatiana Lanças, exemplo de dedicação e perseverança na busca incansável de seus objetivos; pela amizade, paciência, carinho, incentivo constante e uma das principais responsáveis pela organização, realização e revisão deste trabalho.

Aos Doutorandos Luiz Fernando Ferraz da Silva, Diogenes Seraphim Ferreira e Maína Morales, pela atenção, suporte técnico e por disporem de seus tempos e conhecimentos para a realização deste estudo.

Aos colegas Rodrigo Pinto Gimenes, Adelina Fátima do Nascimento Remigio e Valéria Berton Liguori Zacchi, pela amizade e incentivo durante a realização desta tese.

Aos funcionários do ambulatório do Serviço de Cirurgia Plástica e Queimaduras do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial à enfermeira Jeanete C. Ferreira, pelo auxílio com as pacientes.

Aos funcionários do Laboratório de Microcirurgia Experimental e Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial à Edna Maria Rodrigues dos Santos, Silvana Aparecida Biagioni e Maria Aparecida Moreira, pelo auxílio e atenção em diversas etapas da pós-graduação.

Aos funcionários do museu do Departamento de Patologia, Ana Luiza Barreiros Silveira, Reginaldo Silva do Nascimento e Fabrício Garcia, pelo auxílio na realização das fotos e análise quantitativa das lâminas.

Às funcionárias do laboratório de imunohistoquímica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Sandra de Moraes Fernezlí e Esmeralda Miristeni Eher, pelas explicações, preparo das colorações de imunohistoquímica e gentileza com que sempre nos receberam.

À funcionária do laboratório de biologia celular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Nilsa Regina Damasceno Rodrigues, pela atenção e preparo histoquímico das lâminas.

À funcionária do laboratório de histopatologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Kelly Cristina Soares Bispo pelo auxílio e preparo das lâminas de hematoxilina-eosina.

À farmacêutica Cláudia R. C. Garcia, da RC Farmácia Dermatológica, pela atenção aos pacientes, constante envolvimento com os projetos de pesquisa e suporte técnico-científico.

À Professora de Português Leide Ungari da Costa, exemplo de realização profissional, pelo carinho, atenção e disponibilidade com que realizou a revisão ortográfica.

Ao professor de inglês Willian Michael Macina, pelo incentivo e gentileza ao revisar a tradução.

Ao estatístico Jimmy Adans Costa Palandi, Bacharel em Estatística pela Universidade Federal de São Carlos, pela organização dos dados e orientação na análise estatística.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de anexos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Pele humana e reparação tecidual.....	04
1.2 Propriedades físicas da pele e mecânica tecidual.....	11
1.3 Tretinoína.....	14
 2. OBJETIVO.....	 20
 3. MÉTODOS.....	 22
3.1 Casuística.....	23
3.2 Protocolo de estudo.....	24
3.2.1 Tratamento Tópico.....	26
3.2.2 Biópsia do tegumento restaurado não tratado e tratado.....	27
3.2.3 Análise mecânica.....	28
3.2.4 Análise histológica.....	32
3.3 Análise Estatística.....	37

4. RESULTADOS.....	38
4.1 Casuística.....	39
4.2 Tratamento tópico e biópsia de tegumento restaurado.....	39
4.3 Mecânica tecidual.....	40
4.4 Histologia descritiva e quantitativa.....	42
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÃO.....	64
7. ANEXOS.....	66
8. REFERÊNCIAS.....	80

Apêndice

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

°	graus
° C	graus <i>Celsius</i>
Δ	delta
<	menor
>	maior
=	igual a
%	por cento
bFGF	fator de crescimento de fibroblasto 2
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
cm ³	centímetro cúbico
CO ₂	gás carbônico
DM	<i>diabetes mellitus</i>
Dr.	doutor
Dra.	doutora
E	elastância
e cols.	e colaboradores
et al.	e outros
EUA	Estados Unidos da América
ex	exemplo
F	fluxo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
g	grama
h	hora
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Hz	hertz
min	minuto
m ²	metro quadrado
mg	miligrama
MEC	matriz extracelular
micra	micra
mm	milímetro
N	Newton
O ₂	oxigênio
P	pressão
$P = E.V + R.F$	P=pressão, E=elastância, V=volume, R=resistência e F=fluxo
PBS	Phosphate buffer saline
PDGF	“platelet derived growth factor”- fator de crescimento derivado de plaquetas
PGs	proteoglicanos
pH	potencial hidrogeniônico
prof.	professor
profa.	professora
R	resistência
RARs	receptores intranucleares específicos do ácido retinóico
s	segundo
SMAS	sistema músculo aponeurótico superficial
TGF-β	fator transformador de crescimento beta
USP	Universidade de São Paulo
UVB	Ultravioleta tipo B

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia ilustrativa da região facial não tratada com tretinoína tópica.....	25
Figura 2. Fotografia das regiões faciais submetidas à biópsia.....	28
Figura 3a. Visualização da pesagem do fragmento de tegumento restaurado em balança de precisão (mg)	29
Figura 3b. Visualização da medida do comprimento de repouso do fragmento de tegumento restaurado com paquímetro (mm).....	29
Figura 4. Equipamento utilizado na análise da mecânica tecidual.....	30
Figura 5. Esquema do estudo da mecânica tecidual.....	30
Figura 6. Fotografia dos equipamentos utilizados na análise quantitativa dos elementos da matriz extracelular.....	34
Figura 7. Fotomicrografia de tegumento restaurado subdividido em 15 campos de análise das regiões dérmicas.....	35
Figura 8. Demonstração do método de análise quantitativa (de imagem).....	36
Figura 9. Gráfico dos valores de resistência das regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína.....	41

Figura 10. Gráfico dos valores de elastância das regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína.....	41
Figura 11. Fotomicrografias de tegumento restaurado corado com hematoxilina-eosina.....	43
Figura 12. Fotomicrografias de tegumento restaurado com coloração para visualização de fibras colágenas totais (Picro-Sirius).....	44
Figura 13. Gráficos das análises quantitativas das fibras colágenas totais nas regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína.....	44
Figura 14. Fotomicrografias de tegumento restaurado com coloração para visualização de fibras elásticas (Resorcina-Fucsina).....	45
Figura 15. Gráficos das análises quantitativas das fibras elásticas nas regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína.....	46
Figura 16. Fotomicrografias de tegumento restaurado submetido a estudo imunohistoquímico para visualização das fibras de colágeno tipo III	47
Figura 17. Gráficos das análises quantitativas das fibras de colágeno tipo III nas regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína....	48
Figura 18. Fotomicrografias de tegumento restaurado submetido a estudo imunohistoquímico para visualização de versicam.....	49
Figura 19. Gráficos das análises quantitativas de versicam nas regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Complicações precoces apresentadas pelas pacientes após início do tratamento tópico com tretinoína..... 39

Tabela 2. Complicações tardias apresentadas pelas pacientes após tratamento tópico com tretinoína e após a realização das biópsias..... 40

Tabela 3. Valores de resistência e elastância dos tegumentos restaurados não tratados e tratados com tretinoína tópica..... 40

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq - HCFMUSP).....	67
Anexo B. Carta de Informação.....	68
Anexo C. Termo de Consentimento Informado (livre e esclarecido).....	70
Anexo D. Questionário de avaliação.....	72
Anexo E. Descrição e componentes da formulação de uso tópico.....	74
Anexo F. Dados sócio-demográficos e clínicos das pacientes do estudo.....	75
Anexo G. Tabela de dados das análises mecânica e histológica.....	76

RESUMO

Belico MFDS. *Análise mecânica e histológica do tegumento facial com seqüela de queimadura após tratamento tópico com tretinoína* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008.

Pacientes vítimas de queimaduras convivem com seqüelas que podem diminuir sua auto-estima e qualidade de vida. Vítimas de queimaduras faciais são excluídos social e profissionalmente solicitando ao cirurgião plástico tratamentos complementares aos cirúrgicos para melhoria da aparência e qualidade da pele. Quinze pacientes do sexo feminino, vítimas de queimadura facial por álcool com mais de dois anos de evolução, foram submetidas a tratamento tópico com tretinoína 0,05% durante um ano, com exceção da região pré-auricular. Após este período, duas biópsias faciais, uma na região pré-auricular e outra um centímetro abaixo do lóbulo da orelha, foram realizadas para comparar áreas não tratadas e tratadas. Os fragmentos biopsiados foram submetidos à análise mecânica e histológica. Medidas de resistência e elastância foram significativamente menores nas áreas tratadas (resistência $p=0,03$ e elastância $p<0,05$). Não houve diferença estatística entre as densidades de fibras colágenas totais e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versican nas áreas tratadas e não tratadas.

Descritores: 1. Queimaduras/terapia 2. Face 3. Administração tópica 4. Tretinoína/uso terapêutico 5. Estresse mecânico 6. Colágeno análise 7. Colágeno tipo III 8. Tecido elástico/patologia 9. Versicanas/análise 10. Qualidade de vida.

SUMMARY

Belico MFDS. *Mechanical and histological analysis of the facial skin with burn sequelae after tretinoin topical treatment* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2008.

Patients that are victims of burns live with sequelae that may decrease their self-esteem and quality of life. Victims of facial burns are excluded from social and professional life. They request the plastic surgeon to provide complementary treatment to the surgical one, so as to improve their appearance and the quality of the skin. Fifteen female patients, victims of facial burns caused by alcohol with more than two years of evolution, underwent topical treatment with 0.05% tretinoin during one year. During this period, a small area at the pre-auricular region was spared from the treatment. After this period two facial biopsies, one in the pre-auricular area and the other one, 1 cm below the ear lobe, were performed to compare treated and non treated areas. Skin strips underwent a mechanical and histological analysis. Measurements of resistance and elasticity were significantly lower in the treated skin as compared with non-treated skin (resistance, $p=0.03$ and elasticity, $p<0.05$). The density of collagen and collagen type III fibers, elastic fibers and versican was not significantly different between treated and non-treated skins.

Descriptors: 1.Burns/therapy 2.Face 3.Topical administration
4.Tretinoin/therapeutic use 5.Mechanical stress 6.Collagen/analysis
7.Collagen type III 8.Elastic tissue/pathology 9.Versicans/analysis
10.Quality of life.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O número de vítimas de queimaduras no Brasil está aumentando; com o objetivo de conscientizar a população sobre os riscos e diminuir o número de queimados no país, a Sociedade Brasileira de Queimaduras desenvolveu, em 2008, campanha nacional cuja mensagem foi: "Mais de 1 milhão de acidentes de queimaduras acontecem todo ano. Não corra este risco". Apesar da alta incidência de queimaduras, o Brasil ainda não dispõe de índices estatísticos específicos em relação a gravidade dos acidentes ou áreas atingidas, faixa etária acometida, agente causador, tipo de tratamento, tempo e custos de internação.

Centros especializados no tratamento de queimados conseguiram diminuir a taxa de mortalidade em pacientes vítimas de queimaduras complexas e extensas. Entretanto, os que sobrevivem a este evento, geralmente apresentam seqüelas que ocasionam deletérios distúrbios psicológicos, conseqüentes à alteração da imagem corporal ^{1,2}.

Vítimas de queimaduras faciais são, em geral, excluídas social e profissionalmente devido ao aspecto desfigurado da face, levando à diminuição da auto-estima e, conseqüentemente, da qualidade de vida ^{3,4}. Por este motivo, solicitam, aos profissionais da área de Cirurgia Plástica, tratamentos complementares ao cirúrgico com o intuito de melhorar aparência e textura do tegumento que, geralmente, encontra-se ressecado, descamativo, discrômico e inelástico ⁵.

A Cirurgia Plástica é a especialidade médica que busca melhoria de alterações fisiológicas como envelhecimento, gravidez ou modificações da forma corporal que não configuram doença, mas causam alterações psicossociais importantes ⁶. A capacidade de alterar a aparência dos pacientes confere ao cirurgião plástico um instrumento de melhora da auto-imagem, auto-estima e qualidade de vida. Pacientes que têm dificuldade de conviver com sua aparência podem, desta maneira, conseguir aliviar suas ansiedades ⁷. É por meio da reparação dos tecidos da superfície corporal que o cirurgião plástico visa melhorar a forma, o contorno e a função tecidual ⁶.

Tratamentos clínicos não invasivos utilizados em pacientes queimados, como o uso tópico de fármacos, buscam melhorar hidratação, distensibilidade e coloração do tegumento; no entanto, as avaliações são realizadas, na maior parte das vezes, por meio de métodos subjetivos.

Visando a proporcionar ao paciente vítima de queimadura tratamento adequado e completo, desenvolveu-se, linha de pesquisa específica para melhorar a qualidade do tegumento após a realização dos procedimentos cirúrgicos.

Dentre os estudos realizados nesta linha de pesquisa, a associação de agentes despigmentantes e ácidos na obtenção de clareamento do tegumento hiperocrômico pós-queimadura foi descrita como efetiva ^{8,9,10}. Também já foi demonstrado aumento significativo na abertura bucal de pacientes com seqüela de queimadura na região perioral tratados topicamente com a associação de tretinoína e ácido glicólico ¹¹.

Em continuidade a estes estudos, optou-se por analisar, de forma objetiva, o tegumento restaurado submetido a tratamento tópico com tretinoína, por meio do estudo da mecânica tecidual, analisando resistência e elastância, e da análise histológica de alguns componentes dérmicos, tais como, fibras colágenas e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam.

1.1 Pele humana e reparação tecidual

A pele é um dos maiores órgãos do corpo humano em área superficial e peso. Quando íntegra, suas principais funções são evitar agressões do meio externo, impedir a perda de líquidos internos e manutenção da temperatura corporal. É composta por duas camadas originadas em folhetos embriológicos distintos: epiderme e derme. Sob a derme encontra-se a tela subcutânea, que fixa a pele às estruturas adjacentes ^{12,13}.

Derivada do folheto ectodérmico, a epiderme é a camada mais superficial e delgada da pele, variando entre 0,04 a 0,12 mm de espessura. A epiderme não possui vasos sangüíneos, mas apresenta espaços intercelulares, preenchidos por substância intersticial, que permitem trocas entre as células.

A população celular da epiderme é composta, principalmente, por queratinócitos e melanócitos, estando também presentes células apresentadoras de antígenos (células de Langerhans) e células neuroendócrinas responsáveis pela síntese de catecolaminas (células de Merkel) ^{14,15}.

Por estar em contato direto com o meio externo, a epiderme torna-se responsável pela barreira contra agentes externos e preservação de líquidos internos. É composta de tecido epitelial e pouco contribui para as propriedades mecânicas da pele ^{16,17,18}.

