

FERNANDA OLIVEIRA CAMARGO HERREROS

**REMODELAMENTO DA DERME HUMANA APÓS
APLICAÇÃO DE SALICILATO DE SILANOL**

CAMPINAS

Unicamp

2007

FERNANDA OLIVEIRA CAMARGO HERREROS

**REMODELAMENTO DA DERME HUMANA APÓS
APLICAÇÃO DE SALICILATO DE SILANOL**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Clínica Médica, área de concentração em Clínica Médica.

ORIENTADOR: PROF. DR. PAULO EDUARDO NEVES FERREIRA VELHO

CAMPINAS

Unicamp

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

H434r Herreros, Fernanda Oliveira Camargo
 Remodelamento da derme humana após aplicação de salicilato de
 silanol / Fernanda Oliveira Camargo Herreros. Campinas, SP : [s.n.],
 2007.

Orientador : Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Colágeno. 2. Fibras elástica. 3. Cicatriz. I. Velho, Paulo
Eduardo Neves Ferreira. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : “Remodeling of the human dermis after application of salicylate silanol”

Keywords: • Collagen
 • Elastic fiber
 • Scar

Titulação: Doutor em Clínica Médica
Área de concentração: Clínica Médica

Banca examinadora:
Prof. Dr. Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho
Profa. Dra. Patrícia Érica Christofolletti Daldon
Profa. Dra. Claudia Maria Bernardino Magro Issa
Prof. Dr. Fabiano Reis
Profa. Dra. Luciana Rodrigues Meirelles

Data: 19.12.2007

Banca Examinadora da Defesa de Tese de Doutorado

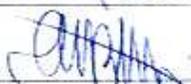
Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho

Membros:

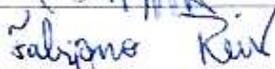
1. Prof(a). Dr(a). Patrícia Dalton



2. Prof(a). Dr(a). Cláudia Issa



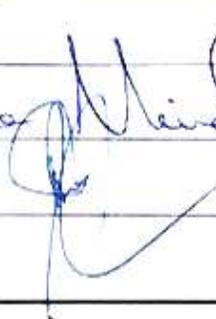
3. Prof(a). Dr(a). Fabiano Reis



4. Prof(a). Dr(a). Luciana Meirelles



5. Prof.(a). Dr(a). Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Clínica Médica da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 19/12/2007

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Vera, cujo exemplo e esforço moldaram meu caráter e são meu maior motivo de orgulho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de todo conhecimento, pela sua bondade.

Ao Espírito Santo, que me ajudou em toda minha trajetória de estudos.

A Nossa Senhora das Graças, pelo amor e proteção.

À minha família (pais e irmão), pelo amor e a constante confiança e em especial à minha mãe, pelo incentivo.

Ao meu marido, pelo amor e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho, meu orientador, pelo apoio, incentivo e confiança.

À Profa. Dra. Maria Letícia Cintra, pela ajuda incondicional.

À Profa. Dra. Ana Maria Uthida-Tanaka, pelo exemplo de dedicação e amor à profissão.

À Profa. Dra. Aparecida Machado de Moraes, pelo incentivo e exemplo.

Ao Prof. Dr. Konradin Metze, pela ajuda metodológica.

Ao Dr. Randall Luis Adam, pela análise de textura empregada nessa tese.

Aos Professores da Disciplina de Dermatologia, por minha formação.

Ao Prof. Dr. Egberto Ribeiro Turato, meu primeiro orientador em trabalhos científicos, pelo incentivo à pesquisa.

“Minha alma glorifica ao senhor,
meu espírito exulta de alegria”.

Magnificat

	Pág.
RESUMO	<i>ix</i>
ABSTRACT	<i>xi</i>
1- INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1- A intradermoterapia	15
1.2- O silício orgânico	22
1.3- Análise de textura da derme	27
1.4- Fotoenvelhecimento	31
2- OBJETIVOS	35
3- CAPÍTULOS	37
3.1- Artigo 1	38
3.2- Artigo 2	44
4- DISCUSSÃO GERAL	53
5- CONCLUSÃO GERAL	57
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
7- ANEXOS	69
7.1- Anexo 1	70
7.2- Anexo 2	72
7.3- Anexo 3	74
7.4- Anexo 4	76

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1- Imagem original da derme, aumento de 200 vezes.....	29
Figura 2- Imagem da derme em tons de cinza, aumento de 200 vezes.....	30
Figura 3- Moldura para amenizar as bordas da figura.....	30
Figura 4- Divisão da imagem em setores e anéis.....	31



RESUMO

A intradermoterapia é um processo terapêutico com poucas publicações científicas em revistas indexadas. Em 2005, um estudo duplo-cego randomizado demonstrou os benefícios proporcionados para a pele, cabelos e unhas de mulheres com fotoenvelhecimento pelo consumo de um suplemento oral de silanol. Frente a esses dados, realizou-se um estudo com o objetivo de comparar as alterações histológicas entre a pele humana que recebeu injeção intradérmica de silanol e as encontradas na pele em que foi injetado soro fisiológico. Dez mulheres caucasianas, sadias, com grau moderado de fotoenvelhecimento, voluntariamente receberam dez sessões semanais de injeções com salicilato de silanol 0,1% no antebraço esquerdo, e injeções de soro fisiológico no antebraço direito. No momento da biópsia, duas semanas depois, três pacientes recusaram-se a realizar o procedimento.

Os achados histológicos nas áreas injetadas com silanol e com soro fisiológico, encontrados em biópsias, foram avaliados e comparados por um pesquisador de forma cega e as fibras colágenas e elásticas de cada lado foram quantificadas. A análise da textura da derme foi feita a partir das imagens microscópicas digitalizadas, por meio da dimensão fractal de Sarkar e do cálculo das amplitudes (valores de inércia), após a transformada rápida de Fourier.

A área injetada com silanol revelou um aumento estatisticamente significativo da densidade de fibras colágenas e elásticas. A análise de textura revelou uma distribuição mais compacta e mais homogênea das fibras de colágeno.

O resultado desse estudo sugere que a aplicação de um silício orgânico pode estimular a síntese das fibras elásticas e colágenas, levando a um remodelamento da estrutura da derme, o que pode explicar a melhora da aparência da pele, observada em estudos clínicos.