A derme, de origem mesodérmica, é composta de tecido conectivo e sua espessura varia entre 1 e 4 mm. É o tecido conjuntivo sobre o qual se apóia a epiderme, conferindo resistência mecânica à pele. Contém 15% de colágeno tipo III, em sua maioria na derme papilar, ou seja, localizado nas regiões mais superficiais da derme, onde se observam as fibrilas e fibras mais finas. A fração restante refere-se ao colágeno tipo I, encontrado predominantemente na região reticular, na qual se observam fibrilas e fibras mais espessas ^{16,17,18}. Ambas as regiões possuem igual quantidade de fibras elásticas e fibras de reticulina (elementos pré-colágeno) que são parcialmente responsáveis pela elasticidade da pele. A rede de fibras elásticas acompanha a estrutura do colágeno. Quando a pele é submetida à distensão, as fibras elásticas parecem estar aderidas ao colágeno.

A matriz extracelular (MEC), também conhecida como substância intersticial, substância intercelular, substância fundamental amorfa ou substância homogênea da derme, é um complexo molecular que constitui um veículo para a passagem de células, moléculas hidrossolúveis e íons diversos e é uma barreira à penetração de microorganismos. É formada, principalmente, por glicosaminoglicanos, proteoglicanos (PGs), glicoproteínas adesivas (integrinas, lamininas e fibronectinas) e por fibras colágenas e elásticas ^{19,13}.

A arquitetura dos vasos sanguíneos da derme é bastante complexa. Originadas das grandes artérias, surgem artérias perfurantes entre as aponeuroses que se ramificam de forma horizontal na derme superficial. O retorno venoso dá-se, a partir dos capilares, por três redes venosas consecutivas: o plexo venoso superficial ou plexo venoso subpapilar, a rede venosa da derme e, finalmente, a rede venosa que se localiza na camada limítrofe entre a derme e o tecido celular subcutâneo ²⁰.

Os vasos linfáticos da pele são revestidos por uma única camada de células endoteliais. Esse sistema encontra-se na porção superior da derme. Os vasos linfáticos originam-se em “fundo de saco”, formando depois a rede linfática subpapilar que se dirige ao tecido celular subcutâneo ²⁰.

Na derme, existem os anexos cutâneos como as glândulas sebáceas e as sudoríparas e as terminações nervosas provenientes das fibras sensitivas do sistema nervoso cérebro-espinhal e do sistema nervoso autônomo. Essas terminações nervosas podem ser livres ou conjugadas a receptores em forma de corpúsculos, como os corpúsculos de Vater-Pacini e de Krause, sensíveis à pressão e ao frio respectivamente ²⁰.

As principais células dérmicas são fibroblastos e fibrócitos, porém basófilos, histiócitos e plasmócitos também estão presentes. As células do tecido conjuntivo localizam-se em meio à matriz extracelular, mantendo estreito contato com as estruturas fibrilares ²⁰.

Os fibroblastos originam-se de células mesenquimatosas indiferenciadas. À microscopia óptica, os fibroblastos apresentam prolongamentos citoplasmáticos irregulares, núcleo eucromático de forma

ovóide e nucléolo evidente. À microscopia eletrônica, nota-se grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso e a presença do complexo de Golgi, por causa da grande produção protéica destinada à síntese de componentes da matriz extracelular como fibras colágenas e elásticas, proteoglicanos e glicosaminoglicanos^{20,17}.

O fibroblasto quiescente, o fibrócito, perde seus prolongamentos citoplasmáticos assumindo característica fusiforme. Na cicatrização, o fibrócito pode voltar a sintetizar matriz extracelular, reassumindo a estrutura de fibroblasto. Fibroblastos que participam ativamente no processo de fechamento de feridas, possuindo altos teores de actina e miosina, são chamados de miofibroblastos²¹.

O principal componente da derme é o colágeno sintetizado pelos fibroblastos. O colágeno é a proteína mais abundante do corpo humano, representando 30% do total das proteínas existentes. As fibras colágenas, compostas de glicina, prolina e hidroxiprolina são as mais freqüentes no tecido conjuntivo e, aproximadamente 75% têm cor branca, conferindo essa cor aos tecidos nos quais são predominantes, como por exemplo, nos tendões²⁰.

A microscopia eletrônica demonstra que essas fibras estão dispostas em bandas ou estrias transversais, a intervalos de aproximadamente 700 angstroms, em arranjo de tríplice fita helicoidal. Várias moléculas são agregadas progressivamente em tropocolágeno, filamentos de colágeno, fibrilas e fibras, as quais encontram-se espiraladas no estado de relaxamento²².

A tração da pele provoca o estiramento das fibras colágenas na direção da força de tração, até um ponto limite em que elas se alinham paralelamente umas às outras, em estrutura muito resistente à extensão adicional^{22,23,5}.

O colágeno está envolvido nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelação da resposta cicatricial da pele humana. Cicatrizes representam a fase final da resolução de lesões cutâneas, nas quais a matriz colágena sintetizada rapidamente é re-organizada em uma matriz densa e relativamente acelular que restaura a integridade da pele, bem como a força tênsil de maneira parcial. A cicatrização ou reparação tecidual é um processo dinâmico, caracterizado por síntese e degradação de matriz por períodos prolongados^{24,25}.

As fibras elásticas, também sintetizadas pelos fibroblastos, são compostas de elastina e proteínas microfibrilares, sendo, em parte, responsáveis pela tensão natural da pele. As fibras elásticas da derme são bem mais finas que as colágenas e, diferentemente destas, apresentam junções látero-terminais. Sua função é retornar a rede de colágeno deformada por forças de tração à condição de relaxamento. O estiramento excessivo crônico ou o excesso de exposição aos raios ultravioleta pode causar fragmentação das fibras elásticas, resultando em perda da capacidade de retorno ao estado original de repouso, tornando a pele mais viscosa^{22,23,5}.

Antes denominados mucopolissacarídeos, os glicosaminoglicanos são carboidratos lineares de peso molecular elevado. São poliânions, ligando-

se por eletrovalência a elevado número de cátions que, por sua vez, atraem numerosas moléculas de água, hidratando-os. São extremamente hidrófilos e, quanto mais polimerizados os glicosaminoglicanos, maior a viscosidade da substância amorfa.

O glicosaminoglicano mais comum é o ácido hialurônico ou hialuronam. Os demais encontram-se ligados covalentemente às proteínas da matriz. Incluem o sulfato de condroitina, sulfato de dermatam, queratossulfato e sulfato de heparitina^{20,5,26}.

Os proteoglicanos são compostos macromoleculares constituídos por glicosaminoglicanos sulfatados, ligados covalentemente ao seu corpo protéico. Por sua hidratação, as moléculas de proteoglicanos ocupam enorme espaço, tornando-se muito eficientes para resistir a forças de compressão. Servem como pontos de ancoragem e concentração de fatores de crescimento e outras proteínas que estimulam a proliferação celular, e têm ainda papel importante como moléculas reguladoras do processo de reparo tecidual^{27,13}.

O avanço das metodologias de biologia molecular permitiu que as seqüências de aminoácidos dos corpos protéicos de diferentes proteoglicanos (PGs) fossem conhecidas, de maneira que, atualmente, a classificação dos PGs passou a ser feita baseando-se na composição de seu corpo protéico ou na localização dessas macromoléculas nos tecidos. Com base na localização dos PGs nos tecidos, eles podem ser classificados em extracelulares (ou de MEC), intracelulares e de superfície celular²⁸ que incluem a família dos sindecans e o betaglicam²⁹.

Os PGs extracelulares são organizadores da MEC e subdividem-se em: interfibrilares ou hialectanos (versicam, agregam, neurocam e brevicam), fibrilares (decorim, biglicam, fibromodulim e lumicam) e de membrana basal (perlecam).

Os PGs interfibrilares localizam-se entre as malhas formadas pelos feixes de fibras colágenas e promovem pontes entre as células e a matriz extracelular. Os PGs fibrilares relacionam-se com a fibrilogênese e a organização dos feixes colagênicos. Os PGs de membrana basal funcionam como um arcabouço estrutural que guia e regula a angiogênese mediante fatores de crescimento como o fator de crescimento de fibroblasto 2 (bFGF)^{30, 29, 13}.

A gravidade das alterações cutâneas provocadas pela queimadura é variável e depende, em grande parte, da profundidade original das lesões. O processo de reparação tecidual resulta em revestimento cutâneo com características diferentes da pele normal e alteração das propriedades físicas da pele. A qualidade final do tegumento é ainda influenciada por fatores individuais, tais como idade, cor da pele, presença de infecção e cuidados adequados nos primeiros dois anos após o trauma^{31,32,5}.

Quando apenas a epiderme é acometida, o que caracteriza a queimadura de primeiro grau ocorre regeneração completa da pele. Lesões dérmicas de espessura parcial, quando epitelizadas em até duas semanas, resultam em tegumento com função similar à pele sã, mas, freqüentemente, com algum grau de discromia. Este tipo de evolução ou restauração cutânea ocorre em queimaduras de segundo grau superficiais e em áreas doadoras de enxertos de espessura parcial. O

tegumento restaurado corresponde à, aproximadamente, 80% do revestimento resultante de queimaduras ^{31,32,5}.

Queimaduras que atingem até a derme profunda, quando restauradas espontaneamente, podem levar de três a cinco semanas para a completa epitelização. Evoluem com formação de tecido de granulação exuberante e maior grau de contração tecidual. Nestes casos, a hipertrofia cicatricial é comum, especialmente em pacientes jovens e/ou com maior índice de pigmentação racial. Lesões cuja restauração ocorre em até três semanas evoluem com cicatrizes hipertróficas em 33% dos casos, e as que ocorrem mais lentamente, evoluem com hipertrofia em 78% deles ^{4,5}.

Quando uma lesão tecidual acarreta destruição de inúmeras células, o retorno à normalidade é mais complexo e pode ser realizado de duas maneiras. Na regeneração, o retorno se faz a partir de células do mesmo tipo das que se perderam e na cicatrização, o retorno se faz, fundamentalmente, à custa de tecido conectivo, onde o tecido preexistente fica substituído por cicatriz fibrosa. Esse processo de retorno à normalidade é regulado pelos proteoglicanos de matriz extracelular e de superfície celular presentes no tecido ³³.

1.2 Propriedades físicas da pele e mecânica tecidual

As propriedades físicas da pele dependem, principalmente, das redes fibrosas de colágeno e elastina que constituem a matriz dérmica, com sua arquitetura entrelaçada e envolvida pela substância intersticial. Variam entre

diferentes indivíduos, regiões do corpo e em diferentes idades ²². Podem, didaticamente, ser divididas em tensão cutânea, extensibilidade e propriedades visco-elásticas.

A tensão e a extensibilidade naturalmente existentes na pele são freqüentemente confundidas e chamadas de “elasticidade”. Estas propriedades se inter-relacionam; a pele se estende se maior tensão é aplicada e, da mesma maneira, a pele estirada está sob maior tensão. A tensão naturalmente existente na pele é uma função do estado de tensão da rede de fibras elásticas, pois as fibras colágenas não têm capacidade de retração. A tensão cutânea varia nos diferentes sítios anatômicos e em diferentes direções, sendo importante na cicatrização ^{22,05}.

A pele humana pode ser classificada como visco-elástica. Após deformação, retorna ao estado original pelo componente elástico; entretanto, nesta recuperação, consome parte da energia aplicada na pele ²³. A energia é parcialmente dissipada no escorregamento viscoso das fibrilas de colágeno durante o alinhamento com a direção da força. Materiais puramente viscosos cedem continuamente sob a ação de uma força e não retornam ao estado original espontaneamente após a retirada dessa força, requerendo, para isto, uma força adicional. Materiais elásticos, por sua vez, recuperam sua dimensão ou forma inicial após uma deformação sem nenhum gasto energético. A pele apresenta uma combinação destas duas propriedades ^{18,5}.

O colágeno é responsável pela força tênsil dos tecidos conectivos, enquanto os glicosaminoglicanos são os principais responsáveis pela

hidratação cutânea, turgor e elasticidade. Proteoglicanos têm, além dos efeitos diretos nas propriedades dos tecidos conectivos, efeitos indiretos na organização e morfologia das fibrilas colágenas. Esta organização, quando alterada pode ser, em parte, responsável pela qualidade rígida e inelástica das cicatrizes hipertróficas³⁴.

As fibrilas de colágeno são, freqüentemente, arranjadas em espirais ou nódulos nas cicatrizes hipertróficas. Os nódulos podem medir de sete a oito milímetros de profundidade por até vinte milímetros de extensão. As áreas nodulares destas cicatrizes apresentam fibrilas colágenas relativamente mais finas e mais espaçadas entre si, indicando presença de matriz interfibrilar mais abundante, com ausência de estruturas supra-fibrilares (fibras e feixes)^{34,5}.

Após processos de reparação tecidual, observam-se, na derme, alterações das fibras colágenas e elásticas e diferença na composição da matriz extracelular. As propriedades mecânicas da pele, em consequência, são prejudicadas, o que se traduz clinicamente como diminuição da elasticidade, ou extensibilidade cutânea, especialmente em cicatrizes hipertróficas^{35,36,34,37}.

Nas cicatrizes hipertróficas, observa-se acentuada redução no conteúdo de decorina, correspondendo a apenas 25% dos níveis encontrados na pele sã, enquanto biglicam e versicam, componentes presentes em menor quantidade na pele normal, são os principais componentes da matriz da cicatriz hipertrófica. Estes desequilíbrios do metabolismo dos proteoglicanos não são observados nas cicatrizes

maduras, não patológicas. O conteúdo de glicosaminoglicanas está aumentado 2,4 vezes, fator provavelmente relacionado ao aumento em 12% de água ^{38,39}.

O método da oscilação mecânica tecidual foi utilizado para avaliar as propriedades viscoelásticas do sistema músculo aponeurótico superficial (SMAS) em ritidoplastias ⁴⁰ bem como a análise do comportamento mecânico (resistência e elastância) do tecido pulmonar em diferentes doenças ^{41,42}. A elastância representa a medida da tendência do tecido de retornar às suas dimensões originais após a remoção de uma força distensora; a resistência do tecido denota a perda de energia causada pela oposição ao movimento.

1.3 Tretinoína

Processos biológicos vitais como visão, reprodução, metabolismo, diferenciação, desenvolvimento ósseo e embriogênese utilizam retinóides. Na literatura, o termo ácido retinóico foi utilizado como sinônimo da configuração ácido all-trans retinóico, atualmente conhecido como tretinoína ^{43,5}.

A tretinoína é uma molécula multi-funcional que regula direta ou indiretamente processos biológicos em diversos tipos celulares, ou seja, tem atividade pleotrófica. Na pele do indivíduo adulto, os eventos induzidos incluem a expansão da epiderme e a produção de nova matriz extracelular. Tanto a epiderme como a derme são órgãos-alvo independentes. As duas

populações celulares respondem com proliferação, crescimento e produção de fatores de crescimento ^{44,5}.

Existem diferentes tipos de receptores aos retinóides, com diferentes códigos genéticos correspondentes e funções. O termo retinóide é utilizado para qualquer molécula que, por si mesma ou após conversão metabólica, liga-se e ativa os receptores intranucleares específicos do ácido retinóico (RARs), descobertos em 1987, levando à transcrição de determinados genes que resultam em respostas biológicas específicas. Com a descoberta dos RARs e da transcrição de um fator protéico em resposta aos retinóides, acredita-se que seu mecanismo de ação seja semelhante ao dos hormônios esteróides e tireoideanos ^{45,5}.

A modulação da produção de colágeno pela tretinoína é um exemplo de ação direta dos retinóides. Identificou-se, no gene promotor do procolágeno dos fibroblastos, uma seqüência genética específica à qual se ligam fatores de transcrição produzidos pela ligação dos retinóides aos RARs, e este é um dos mecanismos de modulação da produção de colágeno ⁴⁶.

Além da ativação da transcrição nas regiões primárias dos genes, os retinóides atuam também inibindo a atividade de outros fatores de transcrição específicos. As interações são complexas e não completamente compreendidas ⁴⁷.

Nas células epidérmicas, mais de 40 genes têm sua expressão significativamente modificada pelos retinóides. Destes, podem ser citados fatores de crescimento epidérmico como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF - platelet derived growth factor) e o fator transformador de

crescimento beta (TGF- β), que, por sua vez, influenciam a síntese de colágeno pelos fibroblastos ⁴⁸.

Em modelos experimentais, o tratamento com tretinoína provoca aumento dos proteoglicanos, aumento de colágeno tipos I, III, VI e fibronectina na derme papilar, e colágeno tipo IV e laminina na membrana basal. Diferentes elementos da matriz são seletivamente estimulados ou modulados. O estímulo ao TGF- β , indiretamente, estimula a expressão gênica de vários componentes da matriz extracelular ⁴⁹.

O efeito do ácido all-trans retinóico mais bem documentado na literatura é o estímulo à proliferação e diferenciação dos queratinócitos da camada basal, levando à descamação e renovação do epitélio ^{50,45,51}.

A partir da década de 1960, a tretinoína foi utilizada em distúrbios da queratinização e, logo em seguida, demonstrou-se sua eficácia no tratamento da acne ^{52,45}, pois os retinóides tópicos apresentam atividade comedolítica e de normalização da descamação do epitélio folicular ^{53,54,47}. No final dos anos 1970, a tretinoína passou a ser utilizada no tratamento do fotoenvelhecimento, promovendo a diminuição de rugas finas e pigmentação em poucos meses de tratamento ^{52,45}.

Estudos multicêntricos demonstraram que o tratamento com creme de tretinoína a 0,05%, reduziu significativamente as rugas finas superficiais, melhorou a hiperpigmentação, a aspereza e a flacidez da pele após 24 semanas de tratamento ⁵⁵. Rugas finas diminuem com quatro meses de uso e continuam a melhorar progressivamente, sendo os efeitos duradouros ^{56,47}.

O ácido all-trans retinóico é o agente de uso tópico liberado para o tratamento do fotoenvelhecimento e que também atua na sua prevenção ⁵¹. Dentre os retinóides, a tretinoína é provavelmente a mais potente para o tratamento do fotoenvelhecimento. O uso diário de tretinoína a 0,05% em peles fotoenvelhecidas, por pelo menos seis meses, melhorou as atipias celulares epidérmicas e a deposição de colágeno dérmico, atenuando as rugas ⁵⁷.

Na pele humana fotoenvelhecida, além deste efeito sobre os queratinócitos da epiderme, observa-se compactação do estrato córneo, deposição de glicosaminoglicanos, aumento da espessura epidérmica, eliminação de displasias e atipias tais como queratoses actínicas microscópicas ^{58,59,60,61,57}, aumento da profundidade das cristas dermo-epidérmicas previamente retificadas ⁶² e diminuição ou dispersão dos grânulos de melanina. Parece também ativar melanócitos quiescentes, aumentando a atividade da tirosinase e a proliferação celular ⁶³. A tretinoína tópica aumenta, ainda, o fluxo sanguíneo cutâneo da pele tratada, sugerindo aumento de células endoteliais na pele, ou seja, angiogênese ⁶⁰.

Dentre os retinóides, a tretinoína é, certamente, a droga mais investigada para o tratamento do fotoenvelhecimento. No entanto, a dermatite por retinóides, caracterizada por irritação cutânea local, isto é, eritema, descamação, ressecamento e prurido, limita sua aceitação por parte de alguns pacientes. A reação é temporária, ocorrendo, geralmente, no primeiro mês de uso, e o tratamento consiste em diminuição da frequência de aplicação ou da dose e associação de emolientes ^{45,64}.

Em estudos experimentais, a aplicação de tretinoína em pele murina irradiada promoveu deposição de fibras elásticas, associada a menor tortuosidade das mesmas, melhorando as rugas dorsais ⁶⁵. Em ratos diabéticos, houve melhora na cicatrização de lesões após tratamento tópico com tretinoína ⁶⁶.

Trabalhos a respeito dos efeitos da tretinoína em seqüelas de queimaduras são pouco freqüentes. Em 1977, pacientes com cicatrizes hipertróficas ou queiloideanas foram tratados com solução de tretinoína 0,05% duas vezes por dia por três meses; 79% relataram melhora e 64% observaram melhora da coloração e diminuição da altura das cicatrizes ⁶⁷. Este mesmo protocolo foi utilizado para o tratamento de cicatrizes hipertróficas pós-cirúrgicas ou pós-queimaduras com melhora em 75% dos casos, caracterizada por clareamento, melhora da textura e diminuição da altura das cicatrizes ⁶⁸.

Aumento da elasticidade cutânea e melhora nas cicatrizes secundárias à acne foram descritos em um relato de caso de paciente com pigmentação racial, quatro meses após o uso diário de tretinoína 0,05% ⁵³. A aplicação de loção de tretinoína originalmente prescrita para acne sobre as cicatrizes do antebraço de um paciente em acompanhamento psiquiátrico promoveu clareamento e melhora das cicatrizes ocasionando, secundariamente, aumento da auto-estima ⁶⁹.

Pacientes com cicatrizes hipertróficas tratados com tretinoína por mais de seis meses apresentaram, histologicamente, diminuição da proliferação de fibras colágenas e aumento do espaço inter-fibrilar. Clinicamente, a

rigidez da cicatriz diminuiu ⁷⁰. Como os retinóides afetam o metabolismo do colágeno, pacientes tratados com tretinoína tópica a 0,05% por 12 semanas, apresentaram diminuição do volume e tamanho dos quelóides ⁷¹.

Objetivo

2. OBJETIVO

O presente estudo tem a finalidade de analisar mecânica e histologicamente o tegumento facial com seqüela de queimadura após tratamento tópico com tretinoína.

Métodos

3. MÉTODOS

Este trabalho, aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq – HCFMUSP), sob o protocolo de pesquisa número 515/05 (Anexo A), resultou de pesquisa conjunta entre o Serviço de Cirurgia Plástica e Queimaduras do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), o Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental da FMUSP (LIM 05).

Todos os participantes deste estudo receberam carta de informação em linguagem simples e clara (Anexo B), e assinaram o Termo de Consentimento Informado Livre e Esclarecido (Anexo C).

3.1 Casuística

Foi considerado de risco mínimo para os participantes, do tipo prospectivo e contou com a participação de 15 pacientes do sexo feminino, com idades variando entre 18 e 45 anos (média = 26,7), portadoras de seqüelas de queimadura facial por incandescência de álcool, restauradas espontaneamente, com mais de dois anos de evolução. Estas pacientes, cadastradas no Ambulatório de Seqüelas de Queimaduras do Serviço de

Cirurgia Plástica e Queimaduras do HCFMUSP, foram atendidas entre setembro de 2005 e março de 2007.

Os critérios de exclusão adotados foram: pacientes submetidas a tratamentos prévios não invasivos (tópicos) ou invasivos (injeções intralesionais, cirurgias, laser), portadoras de cicatrizes quelóideanas ou enxertos cutâneos na face, gestantes ou lactantes, tabagistas, portadoras de doenças sistêmicas (ex: hipertensão arterial, *diabetes mellitus*) ou pacientes que tinham sido submetidas à administração prévia de corticoesteróides sistêmicos.

3.2 Protocolo de estudo

Em entrevista inicial, foi solicitado ao grupo de voluntárias que respondessem a um questionário contendo dados sócio-demográficos, características clínicas, história de doenças sistêmicas, presença de alergias, tabagismo e histórico da queimadura como data do acidente, agente causador, áreas queimadas e tratamentos invasivos ou não invasivos realizados previamente. As respostas obtidas serviram de base para a formação do grupo de estudo (Anexo D).

Na etapa inicial realizou-se documentação fotográfica da face nas posições de frente e perfil. A seguir, foram fornecidos a todas as pacientes, sem qualquer ônus, frascos de formulação tópica contendo ácido retinóico na concentração de 0,05% para utilização noturna, domiciliar e diária,

durante o período de um ano, em toda a face, exceto na região pré-auricular afetada, direita ou esquerda (Figura 1).

Figura 1. Fotografia ilustrativa do perfil da face, demonstrando a área na região pré-auricular que não deveria ser tratada com tretinoína tópica.

As pacientes foram orientadas a retornar ao ambulatório semanalmente durante o primeiro mês de tratamento, com o intuito de averiguar a existência de complicações cutâneas precoces, tais como, hiperemia, ressecamento, prurido ou descamação.

As consultas subseqüentes foram agendadas a intervalos de dois meses até o período de um ano. Em cada uma destas ocasiões, as

pacientes deveriam retornar os frascos vazios e recebiam novo frasco de produto contendo formulação idêntica à original; eram também avaliadas com relação à existência de complicações tardias, tais como, hiperpigmentação ou aumento de teleangiectasias.

Após um ano do início do tratamento tópico com ácido retinóico a 0,05%, foi realizada nova documentação fotográfica, e as pacientes foram submetidas a biópsias faciais de tegumento não tratado (região pré-auricular) e tratado.

O material coletado foi enviado para análise mecânica de resistência (R) e elastância (E) em equipamento de análise de mecânica tecidual e depois processado para a análise histológica das fibras colágenas totais e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam.

Todas as etapas deste estudo foram realizadas ou assistidas pelo mesmo pesquisador.

3.2.1 Tratamento tópico

As pacientes foram orientadas a iniciar o tratamento higienizando a face com sabonete neutro. A seguir, aplicar delicadamente, uma medida (4 gotas) de formulação contendo ácido retinóico 0,05%, em solução hidro-alcoólica, proveniente de farmácia de manipulação* (Anexo E), uma hora antes de dormir.

* RC Farmácia Dermatológica, São Paulo, Brasil.

Este produto de utilização noturna, domiciliar e diária, era aplicado em toda a face, com exceção da região pré-auricular direita ou esquerda, durante um ano. Pela manhã, o rosto era lavado com o mesmo agente de higienização previamente descrito.

Todas foram orientadas a se proteger dos raios solares por meio de proteção mecânica como chapéus de abas largas e guarda-chuvas.

3.2.2 Biópsia do tegumento restaurado não tratado e tratado

Após um ano do início do tratamento, as pacientes foram submetidas a biópsias cutâneas, realizadas nas dependências do Ambulatório de Cirurgia Plástica e Queimaduras do Hospital das Clínicas da FMUSP. Os fragmentos de tegumento restaurado não tratado (região pré-auricular), medindo aproximadamente 11,0 x 5,0 x 5,0 mm (comprimento x largura x profundidade), foram coletados por exérese incisional fusiforme, realizada sob anestesia local injetável com lidocaína a 2% sem vasoconstrictor. A área cruenta resultante foi suturada com pontos separados, através do uso de fios de náilon monofilamentar 5.0. O procedimento foi finalizado utilizando-se curativo com gaze seca e fita adesiva.

A biópsia do tegumento restaurado tratado foi realizada aproximadamente um centímetro abaixo do lóbulo da orelha do lado afetado, obedecendo-se aos mesmos critérios e parâmetros acima descritos (Figura 2). Finalizado o procedimento as pacientes foram orientadas a retornar sete dias após para a retirada dos pontos.

Figura 2. Fotografia das regiões faciais submetidas à biópsia: seta vermelha indica a região pré-auricular direita, região de tegumento restaurado não tratado com tretinoína tópica, após realização de biópsia; seta azul indica a demarcação da área de tegumento restaurado tratado, que seria submetido à biópsia.

3.2.3 Análise mecânica

Para a análise mecânica do tegumento facial, o material coletado nas biópsias foi seccionado em fragmentos de 10,0 x 2,0 x 2,0 mm (comprimento x largura x profundidade), pesados em balança de precisão* (mg) e o comprimento de repouso foi registrado com uso de paquímetro** (mm) (Figura 3).

* Balança de precisão AG 204 METTLER TOLEDO, Alphaville Barueri, Brasil.

** Paquímetro MITUTOYO. Mitutoyo Sul Americana Ltda., Suzano, SP, Brasil.

Figura 3. A - Visualização da pesagem do fragmento de tegumento restaurado, coletado por biópsia, em balança de precisão (mg) e **B** - visualização da medida do comprimento de repouso do fragmento de tegumento restaurado, coletado por biópsia, com paquímetro (mm).

As extremidades superior e inferior do fragmento de tegumento foram coladas com cianoacrilato em pinças de metal e suspensas em frasco que mantinha o tecido dentro de um banho orgânico contendo solução de Krebs (37°C , $\text{pH}=7,4$). A extremidade superior do fragmento foi ligada ao transdutor de força, e a extremidade inferior, ao braço oscilatório de controle das alterações de comprimento (L) que foi, por sua vez, conectado ao gerador que controlava a frequência, a amplitude e a forma de onda das oscilações, e encaminhava os dados para um computador utilizado no cálculo da resistência e elastância (Figuras 4 e 5).

Figura 4. Equipamento utilizado na análise da mecânica tecidual onde 1: aquecedor e circulador de água, 2: frasco para banho orgânico, transdutor de força e braço oscilatório, 3: geradores de frequência, 4: computador utilizado no cálculo de resistência e elastância.

Figura 5. Esquema do estudo da mecânica tecidual. Fragmentos de tegumento restaurado, suspensos em banho orgânico (solução de Krebs), foram conectados a um transdutor de força e a um braço oscilatório de controle das alterações de comprimento.

A tensão de repouso (T) foi obtida pela movimentação de um parafuso de microscópio adaptado ao equipamento que realizava lentos deslocamentos verticais do transdutor de força. As medidas de força e comprimento foram anotadas e gravadas em computador com programa compatível.