Com base nestes resultados, relatou-se o caso de uma paciente com cicatrizes atróficas resultantes de micobacteriose atípica tratada com doxiciclina por seis meses. A paciente havia se submetido à hidrolipoclasia por ultra-som e a infecção desenvolveu-se nos locais do procedimento. Esta complicação ainda não havia sido descrita na literatura médica associada a tal procedimento. As cicatrizes foram submetidas a cinco sessões de intradermoterapia com salicilato de silanol, apresentando melhora parcial da aparência.



ABSTRACT

Mesotherapy is a technique that lacks scientific clinical trials. In 2005, a controlled double-blind study in patients with photo-aged facial skin demonstrated the beneficial role of oral intake of silanol for skin, hair and nails. Facing it, a study was developed to compare histological alterations in human skin that received intradermal injections of silanol. Ten healthy female caucasian volunteers with a moderate degree of photoaged skin received ten sessions of weekly injections of 0.1% salicylate silanol in the left ventral lateral forearm and physiological solution injections on the right forearm. At biopsy time, three patients denied to receive this procedure.

The histological features of punch biopsies of the treated area and the nontreated contralateral arm were compared and the collagen and elastic fibers were quantified by a blind physician. Texture analysis was performed on digitalized microscopic images by analyzing the Sarkar fractal dimension and amplitudes (inertia values) after Fast Fourier transformation.

The treated area revealed a statistically significant increase of the density of both collagen and elastic fibers. Texture analysis showed more compact and homogeneously distributed collagen fibers after silicon injection.

This result suggests that the application of silicon may stimulate the production of collagen and elastic fibers leading to remodeling of the dermal fiber architecture, which may explain the improvement of the skin surface observed in clinical studies.

Also, a case report illustrates a mycobacteria infection following an ultrasound hydrolipoclasia procedure, complication not previously reported in medical literature. After the antibiotic treatment, the patient developed atrophic scars, that received five sessions of mesotherapy with silanol, with some improvement in scar appearance.



1- INTRODUÇÃO GERAL

A intradermoterapia é um procedimento médico introduzido na França por Pistor, em 1958, e consiste na aplicação de injeções intradérmicas de substâncias farmacológicas muito diluídas, diretamente na região a ser tratada (Tennstedt e Lachapelle, 1997). Este método seria capaz de estimular o tecido que recebe os medicamentos tanto pela ação da punctura quanto pela ação dos fármacos, e apregoa-se que sua vantagem seria evitar o uso de medicação sistêmica (Nagore et al., 2001). Há relatos da utilização da intradermoterapia para tratamento de doenças dolorosas (neuralgias), dermatoses (quelóides, alopecia areata, cistos etc.) e, até mesmo, em condições consideradas inestéticas (lipodistrofia ginóide, fotoenvelhecimento e víbices). Atualmente, clínicas médicas oferecem o tratamento de intradermoterapia, utilizando, porém, o nome mais popular para essa prática, mesoterapia. Esta nomenclatura refere-se à mesoderme e, portanto, visa lembrar que o tratamento é feito nos tecidos derivados de tal folheto embriológico.

Há escassa publicação científica sobre esse tema em revistas indexadas no MedLine (nesta tese, sempre que se citar revistas indexadas estará se referindo ao MedLine) . Há pouca documentação científica com metodologia mais rigorosa sobre a eficácia e o mecanismo de ação da via intradérmica. A maioria das publicações indexadas sobre esse tema versa sobre as complicações dessa técnica: infecções cutâneas secundárias, fenômeno de Koebner, urticária, erupções liquenóides, lúpus eritematoso e necroses cutâneas (Guillaume et al., 1984; Vaillant, 1986; Friedel et al., 1987; Urbani, 1994; Paul et al., 1997; Tennstedt e Lachapelle, 1997; Nagore et al., 2001; Marco-Bonnet et al., 2002; Bessis et al., 2004; Cooksey et al., 2004; Henry et al., 2005; Lee e Chang, 2005; Colón-Soto et al., 2006; Rivera-Olivero, 2006; Sañudo et al., 2007).

As dermatoses inestéticas têm se tornado queixas frequentes nos consultórios dermatológicos, sendo necessário um embasamento científico para lidar com tais pacientes, muitas vezes em busca das novidades mostradas através da mídia. Assim, há necessidade de estudos cientificamente bem conduzidos sobre essa técnica. Estes estudos deverão oferecer aos médicos elementos para esclarecer aos pacientes sobre quais benefícios esperar e quais os riscos de tal abordagem.

Desse modo, foi conduzido um estudo utilizando a aplicação intradérmica de silício orgânico, um componente muito usado em cosméticos e que melhoraria o tecido conjuntivo. Este estudo objetivou aplicar o fármaco em um dos antebraços de mulheres com fotoenvelhecimento e aplicar soro fisiológico no outro antebraço. A comparação, através da análise morfométrica, mostraria as alterações histológicas observadas com a injeção intradérmica com silanol e aquelas resultantes do uso de soro fisiológico.

Dessa forma, poder-se-ia observar a ação específica da substância empregada e separá-la da ação pelo estímulo da punctura, o que, muitas vezes, apregoa-se como não dissociável. Além disso, seria apresentada uma análise imparcial dos resultados, desde que o estudo dos dados seria realizado, utilizando-se um algoritmo matemático chamado transformada rápida de Fourier (TRF), já empregado anteriormente para a análise morfométrica de elementos da derme (van Zuijlen et al., 2002).

Em função dos resultados obtidos, relatou-se o tratamento intradérmico com silanol nas cicatrizes atróficas de uma paciente. A paciente desenvolveu tais cicatrizes em virtude de uma infecção secundária por micobactéria, como complicação de um procedimento de hidrolipoclasia por ultra-som a que tinha se submetido.