Os fragmentos foram estirados por ciclos lentos de tensão de 1 a 2 g por três vezes e, após o terceiro ciclo, mantidos sob tensão de 1g no banho orgânico contendo solução de Krebs aerada com 95% de oxigênio e 5% de gás carbônico por 50 minutos, para permitir relaxamento da tensão. Durante este tempo, a solução de Krebs foi trocada por três vezes, a cada quinze minutos. A frequência de oscilação foi de 0,1 Hz, isto é, seis excursões por minuto e a amplitude foi de 1% do comprimento de repouso. Após estes 50 minutos, a tensão final de repouso foi de, aproximadamente, 0,8g. Medidas obtidas foram então registradas durante dez minutos em um computador utilizado no cálculo de resistência e elastância.

A resistência e a elastância do tecido foram estimadas pela equação (1):

$$T = E\Delta l + R (\Delta l / \Delta t) + K \quad (1)$$

em que T = tensão, E= elastância, l = comprimento, R= resistência, $\Delta l/\Delta t$ = variação de comprimento por unidade de tempo, e K, uma constante que reflete a tensão de repouso.

Os resultados foram corrigidos para a área de cada fragmento. A área de secção transversal (A_o) do fragmento foi obtida pela fórmula (1):

$$A_o \text{ (cm}^2\text{)} = W_o / (\rho \times L_r) \quad (1)$$

em que ρ é a densidade de massa do tecido adotada como $1,06\text{g cm}^3$, W_o é o peso de material úmido em gramas e L_r é a tensão em repouso em centímetros. Os valores de R e E foram multiplicados por L_r / A_o .

3.2.4 Análise histológica

a) Análise descritiva

Após a oscilação mecânica, os fragmentos foram fixados em formalina a 10% durante 48 horas e preservados em blocos de parafina para a análise histológica.

Cortes de cinco micra de espessura dos fragmentos preservados em parafina foram corados com hematoxilina-eosina para análise geral das estruturas dos tecidos e coloração de Picro-Sirius e Resorcina-Fucsina, para a avaliação de fibras colágenas totais e fibras elásticas, respectivamente. Os mesmos fragmentos foram submetidos a estudo imunohistoquímico para análise de fibras de colágeno tipo III e versicam.

Para a análise imunohistoquímica, os blocos foram desparafinizados, hidratados e submetidos ao bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada (10 volumes; 3%). A seguir as lâminas foram lavadas com água corrente e *phosphate buffer saline* (PBS). A recuperação do antígeno foi obtida com tripsina por 20 minutos e, após este período, procedeu-se nova lavagem das lâminas com PBS. Os cortes foram então incubados com os

anticorpos primários para Versicam (anti-human versican)^a ou para colágeno III (calbiochem)^b. Realizou-se, então, nova lavagem com PBS e nova incubação com anticorpo secundário (LSAB)^c, em estufa a 37°C. Após esta etapa, as lâminas foram lavadas em PBS e seguiu-se a revelação pelo cromógeno 3,3 Diaminobenzidine (DAB)^d. As lâminas foram então lavadas abundantemente em água corrente e contra-coradas com Hematoxilina de Harris^e. Em seguida, foram lavadas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e montadas com resina para microscopia Entellan^f.

b) Análise quantitativa (de imagem)

A quantificação dos elementos da matriz extracelular foi realizada no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental (LIM-05) do Departamento de Patologia da FMUSP utilizando-se um analisador de imagens. As medidas foram obtidas a partir do programa de computador Image-Pro[®] Plus 4.1 para Windows[®] * instalado em um computador tipo IBM conectado a uma câmera de vídeo digital** que capturava imagens de um microscópio óptico*** (Figura 6).

^a Seikagaku Corporation, código 270428, Tóquio, Japão.

^b código CP19L, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha.

^c DakoCytomation, código K0690, Carpinteria, EUA.

^d Dako K 3468, Carpinteria, EUA.

^e Merck, Darmstadt, Alemanha.

^f Merck, Darmstadt, Alemanha.

* Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA.

** JVC TK-C1380 Color Video Camera, Victor Company of Japan Limited, Japão.

*** Leica DMR, Leica Microsystems, Wetzlar GmbH, Alemanha.

Figura 6. Fotografia do microscópio óptico conectado à câmera digital e acoplado ao computador para análise quantitativa dos elementos da matriz extracelular.

Para a análise quantitativa de fibras colágenas totais e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam nas regiões superficial, média e profunda da derme, cada lâmina foi subdividida didaticamente em quinze campos de aumento (40x), sendo cinco campos para a região superficial da derme e que incluíam a membrana basal e a epiderme, cinco campos para a região média e cinco campos para a região dérmica profunda. Os campos mantinham uma distância de cinco milímetros entre eles, tanto na posição vertical quanto na horizontal (Figura 7).

Figura 7. Fotomicrografia de tegumento restaurado não tratado com tretinoína tópica, em aumento de 40x do microscópio óptico, onde se observa reação imunohistoquímica para coloração das fibras de colágeno tipo III, coradas em marrom, visualizando-se a subdivisão das regiões dérmicas em 15 campos de análise.

Para se determinar a densidade das estruturas dérmicas analisadas em cada campo, utilizou-se um aplicativo do analisador de imagem denominado *color cube*. Este aplicativo realizava medidas graças às diferenças de cor da amostra, calculando um parâmetro baseado em uma tonalidade de cor definida pelo usuário. Para cada estrutura analisada um padrão de cor foi previamente estabelecido e este padrão foi o mesmo utilizado em todas as medidas.

O programa de computador permitiu, ainda, escolher a região onde a medida deveria ser realizada, denominada área de interesse. Assim, as áreas de interesse foram manualmente determinadas em cada campo, na

região da transição entre epiderme e derme e nas regiões mais profundas da derme.

A densidade de cada uma das estruturas dérmicas selecionadas, ou seja, fibras colágenas totais, fibras elásticas, fibras de colágeno tipo III ou versicam, foi determinada pela área de interesse, isto é, área de cada uma destas estruturas, dividida pela área total do tecido em cada campo (figura 9). As medidas foram expressas em porcentagem.

Figura 8. Demonstração do método de análise de imagem onde se observa a quantificação da densidade de fibras colágenas tipo III na região superficial da derme. **A:** fotomicrografia de tegumento restaurado não tratado com tretinoína tópica, em aumento de 40x do microscópio óptico, com fibras de colágeno III coradas em marrom (seta 1); **B:** marcação da área de fibras de colágeno tipo III em cor azul (seta 2) e **C:** marcação da área total em cor lilás (seta 3). Determina-se a densidade das fibras de colágeno tipo III neste campo de análise dividindo-se a área da figura 8B pela área da figura 8C.

As análises histológicas descritivas e quantitativas foram realizadas pelos pesquisadores sem conhecimento prévio do grupo analisado (não tratado ou tratado com tretinoína tópica).

3.3 Análise estatística

A análise dos dados demográficos foi realizada utilizando-se estatística descritiva com média (M) e desvio padrão (DP) para as variáveis numéricas. Na complementação da análise descritiva, aplicou-se a técnica de intervalo de confiança para média.

Para verificação estatística do efeito do tratamento utilizou-se o teste de Wilcoxon. Este teste não paramétrico é utilizado para comparar as variáveis duas a duas.

Os dados foram apresentados por média e intervalo de confiança. O nível de significância estabelecido para todas as análises foi de 5% ($p < 0.05$).

Resultados

4. RESULTADOS

4.1 Casuística

A duração do estudo foi de 18 meses, concluído em março de 2007; a adesão das pacientes foi de 100%, ou seja, todas completaram o tratamento.

4.2 Tratamento tópico e biópsia de tegumento restaurado

As pacientes retornaram ao ambulatório, semanalmente, durante o primeiro mês de tratamento para análise da presença de possíveis complicações precoces e a cada dois meses de tratamento para análise da presença de possíveis complicações tardias (Tabelas 1 e 2). De um total de 15 pacientes, cinco apresentaram complicações precoces e quatro apresentaram complicações tardias, sendo uma decorrente da realização da biópsia na região pré-auricular.

Tabela 1. Complicações precoces apresentadas pelas pacientes após início do tratamento tópico com tretinoína.

Complicações precoces	Número de pacientes (n=15)
Hiperemia	2
Ressecamento	-
Prurido	1
Descamação	2
Total	5

Tabela 2. Complicações tardias apresentadas pelas pacientes após tratamento tópico com tretinoína e após a realização das biópsias.

Complicações tardias	Número de pacientes (n=15)
Aumento de teleangiectasias	1
Hiperpigmentação	3
Cicatriz quelóideana na incisão da biópsia da região pré-auricular	1
Total	4

4.3 Mecânica tecidual

Houve diminuição, estatisticamente significativa, nos valores de resistência ($p = 0,003$) e elastância ($p = 0,047$) das regiões tratadas quando comparadas às não tratadas. Na tabela 3 e nas figuras 9 e 10, estão demonstrados os valores de resistência (R) e elastância (E) dos tegumentos restaurados não tratados e tratados com tretinoína tópica.

Tabela 3. Valores de resistência e elastância dos tegumentos restaurados não tratados (NT) e tratados (T) com tretinoína tópica.

Mecânica	Resistência ($\times 10^3 \text{ N.s/m}^2$)		Elastância ($\times 10^3 \text{ N/m}^2$)	
	NT	T	NT	T
Média	56,4	24,9	138,6	94,4
IC*	59,1	15,2	118,7	57,3
Mediana	24,3	14,1	70,9	56,9
p-valor	0,003*		0,047*	

*Intervalo de confiança

Figura 09. Gráficos dos valores de resistência das regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína, no qual se observa diminuição de, aproximadamente, 44% nos valores de resistência no tegumento tratado ($p=0,003$).

Figura 10. Gráficos dos valores de elastância das regiões não tratadas e tratadas topicamente com tretinoína, no qual se observa diminuição de, aproximadamente, 68% nos valores de elastância no tegumento tratado ($p=0,047$).

4.4 Histologia descritiva e quantitativa

Em linhas gerais, a análise histológica descritiva do tegumento tratado topicamente com tretinoína apresentou aspecto semelhante ao não tratado, não sendo possível a identificação de diferenças específicas após o tratamento (Figuras 11, 12, 14, 16 e 18). Na análise histológica quantitativa também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em nenhuma das estruturas dérmicas estudadas, ou seja, fibras colágenas totais e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam, nos dois locais de avaliação (região de tegumento não tratado e tratado) e nas diferentes regiões dérmicas, isto é, superficial, média e profunda (Figuras 13,15,17 e 19).

Nos cortes histológicos submetidos a coloração de hematoxilina-eosina, a epiderme do tegumento tratado topicamente pela tretinoína não demonstrou alterações significativas em relação ao tegumento não tratado. Quanto à derme, constituída quase na sua totalidade por matriz extracelular densa, de aspecto fibroso e por vezes com a formação de nódulos cicatriciais, observou-se a mesma escassez de anexos dérmicos tanto no tegumento tratado quanto no não tratado com tretinoína (Figura 11).

Figura 11. Fotomicrografias de tegumento restaurado coradas com hematoxilina-eosina (HE) no aumento de 40x, em microscópio óptico, onde não se observam alterações significativas tanto na epiderme quanto na derme do tegumento não tratado com tretinoína tópica (A) em relação ao tratado (B). Região 1= epiderme, região 2= membrana basal e região 3 = derme.

Nas lâminas submetidas a coloração de Picro-Sirius, foi possível observar impregnação difusa das fibras colágenas totais da derme, coradas em vermelho, formando feixes densos de fibras sem orientação espacial definida, presentes tanto no tegumento não tratado quanto no tratado com tretinoína tópica (Figura 12). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na densidade das fibras colágenas totais nas três regiões dérmicas: superficial, média e profunda analisadas como um grupo único ou separadamente, tanto no tegumento não tratado como no tratado com tretinoína tópica (Figura 13).

Figura 12. Fotomicrografias de tegumento restaurado, com aumento de 40x, em microscópio óptico, cujas fibras colágenas totais (C) foram coradas em vermelho, pela coloração de Picro-Sirius. Não foram observadas diferenças nestas fibras nas diferentes regiões dérmicas, tanto no tegumento não tratado (A) quanto no tratado (B) com tretinoína tópica.

Figura 13. Gráficos das análises quantitativas das fibras colágenas totais onde se observa ausência de diferença estatisticamente significativa na densidade destas fibras nos locais não tratado e tratado com tretinoína tópica, nas três regiões dérmicas: superficial, média e profunda analisadas como um grupo único ou separadamente.

Na análise das lâminas submetidas à coloração de Resorcina-Fucsina, foram observadas fibras elásticas, coradas em preto, dispostas entre a matriz de colágeno em quantidades variáveis e sem arranjo espacial definido, tanto no tegumento não tratado quanto no tratado com tretinoína tópica (Figura 14). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na densidade das fibras elásticas nas três regiões dérmicas analisadas como um grupo único ou separadamente, tanto no tegumento não tratado como no tratado com tretinoína tópica (Figura 15).

Figura 14. Fotomicrografias de tegumento restaurado, com aumento de 40x, em microscópio óptico, cujas fibras elásticas (E) foram coradas em preto, pela coloração de Resorcina-Fucsina. Não foram observadas diferenças nestas fibras nas diferentes regiões dérmicas, tanto no tegumento não tratado (A) quanto no tratado (B) com tretinoína tópica.

Figura 15. Gráficos das análises quantitativas das fibras elásticas onde não se observa diferença estatisticamente significativa na densidade destas fibras nos locais não tratado e tratado com tretinoína tópica, nas três regiões dérmicas: superficial, média e profunda analisadas como um grupo único ou separadamente

Nas lâminas submetidas à reação imunohistoquímica para coloração das fibras de colágeno tipo III, foi possível observar que estas fibras se distribuem difusamente na região subepitelial, ou seja, derme superficial, estando presentes em pequena quantidade nas regiões nodulares. No restante da derme se apresentam em quantidades e orientações variáveis tanto no tegumento não tratado quanto no tratado com tretinoína tópica (Figura 16). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na densidade das fibras de colágeno tipo III nas diferentes regiões dérmicas analisadas como um grupo único ou separadamente e nos dois locais de tegumento restaurado: não tratado e tratado com tretinoína tópica (Figura 17).

Figura 16. Fotomicrografias de tegumento restaurado, em aumento de 40x do microscópio óptico onde se observa reação imunohistoquímica, anticorpo específico, para as fibras de colágeno tipo III (**CIII**), coradas em marrom, visualizando-se em A: tegumento não tratado, B: tegumento tratado com tretinoína tópica, C: controle negativo da reação imunohistoquímica e D: controle positivo da reação imunohistoquímica em corte histológico de pulmão.

Figura 17. Gráficos das análises quantitativas das fibras de colágeno tipo III onde se observa ausência de diferença estatisticamente significativa na densidade destas fibras nos locais não tratado e tratado com tretinoína tópica, nas três regiões dérmicas: superficial, média e profunda analisadas como um grupo único ou separadamente.

Na análise das lâminas submetidas à reação imunohistoquímica para coloração do versicam, foi possível observar que, no tegumento restaurado, este proteoglicano se distribui em quantidades variáveis entre as fibras colágenas, apresentando densidade diminuída nas regiões cicatriciais nodulares tanto no tegumento não tratado quanto no tratado com tretinoína tópica (Figura 18). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na densidade de versicam nas três regiões dérmicas analisadas como um grupo único ou separadamente, tanto no tegumento não tratado como no tratado com tretinoína tópica (Figura 19).

Figura 18. Fotomicrografias de tegumento restaurado, em aumento de 40x do microscópio óptico onde se observa reação imunohistoquímica, anticorpo específico, para versicam (V), corado em marrom, visualizando-se em A: tegumento não tratado, B: tegumento tratado com tretinoína tópica, C: controle negativo da reação imunohistoquímica e D: controle positivo da reação imunohistoquímica em corte histológico de pulmão.

Figura 19. Gráficos das análises quantitativas de versicam onde não se observa diferença estatisticamente significativa na densidade deste proteoglicano nos locais não tratado e tratado com tretinoína tópica, nas três regiões dérmicas: superficial, média e profunda analisadas como um grupo único ou separadamente.

Discussão

5. DISCUSSÃO

A procura pelo tratamento cutâneo é significativa entre os pacientes portadores de seqüelas de queimaduras. Entre outras funções, a pele é órgão de comunicação, sendo vital na percepção do indivíduo dos limites de seu organismo e de sua imagem corporal. Vítimas de queimaduras faciais convivem com seqüelas que, em geral, diminuem a auto-estima e a qualidade de vida devido à alteração da imagem corporal. A melhora da qualidade da pele, em especial a da face, pode contribuir para a reintegração social dos pacientes ^{69,3,2}.

O cirurgião plástico é solicitado para realizar tratamentos cirúrgicos e complementares visando à melhora da aparência ^{1,2,72} e o retorno do paciente ao convívio social e ao mercado de trabalho visto que as principais barreiras para o não retorno ao trabalho são as habilidades físicas perdidas, as condições de trabalho e os fatores psicossociais como problemas com relação à aparência ⁷³.

Na busca incessante de tratamentos mais eficazes e resultados tardios satisfatórios para pacientes com seqüela de queimaduras, desenvolveu-se linha de pesquisa específica, visando criar alternativas para melhoria da aparência, buscando melhor reintegração deste paciente na sociedade. Optou-se pelo tratamento da face e não de outro segmento corporal por ser referente a esta a principal queixa dos pacientes, em razão da exposição da face, tornando difícil a camuflagem.

Este estudo dá continuidade a linha de pesquisa cuja publicação prévia foi em pacientes com seqüela de queimadura na região perioral tratados com a associação tópica de tretinoína e ácido glicólico, que apresentaram aumento significativo na abertura bucal após o tratamento, sugerindo melhora na distensibilidade dos tecidos. Estes achados foram obtidos por meio de medidas de abertura bucal realizadas com paquímetro digital ¹¹.

O presente estudo procurou demonstrar, de maneira objetiva, possíveis alterações no tegumento restaurado tratado com tretinoína tópica por meio de análise da mecânica tecidual e da histologia; no entanto, na literatura indexada pesquisada até o momento, não foram encontrados estudos semelhantes que pudessem ser comparados a este, demonstrando a originalidade da pesquisa. Por este motivo, muitas das correlações utilizadas, foram baseadas em resultados obtidos em pele não-cicatricial ou em cicatrizes excessivas.

O objetivo, com relação à seleção de pacientes, foi o de formar um grupo com características semelhantes, onde possíveis alterações mecânicas ou histológicas do tegumento restaurado pudessem ser creditadas ao tratamento tópico com tretinoína.

Foram selecionadas apenas pacientes do sexo feminino, pois as mulheres representaram a maioria dos pacientes tratados no ambulatório de seqüelas de queimaduras faciais. Pacientes do sexo masculino dispõem de maiores recursos para a camuflagem da face como barba e bigode.

Foram excluídas pacientes em que as alterações hormonais da menopausa pudessem alterar as características do tegumento. É sabido que

a atividade dos fibroblastos, células produtoras de colágeno, está intimamente relacionada aos estrógenos que diminuem nesta fase da vida ⁷⁴. A redução da espessura dérmica decorre da diminuição do número de fibroblastos e de sua capacidade de biossíntese resultando em retardo no processo de cura. O colágeno, que por sua vez, corresponde à principal molécula associada ao turgor, elasticidade e resistência da superfície cutânea, encontra-se também diminuído em quantidade⁷⁵.

Pacientes com queimaduras faciais, por incandescência de álcool, foram selecionadas por serem mais freqüentes no ambulatório. Análises epidemiológicas demonstraram que o álcool é o agente etiológico mais freqüente dentre os acidentes domésticos e ocupacionais em homens ^{76,77} e que a face, as mãos e os membros inferiores são as áreas mais comumente afetadas nos acidentes com líquidos inflamáveis ⁷⁸.

No presente estudo, restringiu-se a análise às pacientes com queimadura facial com mais de dois anos de evolução, visto que as alterações dos elementos cutâneos persistem por até dois anos e depois observa-se involução espontânea devido à maturação do tegumento ^{35,37,79,80,24,4}. Foram selecionadas apenas pacientes com tegumento restaurado, ou seja, formado por tecido conjuntivo jovem, diferente do tecido de granulação, sem formação de cicatriz, preservando as estruturas dermo-epidérmicas e mantendo as funções de pele em graus variados ³².

Excluiu-se pacientes submetidas a tratamento tópico prévio, visto que os agentes utilizados para estes fins têm, comprovadamente, múltiplos efeitos biológicos na pele, tanto na epiderme quanto na derme, promovendo

alterações de seus componentes em graus variáveis. O ácido ascórbico, por exemplo, modifica as fibras colágenas por participar da hidroxilação da prolina⁸¹.

Pacientes submetidas a infiltrações intra-lesionais não foram selecionadas, pois estas poderiam alterar elementos da matriz extracelular. A droga mais utilizada para aplicação intra-lesional é a triancinolona que promove inibição da síntese de glicosaminoglicanos pelos fibroblastos, levando à diminuição da viscosidade e volume das lesões^{36,82}.

A possibilidade de atuação farmacológica no processo de cicatrização é estudada há anos^{83,84,85}. Cicatrizes maduras ou hipertróficas podem ser melhoradas com a aplicação de agentes de uso tópico como os esteróides⁸⁶. A terapia tópica em pacientes com seqüela de queimaduras tende a aumentar à medida que novos produtos são desenvolvidos⁸⁰. Os fundamentos deste tipo de procedimento, que visa à melhora estética da pele queimada são: fotoproteção, melhoria de alterações pigmentares, redução nos processos cicatriciais, esfoliação, modulação da diferenciação celular, imunoproteção, hidratação, aumento da elasticidade e melhora da textura cutânea⁸⁷.

A tretinoína é o fármaco de uso tópico mais estudado na literatura indexada e por este motivo foi selecionada para esta linha de pesquisa. Tem diversas indicações clínicas, tais como, fotoenvelhecimento, acne, distúrbios da queratinização e pigmentação^{37,45}. Atua principalmente na derme, modulando a síntese de matriz extracelular^{60,61}.

Por ser fotolábil, a tretinoína é de aplicação preferencialmente noturna⁵². Assim sendo, neste estudo, as pacientes deveriam aplicar a tretinoína na face uma hora antes de deitar. Não deveriam aplicá-la apenas na região pré-auricular, direita ou esquerda, conforme o lado da face queimado.

A não utilização de fotoprotetores químicos neste estudo foi motivo de muita discussão entre os pesquisadores, pois as pacientes ficariam mais susceptíveis a discromias, principalmente, hiperpigmentações. É sabido que a tretinoína pode aumentar o número de melanócitos ativados na epiderme em duas a três vezes e torná-los mais sensíveis à irradiação ultra-violeta B (UVB), induzindo melanogênese. Parece também ativar melanócitos quiescentes, aumentando a atividade da tirosinase e a proliferação celular⁶³. Com o intuito de retirar a interferência causada pela associação entre o ácido retinóico e o fotoprotetor nos resultados obtidos, as pacientes foram, enfaticamente, orientadas a não se exporem ao sol. Caso isso fosse necessário, deveriam se proteger utilizando fotoproteção mecânica como chapéus de abas largas e guarda-chuvas, além de caminharem em locais sombreados.

Em modelos experimentais de fotoenvelhecimento, notou-se que as alterações histológicas observadas na pele tratada com tretinoína são tempo-dependentes. Nos primeiros meses, a melhora das rugas finas e da textura cutânea correlacionava-se com o aumento de glicosaminoglicanos e compactação do estrato córneo. Um ano após iniciado o tratamento, foi observado aumento na síntese de colágeno e elastina, componentes da matriz extracelular. Após 24 meses de tratamento, a organização

progressiva do colágeno persistia, bem como, a diminuição da elastose ⁶⁰. Nas pacientes do estudo, optou-se pela realização das biópsias faciais após um ano de tratamento tópico com tretinoína, para que as possíveis alterações dérmicas pudessem ser detectadas. Por se tratar de biópsias faciais, eticamente, as pacientes não poderiam ser submetidas a múltiplas retiradas de fragmentos tegumentares.

A concentração de ácido retinóico em produtos domiciliares pode variar de 0,01 a 0,1% e a dose ideal para cada paciente deve ser titulada de acordo com o grau de reação cutânea ⁴⁵. Diversos estudos com tretinoína tópica utilizam concentração de 0,05 % ^{67,68,53}. Este estudo dá continuidade a linha de pesquisa cuja publicação prévia em pacientes com seqüela de queimadura na região perioral, também utilizou tretinoína a 0,05 % ¹¹.

A aplicação tópica da tretinoína afeta o crescimento e a diferenciação celular de queratinócitos, além de alterar sua coesividade. Na derme, estimula diversas vias de síntese protéica na matriz extracelular, aumento de fibras colágenas totais, de colágeno tipo III e elásticas, e da angiogênese ⁸⁸. As fibras colágenas são responsáveis pela força tênsil dos tecidos conectivos e as fibras elásticas têm a função de retornar a rede de colágeno deformada por forças de tração à condição de relaxamento prévio; se forem lesadas, há perda da elasticidade ⁴⁵. Com o intuito de verificar alguns dos efeitos da tretinoína tópica descritos na literatura, foram realizadas análises mecânicas e histológicas descritivas e quantitativas de elementos dérmicos, tais como, fibras colágenas e de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam.

Durante o processo de reparo da ferida, fibras de colágeno tipo III começam a surgir entre o segundo e o terceiro dias, seguidas das de colágeno tipo I, que aparecem entre o sexto e o sétimo dias ⁸⁹. A quantidade total de fibras de colágeno tipo I e III aumenta com o passar do tempo, porém a proporção entre elas não é constante. Essa proporção varia de 60% de colágeno tipo III na primeira semana após o trauma para 28% em cicatrizes maduras ⁹⁰. Essa variação nas concentrações de colágeno tipo I e III tende a diminuir, gradativamente, até atingir a proporção normal em, aproximadamente, dois anos ^{91,92,93,94}.

O versicam isolado originalmente de fibroblastos é expresso também por queratinócitos, células musculares lisas de veias, cérebro e células mesangiais dos rins ⁹⁵. Apresenta, ligado ao corpo protéico, entre 12 e 15 cadeias de condroitim sulfato e dermatam sendo, portanto, um proteoglicano de alto peso molecular ^{39, 38} que participa da adesão célula-célula e célula-matriz extracelular ⁹⁶. Estudando a distribuição tecidual, verificou-se a presença de versicam no tecido conectivo frouxo de diversos órgãos e associado a redes de fibras elásticas ⁹⁷. O versicam é pouco detectável na derme humana normal, mas encontra-se aumentado em tegumento pós-queimaduras e muito aumentado em cicatrizes hipertróficas ³⁴; no entanto não foi possível demonstrar este aumento no presente estudo.

O efeito adverso mais comum da tretinoína tópica é a irritação cutânea local temporária ou “dermatite por retinóides” caracterizada por eritema, descamação, ressecamento e prurido ^{98,45}. Estes efeitos ocorrem principalmente nos primeiros dias ou semanas de tratamento e podem ser

minimizados ou evitados com a utilização de hidratantes e com a introdução gradual à terapia tópica ⁹⁹. Neste estudo, quatro pacientes apresentaram dermatite por retinóides, mas não houve necessidade da interrupção do tratamento, pois os efeitos colaterais foram temporários. Não se utilizou qualquer tipo de hidratação, para evitar interferências com a terapêutica tópica.

O tempo de adaptação ao uso de retinóides é de aproximadamente três meses. Efeitos adversos do uso prolongado da tretinoína incluem hiperpigmentação e aumento de teleangiectasias ^{100,52,101} que também foram observadas. Finalizado o estudo, as pacientes com hiperpigmentação foram submetidas a tratamento complementar com clareadores e verificou-se significativa melhora. Foi suspenso o tratamento com tretinoína da paciente que apresentou aumento de teleangiectasias devido ao maior fluxo sangüíneo cutâneo que este agente de uso tópico promove ⁶⁰. Para a paciente que evoluiu com cicatriz quelóideana na incisão da biópsia na região pré-auricular, foram realizadas três sessões de infiltração intralesional de triancinolona, com diminuição do volume da cicatriz e melhora do prurido local.

A manutenção dos efeitos benéficos do tratamento tópico é conseguida com a adesão prolongada ao tratamento e aplicação diária regular de tretinoína. A boa relação médico-paciente é importante para se obter o melhor resultado do método, dentro de suas limitações ³⁷. Este fato foi observado no presente estudo onde a adesão ao tratamento foi de 100% e

não houve perdas durante o período de análise, refletindo uma boa interação entre a equipe médica e as pacientes.

Com o intuito de testar o equipamento de mecânica tecidual para pele humana e verificar se o transdutor de força, previamente utilizado para outros tecidos como parênquima pulmonar, anéis de traquéia e vasos sanguíneos, suportava o peso da pele e calculava sua resistência e elastância, procedeu-se a um estudo piloto antes da realização da pesquisa principal com tegumento restaurado.

Cinco pacientes do sexo feminino, com idades variando entre 49 e 60 anos, com flacidez cutânea facial, não portadoras de doenças sistêmicas (ex: hipertensão arterial, *diabetes mellitus*) e não tabagistas foram submetidas à ritidoplastia. O excesso cutâneo removido normalmente da região pré-auricular das pacientes, foi cortado em fragmentos de 10,0 x 2,0 x 2,0 mm (comprimento x largura x profundidade) pesados em balança de precisão (mg) e o comprimento de repouso foi registrado com uso de paquímetro (mm). Foram realizadas análises de resistência e elastância da mesma maneira descrita previamente neste estudo e cujos resultados encontram-se no Apêndice 2.