1.1- A intradermoterapia

A história que impulsionou a técnica intradermoterápica é bastante conhecida. Pistor recebeu um paciente com crise de asma e ministrou-lhe procaína endovenosa, buscando obter broncodilatação. Além de asmático, esse doente possuía um déficit auditivo crônico. No dia seguinte, o paciente retornou e contou ao médico que, após 40 anos de surdez, fora capaz de ouvir novamente o sino da igreja da sua cidade, relacionando tal fato à injeção recebida. O enfermo desejava uma nova injeção daquela substância, já que a audição havia apresentado melhora por breve período. O médico então passou a ministrar injeções intradérmicas desse produto na região do mastóide do doente que apresentava recuperação temporária da audição. Ele prosseguiu com as injeções de procaína em vários pacientes e, em 1958, publicou suas conclusões na “La Presse Medicale”, num artigo

intitulado: “Exposé sommaire des propriétés nouvelles de la procaine local en pathologie humain” (Breve exposição de novas propriedades da procaína aplicada localmente em patologia humana) (Pistor, 1976).

Nesse artigo, ele descrevia a sua vivência em tratar surdez, acúfenos, vertigens, presbiopia e cefaléia através de injeções locais de procaína. Ele supunha que os efeitos ocorriam em razão de uma estimulação neurosensorial originada pela procaína, porém de curta duração. Pistor acreditava que essa modalidade terapêutica baseada em injeções intradérmicas era tão importante que merecia uma denominação própria, mesoterapia, dada à origem embriológica da derme.

Apesar de ser este o marco mais conhecido no histórico da intradermoterapia, há que se lembrar dos experimentos anteriores que embasaram a conduta de Pistor. Eles foram mencionados por Rotunda e Kolodney, em 2006, em um artigo de revisão: em 1884, Koller, um oftalmologista, relatou a sua experiência no uso local de cocaína para manejo da dor. Em 1904, Einhorn descobriu um novo anestésico com menor risco de desencadeamento de dependência, a procaína. Em 1925, Leriche aplicou injeções intradérmicas nos espaços intercostais. Em 1937, Aron publicou um estudo sobre a injeção intradérmica de uma solução de histamina e concluiu que a injeção intradérmica de qualquer produto, em local dolorido, teria efeito analgésico.

Porém, foi a partir de Pistor que a intradermoterapia recebeu mais atenção, sendo fundada a Sociedade Francesa de Mesoterapia, em 1964. Assim, a técnica difundiu-se pelo mundo.

Pistor, em 1976, resumiu a técnica com as seguintes palavras: “Pouco, poucas vezes, e no local adequado”. O próprio fundador da mesoterapia reconheceu que tais recomendações eram empíricas e baseadas em sua experiência clínica pessoal. Ele afirmou ter percebido que, enquanto doses maiores não faziam diferença para o resultado clínico, múltiplas puncturas pareciam melhores que poucas injeções (Pistor, 1976).

A intradermoterapia foi sempre descrita nos artigos como a injeção intradérmica de fármacos altamente diluídos, próprios para essa via de utilização. A derme tornar-se-ia, então, um reservatório a partir do qual os produtos ativariam receptores dérmicos e se difundiriam lentamente, utilizando a unidade microcirculatória. Observa-se, porém que essas explicações parecem mais repetições das citações do seu precursor, já que são relatadas sempre do mesmo modo nos artigos subseqüentes (Pistor, 1976; Dalloz-Bourguignon, 1980; Tennstedt et Lachapelle, 1997; Rossi e Vergnanini, 2000; Rohrich, 2005; Maya, 2007). O procedimento básico das injeções intradérmicas varia muito de um estudo para outro, o que reflete a falta de um padrão metodológico que sustente a mesoterapia. Em comum, descrevem que a mesoterapia consiste em injeções intradérmicas ou subcutâneas de um fármaco ou de uma mistura de vários produtos, chamada “melange”. Quanto à introdução da agulha na pele, isso varia de autor para autor, e descreve-se que pode ser perpendicular ou formando um ângulo de 30 a 60 graus (Medione, 1980; De Ridder et al., 1989; Einholtz et al., 1990; Menkes et al., 1990; Aumjaud, 1992; Tennstedt e Lachapelle, 1997; Amin et al., 2006; Maya, 2007). Há, contudo, concordância entre esses autores de que a agulha deve penetrar em uma profundidade máxima de 4 mm. Para conseguir esta profundidade, preconiza-se o uso da agulha de Lebel (bisel com 4 mm de comprimento). As injeções devem abranger só a área a ser tratada e a distância entre elas também é variável, podendo distar de 1 cm (no mínimo) até 4 cm (no máximo) entre si. As aplicações relatadas nos artigos são feitas com periodicidade semanal ou mensal e o número de sessões relatadas varia de quatro a dez (Jean, 1989; Tennstedt e Lachapelle, 1997; Amin et al., 2006; Maya, 2007). Sugere-se aplicar pequenos volumes por punctura (Pistor, 1976; Dalloz-Bourguignon, 1980; Medione, 1980; Guazzetti et al., 1988; Menkes et al., 1990; Amin et al., 2006).

Além do tradicional conjunto agulha e seringa, pode-se utilizar instrumentos considerados mais sofisticados e mais caros: as pistolas de mesoterapia. Essas pistolas são injetores eletrônicos de múltiplos pontos que permitem a quantificação do volume e da profundidade da aplicação (Maya, 2007). A desvantagem desse sistema seria a dificuldade da esterilização de todo o conjunto, uma vez que só a agulha é descartável.

De todos os parâmetros descritos, parece que apenas a profundidade da injeção na mesoterapia foi definida a partir de estudos científicos. Afirma-se que a via intradérmica contaria com uma farmacocinética própria, e por isso seriam recomendáveis injeções a menos de 4 mm de profundidade (Kaplan e Coutris, 1992). Esta seria a via intradérmica superficial e as injeções com mais de 4 mm caracterizam a via intradérmica profunda. Inicialmente, explicavam-se tais recomendações de forma empírica, como relatado a seguir.

Pistor explicava o mecanismo de ação mesoterápico com sua “teoria reflexa”. De acordo com essa teoria, haveria na pele a projeção de órgãos profundos (a pele funcionaria como um mapa) e estímulos dérmicos bloqueariam terminações nervosas sensitivas, competindo com mensagens dolorosas pela via aferente sensorial.