Finalizado o estudo piloto, concluiu-se que o método da oscilação mecânica tecidual poderia ser utilizado também para a análise de tegumento restaurado, visto tratar-se de método já validado e com estudos realizados principalmente na área de patologia pulmonar.

Diversos estudos abordando as propriedades das cicatrizes ou seqüelas cicatriciais pós-queimaduras caracterizam o tegumento

qualitativamente pela coloração, textura, flexibilidade ou espessura; porém, poucos são os estudos que analisam as propriedades mecânicas da pele, de maneira objetiva ^{35,37}. Aparelhos como o extensômetro linear ou o aparelho para medição da elasticidade cutânea por sucção foram utilizados previamente ³⁶, mas o custo elevado destes equipamentos impossibilitou sua aquisição.

Devido a escassez de material científico na literatura indexada com o qual se pudesse comparar este estudo, uma discussão a respeito da mecânica tecidual será realizada a seguir.

Enquanto a resistência do tecido demonstra a perda de energia causada pela oposição a um movimento, a elastância representa a medida da tendência do tecido de retornar às suas dimensões originais, após a remoção de uma força distensora.

A metodologia da oscilação mecânica tecidual já é consagrada e utilizada em pesquisas de outros Departamentos. No presente estudo, as propriedades mecânicas da pele foram avaliadas adaptando-se o método de oscilação mecânica tecidual utilizado para a análise do comportamento mecânico de fragmentos de tecido pulmonar em diferentes doenças ⁴². Utilizando-se a equação do movimento respiratório ($P = E.V + R.F$, onde P =pressão, E =elastância, V =volume, R =resistência e F =fluxo) adaptada para alterações de tensão e deslocamento, calculamos a resistência e elastância do tecido restaurado não tratado e tratado com tretinoína tópica.

Em órgãos ou tecidos que contenham ar ou líquido, como o pulmão ou vasos, a elastância (inverso da complacência) é determinada pela relação

$\Delta P/\Delta V$, onde P é pressão e V é volume. Em tecidos sólidos, como a pele, a elastância é derivada da relação entre força e deslocamento, estando relacionada à sua elasticidade. Assim, quanto menor a elastância (ou quanto maior a complacência), maior a distensibilidade de um determinado tecido.

A medida da elastância da pele foi previamente utilizada em estudos que avaliaram as propriedades mecânicas da pele de pacientes com esclerose sistêmica. Utilizando um instrumento denominado “elastômetro”, pesquisadores demonstraram que a elastância da pele desses pacientes é significativamente maior que de indivíduos controles ¹⁰².

Os resultados deste estudo demonstraram que há diminuição significativa da resistência e elastância do tegumento restaurado após o tratamento com tretinoína, caracterizando uma maior distensibilidade do tecido. Apesar de não se ter realizado biópsias de pele normal dessas pacientes por motivos éticos, e, portanto não se ter os valores controles de resistência e elastância para essa população de pacientes, utilizou-se, como referência, os valores obtidos no estudo piloto.

Neste estudo, a avaliação da mecânica tecidual foi mais sensível que a análise histológica para detectar alterações tegumentares, não tendo sido detectadas diferenças quantitativas nos elementos da matriz extracelular em tegumento não tratado e tratado com tretinoína tópica. É possível que o arranjo estrutural das fibras, sua distribuição e organização após o tratamento possam ser parâmetros mais relevantes na determinação do comportamento mecânico do tecido do que uma alteração de sua quantidade. Além das proteínas da matriz extracelular, outros fatores, como

a hidratação, podem estar envolvidos no processo. Entretanto, a análise histológica dos fragmentos de tegumento não detectou diferenças estruturais evidentes que pudessem justificar as alterações da mecânica tecidual.

De maneira geral, a análise do tegumento restaurado tratado topicamente com tretinoína demonstrou aspecto histológico semelhante ao não tratado, não sendo possível a identificação de diferenças específicas após o tratamento. Mesmo assim, este estudo contribui com dados novos e objetivos de análise da mecânica tecidual em tegumento restaurado.

Demonstrou-se que o tratamento tópico com tretinoína altera o comportamento mecânico do tegumento restaurado de pacientes com seqüelas de queimaduras faciais por álcool, diminuindo sua resistência e elastância, determinando que o tecido tratado se torne mais distensível, aproximando-se do tecido normal. Novos estudos são necessários para que se identifiquem os componentes teciduais responsáveis pelas alterações mecânicas observadas.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

O tratamento tópico com tretinoína altera o comportamento mecânico do tegumento restaurado de pacientes com seqüelas de queimaduras faciais, diminuindo sua resistência e elastância.

Não foram detectadas alterações histológicas, descritivas ou quantitativas das fibras colágenas totais, fibras de colágeno tipo III, fibras elásticas e versicam no tegumento restaurado de pacientes com seqüelas de queimaduras faciais tratadas topicamente com tretinoína.

Anexos

ANEXO A. Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq – HCFMUSP)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
RUA OVIDIO PIRES DE CAMPOS, 225 - 5º ANDAR - CEP 05403-010 - SÃO PAULO - SP

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 25.08.05, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **515/05**, intitulado: **"Histologia e viscoelasticidade do tegumento facial com seguela de queimadura antes e seis meses após o tratamento tópico combinado de tretinoína e hidroquinona."** apresentado pelo Departamento de **CIRURGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX. 2, letra "c")

Pesquisador(a) Responsável: **Profº Drº Rolf Gemperli**

Pesquisador (a) Executante: **Dra. Maria Fernanda D. Soares Belico**

Riente,

CAPPesq, 25 de Agosto de 2005.

Wca

PROF. DR. MARCUS CASTRO FERREIRA
Professor Titular da Disciplina
de Cirurgia Plástica - FMUSP

Julio Castro

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP
Fone: 011 - 30696442 fax : 011 - 3069 6492 - e-mail : cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq@hcnet.usp.br
VCN

13.09.05

ANEXO B: Carta de informação

As queimaduras de face podem ocorrer após acidentes com álcool, fogo, líquidos aquecidos (água, café, chá, leite ou óleo quente) ou queimaduras elétricas. Em todas as situações, os pacientes com queimaduras permanecem com as cicatrizes para o resto da vida. Essas cicatrizes deixam a pele grossa, dura, mais escura ou mais clara do que a pele normal, mais alta do que a pele não queimada do rosto. Esta pele queimada é ressecada, coça e em algumas situações pode formar pequenas feridas. Estas cicatrizes causam vergonha, embaraço, timidez, vontade de não sair de casa, vergonha de conversar com as outras pessoas ou de arranjar um emprego.

Para melhorar a aparência do rosto com cicatrizes de queimadura, você irá realizar um tratamento durante um ano. Antes de começar o tratamento, a médica irá fazer fotografias das áreas queimadas. Você vai iniciar o tratamento utilizando um líquido que se encontra dentro de um frasco de vidro marrom; este líquido deverá ser usado todas as noites. Você vai passar quatro gotas do líquido antes de dormir e vai dormir com elas. Você deve espalhar o líquido no rosto todo, menos na região anterior da orelha. Ao acordar, vai lavar o rosto com sabonete neutro para tirar o líquido e não deverá tomar sol no rosto.

Quando começar usar este líquido, a pele de seu rosto poderá ficar um pouco avermelhada e descascar. Se você ficar com a pele muito irritada, deverá parar de usar as gotas imediatamente e retornar ao ambulatório para conversar com a médica.

Os retornos serão feitos todas as semanas no primeiro mês e depois uma vez a cada dois meses durante um ano. Você será avaliada sempre pela mesma médica. O tratamento vai durar um ano; logo após o tratamento, a médica vai fotografar e fazer duas biópsias (tirar um pequeno pedaço da pele queimada tratada e da não tratada) para comparar e verificar a melhora. Estas biópsias vão ser feitas com anestesia local, ou seja, uma pequena injeção para amortecer a pele. Elas serão feitas no próprio ambulatório, sem necessidade de internação. Depois disso, você poderá ir para sua casa normalmente com um acompanhante. Você não vai ter outras cicatrizes porque a médica vai tirar um pedaço das cicatrizes que você já tem no rosto e vai mandar analisar estas peles no laboratório.

O local das biópsias poderá ficar um pouco inchado e dolorido por até três dias. Se isso acontecer, você poderá usar remédios para a dor. Sete dias após as biópsias, você deverá retornar ao ambulatório para retirar os pontos.

Os benefícios que podem ser obtidos com este tratamento local são a melhora do relevo das cicatrizes, melhora da cor da pele, melhora do ressecamento, ou seja, sua pele vai ficar mais hidratada e por isso vai coçar menos. A pele poderá também ficar com mais elasticidade.

Não temos conhecimento de procedimentos alternativos que, comprovadamente, possam alcançar os mesmos resultados deste tratamento para pacientes com seqüela de queimaduras na face.

A qualquer momento, a médica pesquisadora (Dra. Fernanda) estará disponível para explicar qualquer dúvida que apareça sobre os procedimentos realizados, riscos, e benefícios relacionados ao tratamento. Basta entrar em contato com os números fornecidos, em qualquer dia ou procurar o ambulatório no 6º andar - sala 1 às segundas-feiras a partir das 13:00 horas.

Você pode, a qualquer momento, retirar seu consentimento se não quiser mais participar do estudo, sem sofrer nenhuma consequência. Poderá desta maneira continuar seu tratamento no Ambulatório do Hospital das Clínicas.

Todas as informações obtidas serão confidenciais, ou seja, não serão divulgadas em revistas, internet, jornais ou televisão. Os resultados do estudo serão apresentados apenas em congressos e revistas especializadas exclusivas para médicos.

Se você apresentar qualquer complicação relacionada ao tratamento, será tratado no próprio Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sem nenhum custo.

INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

1) Pesquisadora executante / responsável: Dra. Maria Fernanda Demattê Soares Belico

– Telefone celular: 11-99819543 Consultório: 11- 32140213– Endereço: R. Barata Ribeiro, 490 cj. 61 – São Paulo, SP.

2) Ambulatório de cirurgia plástica e queimaduras: enfermeira Jeanete C. Ferreira -

responsável pelo ambulatório de Cirurgia Plástica e Queimaduras, situado no 6º andar do Prédio dos Ambulatórios do HCFMUSP - Telefones: 11 - 30696481 / 30696474.

ANEXO C: Termo de Consentimento Informado (livre e esclarecido)**Hospital das Clínicas – FMUSP****Disciplina de Cirurgia Plástica****Termo de Consentimento Informado (livre e esclarecido)**

Através do presente termo, eu _____, portadora do RG _____, após ter lido a carta de informação e ter sido esclarecida pela Dra. Maria Fernanda Demattê Soares Belico a respeito deste projeto de pesquisa (“Análise mecânica e histológica do tegumento facial com seqüela de queimadura após tratamento tópico com tretinoína.”) concordo em participar deste estudo e autorizo a realização de fotografias no início e no final do tratamento da seqüela de queimadura em minha face.

Estou ciente de que não serei identificada em nenhum momento pelas fotos ou respostas dadas ao questionário e que minhas respostas não influenciarão em nada o meu tratamento. Estou ciente de que corro mínimos riscos em me submeter a este estudo. Entendi quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar, quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou qualquer prejuízo ao meu tratamento.

Assinatura do paciente / Representante legal / RG

Data

Assinatura da testemunha / RG

Data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido desta paciente ou representante legal para a participação nesse estudo.

Pesquisadora: Maria Fernanda Demattê Soares Belico

Data

Anexo D. Questionário de avaliação

Hospital das Clínicas - FMUSP / Disciplina de Cirurgia Plástica

Avaliação: Tretinoína – Sequela de queimadura facial

Dados de Identificação

Data de aplicação: ____/____/____

01. RGHC: _____

02. RG AMB: _____

03. Nome: _____

04. Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ anos

05. Sexo: F () M ()

06. Escolaridade: Ensino Fundamental () Médio () Superior ()

07. Estado Civil: _____ 08. Profissão: _____

09. Endereço: _____

10. Bairro: _____ 11. Cidade: _____

12. CEP: _____ 13. Fone: _____

14. Fotografias (frente e perfil): () OK

Termo de consentimento: () sim () não (excluir paciente)

Anamnese

15. Fototipo: I () II () III () IV () V () VI ()

16. Tipo de tegumento facial: regenerado () restaurado () enxertado ()

17. Data acidente: ____/____/____ Tempo de queimadura: _____ anos

18. Agente causador: _____

19. Áreas queimadas: _____

20. Tratamento Invasivo: _____

21. Tratamento não invasivo: _____

22. Tratamento com corticoesteróides sistêmicos: () não () sim (excluir)

23. Doenças sistêmicas: () HAS () DM () outras: _____

24. Tabagista: sim () não ()

Tratamento

25. Noturno: () ácido retinóico 0,05%

26. Reações adversas e Sinais clínicos de dermatite:

() não () sim _____ data: ____/____/____

conduta _____ evolução: _____

Evolução e conduta

27. Retornos semanais (1° mês): _____

28. Complicações precoces: _____

29. Retornos bimensais: _____

30. Complicações tardias: _____

Biópsia facial

31. Data da biópsia: __/__/__

32. Região pré auricular e inferior: () direita () esquerda

33. Intercorrências: () sim _____ () não

ANEXO E. Descrição e componentes da formulação de uso tópico

ÁCIDO RETINÓICO	0,05%
PROPILENOGLICOL	5%
ÁLCOOL 50 ^o	qsp 20 ml

ANEXO F. Dados sócio-demográficos e clínicos das pacientes do estudo

Casos	Nome	Sexo	Idade	Fitzpatrick	Escolaridade	Estado civil	Agente
PEL 1	SCS	F	23	V	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 2	GS	F	25	VI	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 3	DCBS	F	18	VI	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 4	JSN	F	34	V	Médio	Solteira	Álcool
PEL 5	JAL	F	23	III	Superior	Solteira	Álcool
PEL 6	JSC	F	36	IV	Fundamental	Casada	Álcool
PEL 7	BRM D	F	19	V	Médio	Solteira	Álcool
PEL 8	JBS	F	20	IV	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 9	DCBS	F	45	V	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 10	EB	F	25	V	Médio	Solteira	Álcool
PEL 11	EC	F	24	IV	Médio	Casada	Álcool
PEL 12	VG	F	33	VI	Fundamental	Casada	Álcool
PEL 13	NMS	F	19	VI	Fundamental	Solteira	Álcool
PEL 14	RS	F	22	V	Médio	Solteira	Álcool
PEL 15	MAS	F	35	VI	Fundamental	Divorciada	Álcool