A teoria da mesoderme de Dalloz-Bourguignon, 1980, explicava a ação da intradermoterapia baseada na ação dos fármacos. Dividia a derme em três compartimentos, que estariam alterados na doença a se tratar: unidade microcirculatória, unidade neurovegetativa e unidade de competência imunológica (células hematológicas residentes). As substâncias injetadas deveriam ser próprias para a unidade a ser tratada.

Segundo Mrejen, 1992, foi com Multedo que teve início o conceito da terceira circulação. Haveria três circulações no corpo humano: sanguínea, linfática e a terceira circulação. A terceira circulação seria a que ocorreria entre o plasma e o líquido intersticial (na substância fundamental amorfa da derme). A mesoterapia agiria no espaço intersticial. Os medicamentos injetados ficariam no interstício dérmico e seriam absorvidos por unidades microcirculatórias, atravessariam a parede capilar e atingiriam a circulação linfática ou sanguínea, de acordo com a especificidade do produto.

Por meio de um estudo de cintilografia, sugeriu-se a teoria unificada da mesoterapia (Kaplan e Coutris, 1992). Os autores estudaram 60 pacientes com neuralgias e injetaram radioisótopos junto com o produto a ser injetado. As injeções foram feitas manualmente, com profundidade de 1,5 a 2 mm. Eles concluíram que, nesse nível, a atividade local do produto permanece por longo tempo. Os autores afirmaram que há um reservatório persistente dérmico com débil difusão local, mas também perceberam que os produtos injetados na derme alcançam grandes distâncias (passam progressivamente para a

grande circulação). A conclusão a que chegaram é que a difusão nesse nível é sempre lenta, variando de acordo com o produto e o local injetado, e que as moléculas de baixo peso molecular são drenadas por via circulatória sanguínea e as de maior peso por via linfática.

A partir desses dados, concluíram que a ação da intradermoterapia ocorreria por dois fatores: a atividade de curta distância (estímulo de receptores dérmicos *in situ*) e atividade de longa distância (alcance de outros órgãos pela circulação). Assim, demonstraram a difusão dos produtos mesoterápicos, porém a explicação do mecanismo de ação da mesoterapia pelo estímulo de receptores locais ou de receptores à distância continuou sendo empírica. É essa ainda a teoria corrente e aceita pela Sociedade Francesa de Mesoterapia.

Com base nessa teoria, desenvolveu-se um conceito sempre citado em intradermoterapia, o conceito de interface meso, que seria a superfície de contato estabelecida entre os produtos injetados e o tecido injetado. Quanto mais fragmentada a substância injetada (múltiplas puncturas com menor quantidade possível do produto), maior a interface meso e maior o número dos receptores dérmicos ativados. Os praticantes de mesoterapia afirmam que o produto útil é o que permanece mais tempo na derme e pode ativar os “receptores dérmicos” (Kaplan e Coutris, 1992).

Além desse estudo de Kaplan e Coutris, surgiram outros, avaliando qual a importância da profundidade da injeção na difusão do fármaco na mesoterapia.

Mrejen (1992) realizou estudos para estabelecer se havia diferença entre a difusão de produtos injetados na derme em até 4 mm ou 10 mm de profundidade. Ele concluiu que o produto injetado em até 10 mm difunde-se mais depressa e atinge rapidamente a circulação sistêmica, sendo também eliminado com maior rapidez do que quando a injeção é em até 4 mm. Devido a esse estudo, sugere-se que as injeções na intradermoterapia sejam realizadas em até 4 mm de profundidade (para que o produto permaneça mais tempo no local).

Quanto mais superficial a injeção, mais lenta seria a difusão, permanecendo o produto mais tempo no local desejado. Cinquenta por cento da quantidade de fármaco injetado a menos de 4 mm de profundidade permaneceriam no ponto de injeção após dez minutos; enquanto que 16% dos fármacos injetados a mais de 4 mm de profundidade permaneceriam no local após dez minutos. Segundo Mrejen, Corbel, em outro estudo, também obteve resultados semelhantes e concluiu-se que a difusão de um produto em intradermoterapia depende da profundidade em que foi injetado. Pode se ilustrar essa diferença de distribuição com curvas de eliminação: a via intradérmica superficial teria uma curva de eliminação do tipo monoexponencial, e a via intradérmica profunda teria uma curva biexponencial (uma eliminação inicial mais rápida, correspondendo quase a uma injeção intravenosa, seguida de uma eliminação mais lenta por um reservatório dérmico) (Mrejen, 1992).

Porém, como citado anteriormente, a maioria dos trabalhos sobre intradermoterapia em revistas indexadas relata as suas complicações. A mais temida e freqüentemente relatada é a infecção por micobactérias, exigindo meses de tratamento com drogas múltiplas e geralmente resultando em cicatrizes inestéticas (Guillaume et al., 1984; Friedel et al., 1987; Paul et al., 1997; Nagore et al., 2001; Marco-Bonnet et al., 2002; Cooksey et al., 2004; Henry et al., 2005; Rivera-Olivero et al., 2006; Sañudo et al., 2007). Aparentemente, a infecção secundária descrita em tais trabalhos poderia ser explicada por uma assepsia inadequada pré-procedimento ou pela contaminação do produto utilizado.

Outras complicações relatadas são: erupção liquenóide (Vaillant et al., 1992), indução de psoríase (Rosina et al. 2001), urticária (Urbani, 1994; Bessis et al., 2004), necroses cutâneas (Lee e Chang, 2005), lúpus eritematoso sistêmico (Colón-Soto et al., 2006), paniculite (Tan e Rao, 2006), acromia e atrofia (Tennstedt e Lachapelle, 1997). Tais complicações são atribuídas à má técnica ou ao efeito do medicamento em si.

Segundo Tennstedt e Lachapelle (1997) existem produtos injetáveis que são proscritos para o uso mesoterápico, pelo risco de necrose cutânea. São eles: as substâncias alcoólicas ou as oleosas.

Inicialmente, os trabalhos sobre mesoterapia versavam mais sobre o tratamento das doenças dolorosas. Assim, há relatos do uso da intradermoterapia com benefício no tratamento de tendinite (Menkes et al., 1990), cervicobraquialgia (Palermo et al., 1991), doenças musculoesqueléticas (Guazzetti et al., 1988), dor oral e periodontal (Vaillant, 1986; Medione, 1980). Há relato de estudo randomizado, comparando a eficácia da mesoterapia em relação ao laser no tratamento da dor lombar subaguda com disfunção sacroilíaca, com resultado positivo das injeções (Monticone et al., 2004). Outro relato é sobre a substituição da prescrição de antiinflamatórios por uma única sessão de mesoterapia no pós-operatório de cirurgia odontológica, com aparente controle da dor (Einholtz et al., 1990). Também existe um artigo de revisão, citando a mesoterapia como alternativa para tratamento de dores articulares (De Ridder et al., 1989). Esses estudos têm em comum o fato de apresentarem a intradermoterapia como uma alternativa no arsenal terapêutico da dor, mas frisam que há necessidade de mais estudos para aumentar o conhecimento dessa terapêutica.

A partir de 2001, surgiram trabalhos indexados no MedLine sobre o uso da intradermoterapia para as dermatoses inestéticas.

Há relatos sobre a injeção de uma substância lipolítica (deoxicolato ou fosfatidilcolina) no subcutâneo, com o nome de mesoterapia, para tentar diminuir a camada de gordura em localizações como abdômen, pálpebra inferior, pescoço, glúteo ou coxas (Rittes, 2001; Rittes, 2003; Doerr, 2007). Alguns estudos são revisões sobre o papel da mesoterapia na lipodistrofia ginóide (Rotunda et al., 2005), outros, sobre o papel da mesoterapia na lipólise (Matarasso et al., 2005; Rohrich, 2005; Rotunda et al., 2006). Tais revisões concluem que, teoricamente, a injeção subcutânea de determinados produtos pode funcionar, mas faltam publicações científicas indexadas para embasar essa técnica.

Em 2004, Rotunda et al. publicaram um estudo em que injetaram os dois principais componentes do produto lipolítico (fosfatidilcolina e deoxicolato de sódio) usado para injeções subcutâneas. Com o uso de tecido gorduroso suíno, concluíram que a fração ativa do produto é o deoxicolato de sódio e que esse age como um detergente, causando lise não específica da parede celular adiposa. Em 2005, Rose e

Morgan publicaram um estudo mostrando os exames anatomopatológicos de biópsias de um paciente após o tratamento com fosfatidilcolina e deoxicolato de sódio. A histologia mostrou inflamação e necrose no tecido adiposo.

Conceitualmente, é discutível se a técnica empregada seria mesoterapia, já que o número de puncturas e o volume injetado não correspondem ao tradicionalmente utilizado na intradermoterapia.

Anterior ao estudo desta tese sobre intradermoterapia, há apenas um artigo avaliando a eficácia da mesoterapia para tratamento facial do fotoenvelhecimento (Amin et al., 2006). Os autores selecionaram dez pacientes e os submetem a quatro sessões de mesoterapia facial, com intervalo mensal de aplicação e injetaram uma mistura de ácido hialurônico e vitaminas. A avaliação do tratamento foi feita com fotos pré e pós-tratamento e através de exames anatomopatológicos (microscopia de luz e eletromicroscopia). As biópsias foram realizadas imediatamente antes da primeira sessão e dois meses após a última aplicação. Os autores não notaram mudanças clínicas ou histológicas com significância estatística, mas a eletromicroscopia mostrou maior número de fibras colágenas de menor diâmetro, após o tratamento. Os pesquisadores creditaram tal achado à síntese de colágeno “de novo” em virtude do estímulo mesoterápico, como uma zona de reparo.

1.2- O silício orgânico

O silício orgânico é um produto tradicional do arsenal mesoterápico.

Silanol é um sinônimo utilizado para designar um silício orgânico. O silício mineral é pouco absorvido no estômago, e, portanto, de pouco interesse para o uso em humanos e em animais. Desse modo, a opção para tratamento é o silanol - nome utilizado para designar substâncias derivadas do silício hidrossolúvel. A absorção do silício é consideravelmente maior na forma de silanol, como demonstrou um estudo do silício e osteogênese (Allain et al., 1983). Além disso, estudos toxicológicos referiram-se ao derivado hidrossolúvel do silício como seguro, não sendo genotóxico para o uso em seres vivos (Isquith et al., 1988; Zondlo, 2002).

Em 1972, Carlisle demonstrou que a deficiência nutricional de silício diminuía a síntese de colágeno e a formação das proteínas e glicosaminoglicanos dos ossos e cartilagens. Em 1973, Schwarz sugeriu que o silício é um elemento constituinte dos complexos de proteína e glicosaminoglicanos. Em 1976, Carlisle publicou um estudo em que afirma que o silício seria necessário para a formação dos glicosaminoglicanos nos ossos e cartilagens, para o desenvolvimento do tecido embrionário mesenquimal e nos primeiros estágios da calcificação.

Em 1977, Austin relatou que o silício está presente em vários tecidos do corpo humano, como na pele, unhas e cabelo, porém é particularmente abundante nas estruturas do tecido. Em 1981, sugeriu-se que o silício interfira na síntese de colágeno tipo I: *in vitro*, a atividade da prolil hidroxilase parece ser dependente da concentração de silício no meio de cultura (Carlisle, 1981a). Um estudo com animais em crescimento, privados da ingesta de silício, demonstrou retardo no crescimento e defeito nos tecidos ósseo e conjuntivo (Carlisle, 1981b).

Estudos com animais avaliaram o envolvimento do silício no metabolismo ósseo, tanto para animais jovens quanto para modelos animais de osteoporose na pós-menopausa (Hott et al., 1993; Seaborn e Nielsen, 1994; Jugdaohsingh et al., 2000; Seaborn e Nielsen, 2002a). No modelo animal para osteoporose, foram usadas ratas ooforectomizadas, sugerindo que um tratamento preventivo com silício orgânico evitaria parcialmente a perda do osso trabecular, diminuindo a reabsorção e aumentando a formação óssea (Hott et al., 1993).

Em um estudo sobre cicatrização, foram implantadas esponjas em ratos e, após formação de tecido cicatricial ao redor das mesmas, estudou-se a composição da cicatriz. Ratos com dieta normal apresentaram uma cicatriz mais rica em hidroxiprolina do que ratos privados de silício. Os autores concluíram que a privação de silício diminui a formação de colágeno tipo I (Seaborn e Nielsen, 2002b).