ANEXO G. Tabelas de dados das análises mecânica e histológica

Tipo	Caso	Resistência	Elastância	Fibras elásticas total	Fibras elásticas superficial	Fibras elásticas média	Fibras elásticas profunda	Fibras colágenas total	Fibras colágenas superficial	Fibras colágenas média	Fibras colágenas profunda
NT	1	10,90	36,06	1,05	0,65	1,81	0,68	25,99	38,05	19,99	19,94
NT	2	15,62	52,19	1,09	1,83	0,70	0,75	23,73	45,50	13,89	11,80
NT	3	29,76	78,09	1,43	0,82	1,52	1,94	23,19	29,99	18,41	21,17
NT	4	19,62	70,91	0,86	0,51	0,86	1,22	24,82	31,87	22,78	19,80
NT	5	35,16	107,46	1,35	0,75	1,72	1,59	29,78	40,20	26,12	23,02
NT	6	41,26	137,04	0,44	0,33	0,52	0,57	29,15	39,23	23,34	24,88
NT	7	9,76	37,98	5,21	3,19	7,02	5,40	31,60	30,76	32,77	31,27
NT	8	69,74	119,38	1,45	0,36	2,91	1,07	29,89	34,50	30,59	24,59
NT	9	15,17	60,99	1,25	0,37	1,49	1,87	48,41	57,54	48,22	39,45
NT	10	474,69	978,04	2,94	0,50	4,15	4,17	37,82	52,36	30,13	30,96
NT	11	32,97	138,31	0,79	0,46	1,02	1,10	43,09	57,00	41,67	30,61
NT	12	39,94	98,75	0,74	0,32	1,26	0,70	49,09	60,15	45,69	41,41
NT	13	24,33	65,44	2,41	1,52	2,35	3,35	42,59	55,43	37,64	34,69
NT	14	13,13	49,98	2,45	2,70	2,91	1,74	23,56	43,58	15,20	11,92
NT	15	14,39	47,84	3,65	6,11	2,86	1,99	28,81	44,97	24,06	17,40

NT= Não tratado

Tipo	Caso	Fibras colágenas tipo III total	Fibras colágenas tipo III superficial	Fibras colágenas tipo III média	Fibras colágenas tipo III profunda	Versicam total	Versicam superficial	Versicam média	Versicam profunda
NT	1	44,24	46,05	44,35	42,33	0,28	0,14	0,50	0,19
NT	2	42,13	49,58	34,67	42,13	0,29	0,55	0,23	0,08
NT	3	40,14	45,60	39,84	34,96	0,02	0,03	0,02	0,02
NT	4	38,98	36,18	41,12	39,65	0,26	0,69	0,06	0,01
NT	5	36,79	38,60	34,57	37,20	0,18	0,44	0,06	0,04
NT	6	47,20	46,61	47,81	47,19	0,03	0,06	0,01	0,03
NT	7	42,69	43,91	43,72	40,45	1,07	2,84	0,33	0,04
NT	8	46,89	51,30	45,20	44,17	0,10	0,07	0,05	0,18
NT	9	42,30	40,75	43,23	42,93	0	0,01	0	0
NT	10	37,62	37,61	37,65	37,59	0,04	0,10	0,03	0,01
NT	11	44,99	46,86	46,87	41,23	0,02	0,06	0	0
NT	12	35,65	29,32	39,96	40,67	0,05	0,15	0,01	0,01
NT	13	30,76	47,56	19,64	25,06	0,24	0,14	0,33	0,25
NT	14	38,68	33,61	44,10	38,33	0,64	0,76	0,60	0,56
NT	15	41,50	43,22	35,35	45,94	0,42	0,56	0,25	0,44

NT= Não tratado

Tipo	Caso	Resistência	Elastância	Fibras elásticas total	Fibras elásticas superficial	Fibras elásticas média	Fibras elásticas profunda	Fibras colágenas total	Fibras colágenas superficial	Fibras colágenas média	Fibras colágenas profunda
T	1a	6,73	33,05	1,83	2,67	1,41	1,40	25,99	38,05	19,99	19,94
T	2a	11,35	58,63	2,66	0,79	4,39	2,82	23,73	45,50	13,89	11,80
T	3a	14,06	30,80	1,67	1,16	1,61	2,24	23,19	29,99	18,41	21,17
T	4a	15,72	56,90	0,89	0,65	0,81	1,21	24,82	31,87	22,78	19,80
T	5a	29,67	90,68	1,06	0,62	1,47	1,08	29,78	40,20	26,12	23,02
T	6a	20,54	82,43	0,87	0,50	1,29	0,82	29,15	39,23	23,34	24,88
T	7a	15,34	56,05	3,19	2,90	3,06	3,61	31,60	30,76	32,77	31,27
T	8a	66,87	187,26	2,17	1,06	4,04	1,41	29,89	34,50	30,59	24,59
T	9a	11,12	33,94	0,65	0,54	0,67	0,75	48,41	57,54	48,22	39,45
T	10a	119,49	477,47	1,15	0,36	2,15	0,95	37,82	52,36	30,13	30,96
T	11a	26,23	107,35	1,83	0,53	1,95	3,02	43,09	57,00	41,67	30,61
T	12a	6,18	55,11	5,08	1,53	6,50	7,22	49,09	60,15	45,69	41,41
T	13a	11,87	64,78	2,21	1,62	4,16	0,86	42,59	55,43	37,64	34,69
T	14a	11,36	43,48	3,15	4,25	3,22	1,98	23,56	43,58	15,20	11,92
T	15a	7,29	38,41	4,23	2,04	5,27	5,38	28,81	44,97	24,06	17,40

T= tratado

Tipo	Caso	Fibras colágenas tipo III total	Fibras colágenas tipo III superficial	Fibras colágenas tipo III média	Fibras colágenas tipo III profunda	Versicam total	Versicam superficial	Versicam média	Versicam profunda
T	1a	38,30	37,35	40,26	37,31	4,97	4,95	6,05	3,92
T	2a	43,00	48,43	40,98	39,60	0,15	0,29	0,14	0,01
T	3a	32,73	38,04	32,86	27,28	0,04	0,07	0,04	0,01
T	4a	32,42	30,31	31,97	34,97	0,14	0,39	0,01	0,01
T	5a	41,59	43,34	42,00	39,44	0,01	0,02	0	0
T	6a	40,41	38,86	43,25	39,12	0,08	0,20	0,03	0,03
T	7a	38,44	40,49	39,86	34,97	0,04	0,10	0	0
T	8a	46,05	48,82	44,93	44,40	0,11	0,20	0,06	0,07
T	9a	41,28	42,72	40,11	41,02	0,01	0,02	0	0
T	10a	42,22	44,88	40,27	41,52	0,10	0,20	0,10	0,01
T	11a	41,50	44,22	41,93	38,34	0,02	0,05	0,01	0,01
T	12a	36,42	34,20	37,63	37,43	0,02	0,01	0,01	0,03
T	13a	41,38	51,89	34,79	37,47	0,36	0,09	0,46	0,54
T	14a	44,58	46,24	43,21	44,29	0,02	0,03	0,01	0,02
T	15a	37,36	39,27	28,20	44,62	0,02	0,04	0,01	0,01

T= tratado.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Rose EH. Aesthetic restoration of the severely disfigured face in burn victims: a comprehensive strategy. *Plast Reconstr Surg*. 1995; 96(7): 1573-85.
2. Balakrishnan C, Hashim M, Gao D. The effect of partial-thickness facial burns on social functioning. *J Burn Care Rehabil*. 1999; 20(3): 224-5.
3. Cotterill JA. Social, psychological and psychiatric aspects of cosmetic use. In: Baran R, Maibach HI (eds) *Textbook of cosmetic dermatology*. Martin Dunitz, London. 1998; p. 747-53.
4. Pownell PJ, Rohrich RJ. Burn reconstruction. *Selected Readings in Plastic Surgery*. 1998; 8(12): 10-37.
5. Salles AG. Efeito do tratamento combinado tretinoína e ácido glicólico na abertura bucal de pacientes com seqüela de queimadura [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2002.
6. Ferreira MC. Cirurgia plástica estética - avaliação dos resultados. *Rev Soc Cir Plast*. 2000; 15: 55-66.

7. Goin MK, Goin JM. Psychological effects of aesthetic facial surgery. *Advances Psychosomatic Medicine*. 1986; 15: 84-108.
8. Maio M, Salles AG, Ahuaji VM, Ferreira MC. Tratamento tópico da hiperpigmentação pós-queimadura associado ou não ao peeling de ácido glicólico. Anais do II Congresso Brasileiro de Queimaduras. Fortaleza – CE. 1999a; p 89.
9. Maio M, Salles AG, Naufal RR, Ferreira MC. Tratamento das lesões hiperpigmentadas pós-queimaduras em crianças. Anais do II Congresso Brasileiro de Queimaduras. Fortaleza – CE. 1999b; p 87.
10. Ueno CM, Maio M, Salles AG, Fontana C, Ferreira MC. Tratamento da hiperpigmentação pós-queimadura em adultos. *Arq Catar de Med*. 2000; 29(Supl. 1): 78-80.
11. Salles AG, Gemperli R, Toledo PN, Ferreira MC. Combined tretinoin and glycolic acid treatment improves mouth opening for postburn patients. *Aesth Plast Surg*. 2006; 30: 356-62.
12. Butnaru CA, Kanitakis J. Structure of normal human skin. *Eur J Dermatol*. 2002; 12(6): II-IV.

13. Vilas Boas DS. Expressão gênica dos proteoglicanos sidecans-2 e 4 de superfície celular e decorim e versicam de matriz extracelular no quelóide [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007.
14. Cameli N , Ortonne J P, Picardo M, Peluso A M, Tosti A. Distribution of Merkel cells in adult human nail matrix. *Br J Dermatol*. 1998; 139(3): 541- 541.
15. Kanitakis J, Petruzzo P, Dubernard JM. Turnover of epidermal Langerhans cells. *N Engl J Med*. 2004; 351(25):2661-2662.
16. Querleux B, Richard S, Bittoun J et al. *In vivo* hydration profile in skin layers by high resolution magnetic resonance imaging. *Skin Pharmacol*. 1994; 7:210-16.
17. Isaac C. Estudo in vitro da ação de pentoxifilina em fibroblastos oriundos de cicatrizes hipertróficas pós-queimadura e de pele não-cicatricial [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007.
18. Silver FH, Freeman JW, Devore D. Viscoelastic properties of human skin and processed dermis. *Skin Res Technol*. 2001; 7(1): 18-23.
19. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *J Pathol*. 2003; 200(4):426-8.

20. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 9ª ed., São Paulo, Guanabara Koogan, 1999 cap. 18, p. 303-14.
21. Stephens P, Cook H, Hilton J, Jones CJ, Haughton MF, Wyllie FS, et al. An analysis of replicative senescence in dermal fibroblasts derived from chronic leg wounds predicts that telomerase therapy would fail to reverse their disease-specific cellular and proteolytic phenotype. *Exp Cell Res*. 2003; 283(1): 22-35.
22. Gibson T. Physical properties of skin. In: McCarthy, JG. *Plastic Surgery*. New York, WB Saunders Company. 1990; v.1, cap. 7, p. 207-20.
23. Wilhelmi BJ, Blackwell SJ, Mancoll JS, Phillips LG. Creep vs. stretch: a review of the viscoelastic properties of skin. *Ann Plast Surg*. 1998; 41(2): 215-9.
24. Hopkinson I, Anglin IE, Evans DL, Harding KG. Collagen VII expression in human chronic wounds and scars. *J Pathology*. 1997; 182: 192-96.
25. Clark RAF. Mechanisms of cutaneous wound repair. In: Freedberg EM et al. *Fitzpatrick's Dermatology in general medicine*. 5 ed. McGraw-Hill, 1999; v.1, cap. 27, p. 326-41.
26. Isnard N, Fodil I, Robert L, Renard G. Modulation of cell-phenotype during in vitro aging. Glycosaminoglycan biosynthesis by skin fibroblasts and corneal keratocytes. *Exp Gerontol*. 2002, 37(12): 1379-87.

27. Delehedde M, Lyon M, Sergeant N, Rahmoune H, Fernig DG. Proteoglycans: pericellular and cell surface multireceptors that integrate external stimuli in the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2001; 6(3): 253-73.
28. Hardingham TE, Fosang AJ. Proteoglycans: many forms and many functions. *FASEB J*. 1992; 6(3): 861-70.
29. Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem*. 1998; 67: 609-52.
30. Whitelock JM, Murdoch AD, Iozzo RV, Underwood PA. The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by stromelysin, collagenase, plasmin, and heparanases. *J Biol Chem*. 1996; 271(17): 10079-86.
31. Mariani U, Gomez DS, Carvalho DA, Ferreira MC. The tegument resulting from the healing of burns. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*. 1995; 50(3): 140 – 6.
32. Carvalho DA, Mariani U, Gomez DS, Gemperli R, Ferreira MC. A study of the postburned restored skin. *Burns* 1999; 25: 385 – 94.

33. Penc SF, Pomahac B, Winkler T, Dorschner RA, Eriksson E, Herdon M, et al. Dermatan sulfate released after injury is a potent promoter of fibroblast growth factor-2 function. *J Biol Chem*. 1998; 273(43): 28116-21.
34. Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F. Immunohistochemical localization of the proteoglycans decorin, biglycan and versican and transforming growth factor- β in human post-burn hypertrophic and mature scar. *Histopathology*. 1995; 26: 423-31.
35. Clark JA, Cheng JCY, Leung PC. Mechanical characterization of human postburn hypertrophic skin during pressure therapy. *J Biomechanics*. 1987; 20(4): 397-406.
36. Krusche T, Worret W. Mechanical properties of keloids in vivo during treatment with intralesional triamcinolone acetonide. *Arch Dermatol Rev*. 1995; 287: 289-93.
37. Clark III CP. Alpha hydroxy acids in skin care. *Clin Plast Surg*. 1996; 23(1).
38. Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F. Chemical characterization and quantification of proteoglycans in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Clin Sci*. 1996; 90: 417-25.

39. Garg HG, Siebert JW, Garg A, Neame PJ. Inseparable iduronic acid containing proteoglycan PG (IdoA) preparations of human skin and post-burn scar tissues: evidence for elevated levels of PG (IdoA) in hipertrophic scar by N-terminal sequencing. *Carbohydrate Res.* 1996; 284: 223-8.
40. Har-Shai Y, Bodner SR, Egozy-Golan D, Lindenbaum ES, Ben-Izhak O, Mitz V, Hirshowitz B. Viscoelastic properties of the superficial musculoaponeurotic system (SMAS): a microscopic and mechanical study. *Aesth Plast Surg.* 1997; 21: 219-224.
41. Dolhnikoff M, Mauad T, Ludwig MS. Extracellular matrix and oscillatory mechanics of rat lung parenchyma in bleomycin-induced fibrosis. *Am J Resp Crit Care Med.* 1999; 160: 1750 –7.
42. Lanças T, Kasahara DI, Prado CM, Tiberio IF, Martins MA, Dolhnikoff M. Comparison of early and late responses to antigen of sensitized guinea pig parenchymal lung strips. *J Appl Physiol.* 2006; 100(5): 1610-6.
43. Kochhar DM, Christian MS. Tretinoin: a review of the nonclinical development toxicology experience. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36(3): S48-59.
44. Varani J, Gendimenico GJ, Shah B, Gibbs D, Capetola RJ, Mezick JA, Voorhees JJ. A direct comparison of pharmacologic effects of retinoids on skin cells in vitro and in vivo. *Skin Pharmacol.* 1991; 4: 254-61.