Outros trabalhos utilizaram o silício para diversos fins.

Gendre, em 1969, publicou um trabalho experimental sobre placas de ateromas em coelhos, afirmando que o silício orgânico possui ação antiesclerosante, atuando como reestruturador do tecido arterial.

Em 1977, Levrier et al. empregaram o salicilato de silanol, ou salicilato de monometiltrissilanol, para tratamento de mastopatias policísticas dolorosas, avaliando o resultado através de mamografias. Utilizaram o silício na forma injetável, oral e localmente, para tratar 347 mulheres, e concluíram que se trata de uma substância útil para diminuir a dor, o tamanho dos nódulos e ajudar na regressão dos macrocistos. Nesse estudo, publicado em uma revista não indexada, os autores sugerem que o silanol reestrutura o tecido conjuntivo.

O silício orgânico aparece também como componente de colírio para o tratamento de catarata, na composição de creme dental abrasivo e como excipiente para supositórios (Dal Zotto et al., 1991; Städtler e Höller, 1992; Verin et al., 1994).

A partir dos estudos anteriores, mostrando a importância do silício na estrutura e função de tecido conjuntivo e sua aparente capacidade em melhorar a textura mesenquimal, surgiram descrições defendendo o seu uso para tratar distúrbios inestéticos. Os artigos encontrados sobre a aplicação intradérmica do silanol não são de publicações indexadas e carecem de modelos experimentais mais consistentes.

Em 1989, em uma revista não indexada, Jean indicou o uso do salicilato de monometiltrissilanol ou salicilato de silanol para aplicação intradérmica em pacientes com lipodistrofia ginóide. Sugeriu uma mistura do produto citado com um outro produto vasodilatador e tratou 97 pacientes de idades e graus de acometimento diversos. A avaliação da eficácia do tratamento foi feita de forma pouco rigorosa, através da análise de fotografias e de variações de “manequim” das roupas das pacientes.

Em 1992, Aumjaud, também em uma publicação não indexada, preconizou o uso de um silício orgânico para o uso intradérmico em estrias antigas e para peles com rítides e fotoenvelhecimento. No estudo foi utilizado silício orgânico associado a outras substâncias, e o autor não mencionou qualquer estudo científico que suportasse tal recomendação, referindo tratar-se de sua experiência.

Maya, em um artigo de revisão publicado em 2007, citou o silício orgânico como uma medicação intradérmica capaz de estimular a síntese de colágeno.

Em 1997, Calomme et al. realizaram um estudo em que aumentaram a ingestão alimentar diária de silício em 5% em bezerros, durante 24 semanas. Relataram um conteúdo significativamente maior de hidroxiprolina na derme desses animais, em comparação com o grupo de controle, e uma relação estatisticamente significativa entre o nível sérico de silício e o conteúdo de hidroxiprolina nas cartilagens.

Vale lembrar que os alimentos ricos em fibras, como vegetais e grãos integrais, são a maior fonte de silício na dieta, e que experimentos com o uso de doses de até 50 mg ao dia de suplemento com silício orgânico, não relataram efeitos colaterais (Pennington, 1991).

Em 2005 foi realizado um estudo duplo-cego randomizado, que avaliou o efeito da suplementação oral de 10 mg ao dia, por 20 semanas, de silício orgânico sobre a pele, unhas e cabelos. Cinquenta pacientes foram divididos em dois grupos, um recebendo tratamento e o outro, placebo. A análise subjetiva dos pacientes indicou melhora de parâmetros, como brilho e hidratação dos tecidos estudados, no grupo que recebeu silício. A análise objetiva do microrrelevo e das propriedades mecânicas da pele revelou melhora significativa em comparação ao grupo de controle. Os autores sugeriram que, como o silício estimula a síntese de hidroxiprolina e colágeno tipo I, essa melhora podia ser atribuída a uma regeneração ou a uma síntese de novo de fibras colágenas. Esse mesmo estudo demonstrou que, após a suplementação via oral de silício orgânico, havia um aumento de 90% na concentração sérica de silício, demonstrando a bioavaliabilidade dos silícios hidrossolúveis. Além disso, os autores dosaram os níveis de colesterol, uréia, creatinina, bilirrubinas, transaminases, ácido úrico, amilase, lipase, sódio, cálcio, fósforo e zinco no início e fim da suplementação oral e não notaram qualquer alteração nesses parâmetros durante o tempo do experimento (20 semanas) seja no grupo de controle ou no grupo de silício (Barel et al., 2005).

Outros artigos mostraram como a forma orgânica ou hidrossolúvel do silício é bem absorvida (Chanalet et al., 1995; Jugdaohsingh et al., 2002; Sripanyakorn et al., 2004; Izu et al., 2006) independente de ser administrada como suplemento oral, tópico conjuntival ou por meio do aumento de duas vezes da ingestão alimentar diária de tal elemento. A absorção do silício (na forma de suplemento ou o retirado da dieta rica em grãos, cereais e até cerveja) ocorre através de hidrólise no trato gastrointestinal. Após a ingestão de silício hidrossolúvel, a concentração sérica de silício permanece alta por até 6 horas, tendo pico no período de 100 a 120 minutos (Jugdaohsingh et al., 2002). Seja administrado como suplemento, seja absorvido na dieta, ou seja aplicado na conjuntiva ocular, é preferencialmente excretado pelos rins. Após instilação de colírio com silício, detectou-se 40% de excreção renal da quantidade de silício aplicada. Nesse mesmo estudo, os autores concluíram que o silício aplicado como colírio mostra atividade máxima num período de 6 a 12 horas e que se difunde progressivamente da conjuntiva para a córnea, para a íris, para a retina, para o corpo vítreo e, por fim, para o humor aquoso, num processo de difusão passiva (Chanalet et al., 1995).

Em um estudo sobre disponibilidade do silício na cerveja, concluíram que após 0,6 litros de cerveja pode-se detectar aumento sérico e da concentração urinária de silício (Sripanyakorn et al., 2004). Ainda a favor da excreção renal do silício, um artigo afirmou que o maior período de excreção do silício orgânico ocorre em até 6 horas após sua ingestão e apresenta média de excreção na urina de $40,9 \pm 36,3$ % (essa variação dependeria da fonte de ingestão); porém no período de 6 a 9 horas ainda há pequena porcentagem de excreção renal. A excreção renal total de silício variaria de 49 ± 34 % da concentração ingerida (Jugdaohsingh et al., 2002).

Outros pontos interessantes sobre silício e metabolização são: homens absorvem mais tal mineral na alimentação que mulheres (absorção aumentada em 20 a 34%) e a absorção de silício na dieta diminui com a idade, na taxa de 0,1 mg a cada ano de vida (Jugdaohsingh et al., 2002). Também parece importante salientar que, aparentemente, o aumento na concentração sérica de silício após suplementação diária não é tão significativo até quatro semanas de ingestão. A dosagem da concentração sérica de silício após oito semanas de suplementação é duas vezes maior que a dosagem com quatro semanas (Izu et al., 2006).

Após suplementação oral de silício, o aumento de sua concentração já foi demonstrado em tecidos como osso, tendão, aorta, fígado e rins. Não há uma dosagem mínima recomendada da ingestão diária de silício, porém estabeleceu-se uma sugestão de ingestão diária de 10 a 25 mg de silício, baseada na taxa de excreção urinária do silício no homem, em 24 horas (Jugdaohsingh et al., 2002).

1.3- Análise da textura da derme

Textura é uma característica que descreve a aparência de uma parte da imagem e geralmente é expressa como regular, arenosa, macia, grosseira etc. Com o advento das imagens digitalizadas (adquiridas por computador), surgiram novas alternativas para análise de textura em imagens digitais, incluindo estatística simples, estatística markoviana, análise de gradientes, análise granulométrica, TRF e dimensão fractal (Adam, 2002). Esses métodos permitem avaliar pequenas mudanças que não são perceptíveis ou não são óbvias ao olho humano, mas que existem na figura analisada.

Dentro dessas abordagens, foram utilizadas a TRF e a dimensão fractal em um dos artigos desta tese.

A TRF é um algoritmo matemático, utilizado em um programa de computador desenvolvido no Departamento de Anatomia Patológica da FCM-Unicamp, que calcula a textura de qualquer figura irregular, incluindo ondas. Permite calcular desde a textura de ondas do mar até a textura de fibras colágenas, contudo que estejam numa imagem digital. A TRF é utilizada como um método objetivo em dermatopatologia, permitindo análise de textura nuclear, periodicidade e espaçamento de vasos e colágeno (Heymans et al., 1999; Adam, 2002; de Rie et al., 2003).

O método descrito a seguir está de acordo com o descrito previamente por Metze et al., 2002a; Metze et al., 2002b; Metze et al., 2003 e Auada et al., 2006. Para se submeter uma imagem digital à TRF, ela precisa antes ser preparada. O primeiro passo é transformar a imagem original colorida em uma imagem cinza, capaz de ser analisada pelo programa. A imagem original (Figura 1) é convertida então em escala de cinza (Figura 2), com níveis de luminância variando de 0 (ausência de brilho) até 255 (brilho intenso).

A descontinuidade abrupta das bordas da imagem alteraria o resultado da textura. Para amenizar esse obstáculo, adiciona-se uma moldura nas bordas da imagem, cuja cor de preenchimento corresponde ao tom de cinza médio da imagem (Figura 3). Assim a imagem está pronta para ser transformada.

O cinza de cada pixel dentro da moldura será interpretado e convertido em um par de pixels em uma nova imagem, chamada de imagem transformada de Fourier (Figura 4). Nessa imagem transformada, cada fibra (ou cada onda) é convertida a apenas um par de pixels, podendo-se então calcular a textura através do cálculo de inércia.

O cálculo de qualquer parâmetro, incluindo a inércia, é feito em determinadas regiões da imagem transformada de Fourier. A imagem é dividida em setores e anéis (Figura 4) e dependendo da estrutura estudada, escolhe-se o ângulo da figura a ser analisado.

A dimensão fractal é outro método de análise de textura digital utilizado. A dimensão fractal surgiu com a geometria fractal (Jelinek et al., 2005). A geometria euclidiana não é suficiente para analisar os fenômenos da natureza, já que não analisa superfícies irregulares.

Fractal vem do termo fração e significa fragmentado e irregular.

A melhor maneira de entender a dimensão fractal é pensar em fracionar para estudar. A dimensão fractal pode ser entendida como uma medida de complexidade de uma imagem digital. Quanto maior a quantidade dos elementos em uma imagem, maior será a dimensão fractal.

Há vários métodos para se calcular a dimensão fractal, entre eles o de Sarkar (Adam et al., 2004; Jelinek et al., 2005). Esse método também necessita de uma pré-conversão da imagem original em uma escala de tons cinza, como explicado anteriormente. A imagem cinza é convertida em um objeto tridimensional: os lados do quadrado tornam-se o plano e o nível de cinza da imagem transforma-se em sua altura. A imagem passa a ser representada como um terreno montanhoso.

Essa imagem será dividida para ser estudada: inicialmente por uma grade de colunas e posteriormente cada coluna será dividida em cubos. A figura fragmentada é passível então de ter a dimensão fractal calculada, através da regressão linear entre o número de cubos e a largura das colunas.



Figura 1- Imagem original da derme de uma voluntária, aumento de 200 vezes.