45. Kang S, Voorhees JJ. Topical retinoids. In: Fredberg EM et al. (eds) *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 5th ed. vol 2. McGraw-Hill, New York, USA. 1999; p. 2726-2733.
46. Meisler NT, Parrelli K, Gendimenico GJ, Mezick JA, Cutroneo KR. All-trans-retinoic acid inhibition of pro (alpha) 1 (I) collagen gene expression in fetal rat skin fibroblasts: identification of a retinic acid response element in the pro (alpha) 1 (I) collagen gene. *J Invest Dermatol*. 1997; 108(4): 476-81.
47. Leyden JJ. Treatment of photodamaged skin with topical tretinoin: an update. *Plast Reconstr Surg*. 1998; 102(5): 1667-71.
48. Bernard FX, Pedretti N, Rosdy M, Deguercy A. Comparison of gene expression profiles in human keratinocyte mono-layer cultures, reconstituted epidermis and normal human skin; transcriptional effects of retinoid treatments in reconstituted human epidermis. *Exp Dermatol*. 2002; 11: 59-74.
49. Margelin D, Medaisko C, Lombard D, Picard J, Fourtanier A. Hyaluronic acid and dermatan sulfate are selectively stimulated by retinoic acid in irradiated and non-irradiated hairless mouse skin. *J Invest Dermatol*. 1996; 106(3): 505-9.
50. Kligman AM, Dogadkina D, Lavker RM. Effects of topical tretinoin on non-sun-exposed protected skin of the elderly. *J Am Acad Dermatol*. 1993; 29(1): 25-33.

51. Kang S, Fischer GJ, Voorhees JJ. Photoaging: pathogenesis, prevention and treatment. *Clin Geriatr Med*. 2001; 17(4): 643-59.
52. Webster GF. Topical tretinoin in acne therapy. *J Am Acad Dermatol*. 1998; 39(2): 38-44.
53. Harris DWS, Buckey CC, Ostlere LS, Rustin MHA. Topical retinoic acid in the treatment of fine acne scarring. *Br J Dermatol*. 1991; 125: 81-82.
54. Gendimenico GJ, Mezick JA. Pharmacological effects of retinoids on skin cells. *Skin Pharmacol*. 1993; 6(1): 24-34.
55. Weistein GD, Nigra TP, Pochi PE, Savin RC, Allan A, Benik K, Jeffes E, Lufrano L, Thorne EG. Topical tretinoin for treatment of photodamaged skin: a multicenter study. *Arch Dermatol*. 1991; 127: 659-665.
56. Bhawan J, Palko MJ, Lee J, Labadie RR. Reversible histologic effects of tretinoin on photodamaged skin. *J Geriatr*. 1995; 3(3): 62-7.
57. Cho S, Lowe L, Hamilton TA, Fischer GJ, Voorhees JJ, Kang S. Long-term treatment of photoaged human skin with topical retinoic acid improves epidermal cell atypia and thickens the collagen band in papillary dermis. *J Am Acad Dermatol*. 2005; 53(5): 769-74.

58. Berardesca E, Gabba P, Farinelli N, Borroni G, Rabbiosi G. In vivo tretinoin-induced changes in skin mechanical properties. *Br J Dermatol*. 1990; 122: 525-52.
59. Bulengo-Ransby SM, Griffinths CEM, Kimbrough-Green CK, Finkel LJ, Hamilton TA, Ellis CN et al. Topical tretinoin (retinoic acid) therapy for hyperpigmented lesions caused by inflammation of the skin in black patients. *N Engl J Med*. 1993; 328: 1438-43.
60. Bhawan J. Short and long-term histologic effects of topical tretinoin on photodamaged skin. *Int J Dermatol*. 1998; 37: 286-292.
61. Humpries JD, Parry EJ, Watson REB, Garrod DR, Griffiths CEM. All-trans retinoic acid compromises desmosome expression in human epidermis. *Br J Dermatol*. 1998; 139: 577-584.
62. Cucé LC, Bertino MCM, Scatone L, Birkenhauer MC. Tretinoin peeling. *Dermatol Surg*. 2001; 27(1): 12-4.
63. Welsh BM, Mason RS, Halliday GM. Topical all-trans retinoic acid augments ultraviolet radiation-induced increases in activated melanocyte numbers in mice. *J Invest Dermatol*. 1999; 112(3): 271-8.

64. Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G. Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging*. 2006; 1(4):327-48.
65. Tsukahara K, Takema Y, Fujimura T, Moriwaki S, Kitahara T, Imayama S, et al. All-trans retinoic acid promotes the repair of tortuosity of elastic fibers in rat skin. *Br J Dermatol*. 1999; 140(6): 1048-53.
66. Kitano Y, Yoshimura K, Uchida G, Sato K, Harii K. Pretreatment with topical all-trans-retinoic acid is beneficial for wound healing in genetically diabetic mice. *Arch Dermatol Res*. 2001; 293(10): 515-21.
67. Janssen de Lipens AMP. The local treatment of hypertrophic scars and keloid with topical retinoic acid. *Br J Dermatol*. 1980; 103: 319-23.
68. Hansen DA. Treatment of hypertrophic scars with retinoic acid. *S Afr Med J*. 1979; 22: 1114.
69. Jenkins SC, Henke J. Retinoic acid modifies scars from self-injury by burning. *Am J Psychiatry*. 1993; 150(7): 1125.
70. Mizutani H, Yoshida T, Nouchin N, Hamanaka H, Shimizu M. Topical tocoretinate improved hypertrophic scar, skin sclerosis in systemic sclerosis and morphea. *J Dermatol*. 1999; 26(1): 11-7.

71. Panabiere-Castaings MH. Retinoic acid in the treatment of keloids. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988; 14(11): 1275-6.
72. Maio, Ribeiro DR. Aspectos gerais das queimaduras e atuação no paciente com seqüelas. In: MAUAD JR., R. (org) *Estética e Cirurgia Plástica: Tratamento no Pré e Pós-operatório*. São Paulo, Senac. 2001; p. 128- 160.
73. Esselman PC, Askay SW, Carrougher GJ, Lezotte DC, Holavanahalli RK, Magyar-Russell G, et al. Barriers to return to work after burn injuries. *Arch Phys Med Rehabil*. 2007 Dec; 88(12 Suppl 2):S50-6.
74. Brincat M, Moniz CF, Studd JA. Sex hormones and skin collagen changes in postmenopausal women receiving different regimes of estrogen therapy. *Obstet Gynecol*. 1983; 70: 840.
75. Bologna JL. Dermatologic and cosmetic concerns of the older woman. *Clin Geriatr Med* 1993; 9:209 – 229.
76. De Souza DA, Marchesan WG, Greene LJ. Epidemiological data and mortality rate of patients hospitalized with burns in Brazil. *Burns*. 1998 Aug; 24(5):433-8.

77. De Souza DA, Manço AR, Marchesan WG, Greene LJ. Epidemiological data of patients hospitalized with burns and other traumas in some cities in the southeast of Brazil from 1991 to 1997. *Burns*. 2002 Mar; 28(2):107-14.
78. Pegg SP, Beecham L, Dore N, Hrdlicka D, Hukins C. Epidemiology of burns due to domestic flammable agents. *Burns*. 1990 Apr; 16(2):113-7.
79. Peacock Jr E, Cohen IK. In: Mc Carthy JG (ED) Plastic Surgery. New York: W.B. Saunders Company; 1990, v.1, Cap.5, p.161-85.
80. Poh-Fitzpatrick MB. Skin care of the healed burned patient. *Clin Plast Surg* 1992; 19(3): 745-51.
81. Elson ML. The molecular structure of glycolic acid and its importance in dermatology. *Cosmetic Dermatology*. 1993; 6: 31-5.
82. Hirshowitz B, Lindenbaum E, Har-Shai Y, Feitelberg L, Tendler M, Katz D. Static-electric field induction by a silicone cushion for the treatment of hypertrophic and keloid scars. *Plast. Reconstr. Surg*. 1998; 101(5):1173-83.
83. Peacock Jr EE. Control of wound healing and scar formation in surgical patients. *Arch Surg*. 1981a; 116: 1325-9.

84. Peacock Jr EE. Pharmacologic control of surface scarring in human beings. *Ann Surg.* 1981b; 193(5): 592-7.
85. Miranda R, Donati L. Pharmacological therapy of scar. *Pan Med.* 1983; 25: 189-90.
86. Flynn TC, Coleman WP. Topical revitalization of body skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2000; 14(4): 280-4.
87. Maio M. Fundamentos da terapêutica tópica cutânea nas seqüelas de queimaduras. In: *Queimaduras: Abordagem multiprofissional.* 1ª ed., São Paulo, Frôntis Editorial, 1998 p.79 – 98.
88. Silfen R, Amir A, Feinmesser M, Hauben DJ. Subdermabrasion in the treatment of post-burn facial hypertrophic scars. *Aesth Plast Surg* 2002; 26 (2): 139-41.
89. Betz P, Nerlich A, Wilske J, et al. The time-dependent rearrangement of the epithelial basement membrane in human skin wounds-immunohistochemical localization of collagen IV and VII. *Int J Legal Med.* 1992; 105: 93.
90. Horslev-Petersen K, Kim KY, Pedersen LR et al. Serum aminoterminal type III procollagen peptide. Relation to biosynthesis of collagen type III in experimentally induced granulation tissue in rats. *APMIS.* 1988; 96:793.

91. Hayakawa T, Hashimoto Y, Myokei Y, Aoyama H, Izawa Y. Changes in type of collagen during the development of human post-burn hypertrophic scars. *Clin Chem Acta*. 1979; 93:119.
92. Uitto J, Perejda AJ, Abergel RP, Chu ML, Ramirez F. Altered steady-state ratio of type I/III procollagen mRNAs correlates with selectively increased type I procollagen biosynthesis in cultured keloid fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 82:5935.
93. Latha B, Ramakrishnan M, Jayaraman V, Babu M. Physicochemical properties of extracellular matrix proteins in post-burn humangranulation tissue. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1999; 124(3):241-9.
94. Lochner K, Gaemlich A, Sudel KM, Venzke K, Moll I, Knott A, et al. Expression of decorin and collagens I and III in different layers of human skin in vivo: a laser capture microdissection study. *Biogerontology*. 2007; 8(3): 269-82.
95. Krusius T, Gehlsen KR, Ruoslahti E. A fibroblast chondroitin sulfate proteoglycan core protein contains lectin-like and growth factor-like sequences. *J Biol Chem*. 1987; 262(27): 13120-5.
96. Yang BL, Zhang Y, Cao L, Yang BB. Cell adhesion and proliferation mediated through the G1 domain of versican. *J Cell Biochem*. 1999; 72(2): 210-20.

97. Bode-Lesniewska B, Dours-Zimmermann MT, Odermatt BF, Briner J, Heitz PU, Zimmermann DR. Distribution of the large aggregating proteoglycan versican in adult human tissues. *J Histochem Cytochem*. 1996; 44(4):303-12.
98. Weinstein GD, Nigra TP, Pochi PE, et al. Topical tretinoin for treatment of photodamaged skin: a multicenter study. *Arch Dermatol*. 1991; 127: 659-665.
99. Leyden J, Grove G, Zerweck C. Facial tolerability of topical retinoid therapy. *J Drugs Dermatol*. 2004; 3(6): 641-51.
100. Harris DWS, Buckley CC, Ostlere LS Rustin MHA. Topical retinoic acid in the treatment of fine acne scarring. *Br J Dermatol*. 1991; 125: 81-82.
101. Personelle JG. Ácido retinóico. In: Horibe EK, ed. *Estética Clínica e Cirúrgica*. Rio de Janeiro, Revinter. 2000, cap. 4, p. 21-27.
102. Ballou SP, Mackiewicz A, Lysikiewicz A, Neuman MR. Direct quantitation of skin elasticity in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1990; 17: 790-94.

Apêndices

APÊNDICE 1: Classificação de fototipos cutâneos segundo Fitzpatrick.

Fototipo cutâneo	Cor da pele constitucional (não exposta)	Sensibilidade após exposição à IUV*	Queima	Bronzeia
I	Branco pálido	Extremamente sensível	Sempre, muito facilmente	Nunca
II	Branco	Muito sensível	Freqüentemente, facilmente	Pouco, com dificuldade
III	Branco	Moderadamente e sensível	Às vezes, moderadamente	Moderada e uniformemente
IV	Bege ou moreno claro	Pouco sensível	Raramente, pouco	Moderadamente, com facilidade
V	Moreno claro ou médio	Minimamente sensível	Muito raramente	Facilmente (moreno escuro)
VI	Moreno escuro ou negro	Nada sensível	Nunca	Facilmente (negro)

* Índice ultra-violeta

APÊNDICE 2: Estudo piloto

Com o intuito de testar o equipamento de mecânica tecidual para pele humana e verificar se o transdutor de força previamente utilizado para pulmão, traquéia, cartilagem e vasos sanguíneos suportava o peso da pele, além de calcular sua resistência e elastância, procedeu-se a um estudo piloto antes da realização da pesquisa principal com tegumento queimado.

Cinco pacientes do sexo feminino, com idades variando entre 49 e 60 anos, fototipo de III a V, com flacidez cutânea facial, não portadoras de doenças sistêmicas (ex: hipertensão arterial, *diabetes mellitus*) e não tabagistas foram submetidas à ritidoplastia (cirurgia para correção da flacidez cutânea facial).

O excesso cutâneo removido normalmente da região pré-auricular das pacientes foi cortado em fragmentos de 10,0 x 2,0 x 2,0 mm (comprimento x largura x profundidade), pesados em balança de precisão (mg) e o comprimento de repouso foi registrado com uso de paquímetro (mm). Foram realizadas análises de resistência e elastância da mesma maneira descrita previamente neste estudo.

Finalizado o estudo piloto, concluiu-se que o método de análise da mecânica tecidual poderia ser utilizado também para a análise de tegumento queimado, visto tratar-se de método já validado e com estudos realizados principalmente na área de patologia pulmonar.

Dados de resistência e elastância das cinco pacientes participantes do estudo piloto.

	Resistência (x 10³ N.s/m²)	Elastância (x 10³ N/m²)
PEL A	19,96	79,51
PEL B	11,59	48,68
PEL C	12,40	48,77
PEL D	8,31	36,93
PEL E	12,43	47,59
Média	12,88	52,30