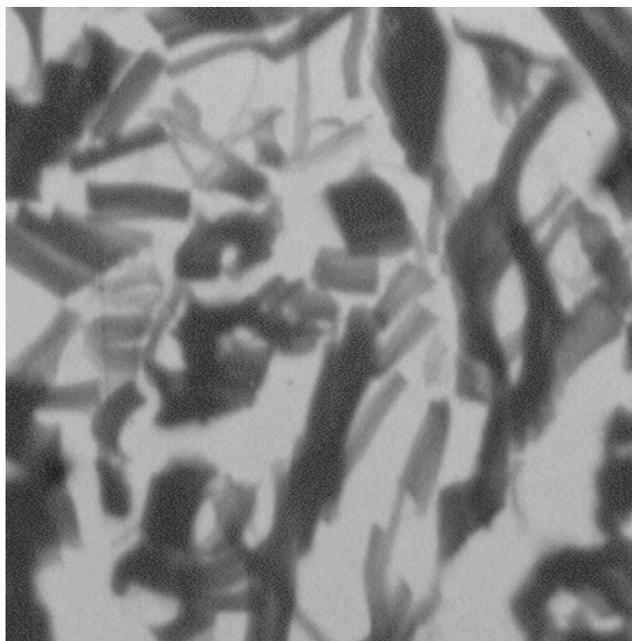


Figura 2- Imagem da derme da Figura 1 em tons de cinza, aumento de 200 vezes.

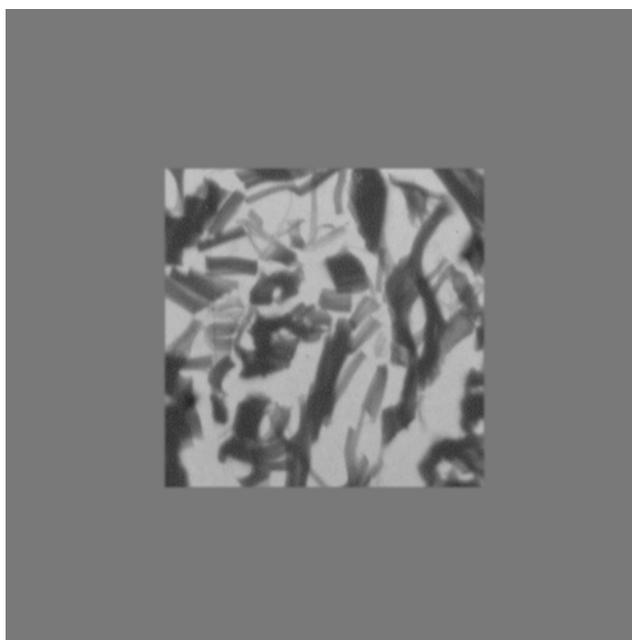


Figura 3- Moldura para amenizar as bordas da figura.

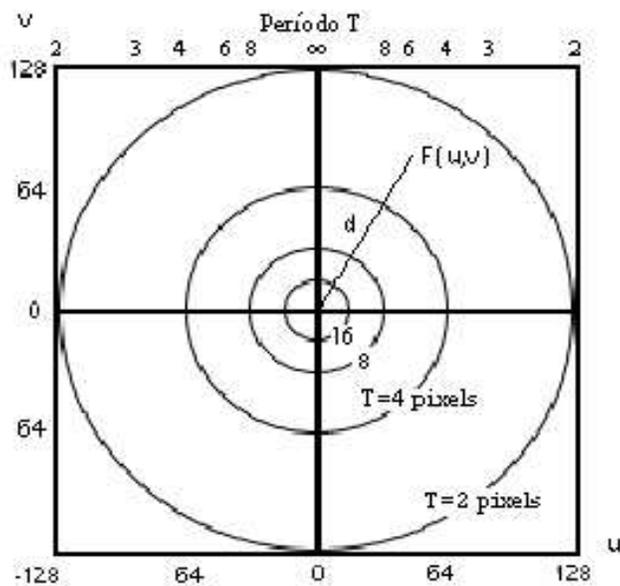


Figura 4- Divisão da imagem em setores e anéis.

1.4- Fotoenvelhecimento

O primeiro artigo desta tese utilizou pele de pacientes com fotoenvelhecimento para estudo. Foram selecionadas pacientes de fototipo III de Fitzpatrick e fotoenvelhecimento moderado (tipo II) segundo Glogau.

A classificação dos fototipos de Fitzpatrick baseia-se na resposta individual à exposição solar, e não em raças ou etnias. O fototipo I de Fitzpatrick corresponde a uma pessoa que se queima facilmente e nunca se bronzeia, quando exposta ao sol. O fototipo II queima-se facilmente, bronzeia-se minimamente e com dificuldade. O fototipo III queima-se moderadamente, bronzeia-se de forma moderada e uniforme. O fototipo IV queima-se pouco e bronzeia-se moderada e facilmente. O Fototipo V raramente se queima e bronzeia-se profusamente. O fototipo VI nunca se queima e bronzeia-se profusamente (Astner e Anderson, 2004).

Já a apresentação clínica do fotoenvelhecimento pode ser dividida em quatro tipos, segundo a classificação de Glogau. O tipo I de Glogau ou fotoenvelhecimento inicial caracteriza-se por mínimas ou ausência de rugas, ausência de ceratoses e leve ou inexistente alteração pigmentar. O tipo II ou fotoenvelhecimento leve a moderado caracteriza-se por rugas de expressão, ceratoses palpáveis, mas não visíveis e sulco nasolabial mais pronunciado. O tipo III ou fotoenvelhecimento moderado apresenta rugas em repouso, discromias e ceratoses aparentes. O tipo IV apresenta pele toda enrugada, não mostrando área sem rugas (Ramos-e-Silva e da Silva Carneiro, 2007).

O envelhecimento pode ser entendido como um processo no qual há diminuição do funcionamento máximo e da capacidade de reserva de todos os órgãos, incluindo a pele (Yaar e Gilchrest, 2007). Tradicionalmente, o envelhecimento cutâneo é dividido em envelhecimento extrínseco (ou fotoenvelhecimento) e em envelhecimento intrínseco.

O envelhecimento intrínseco corresponde às alterações da pele de pessoas idosas observáveis em regiões do corpo protegidas do sol. Clinicamente, apresenta-se como áreas de pele mais fina e pálida, que pode mostrar rugas finas (Chung e Eun, 2007). O fotoenvelhecimento ou envelhecimento extrínseco, quando comparado ao intrínseco, mostra alterações clínicas mais evidentes, como rugas mais profundas e abundantes, maior perda de elasticidade cutânea e telangectasias.

O fotoenvelhecimento depende de fatores como o tipo de pele, a natureza da exposição solar, a presença de cobertura como roupas e a capacidade de reparo individual da pele (Ramos-e-Silva e da Silva Carneiro, 2007).

Pode-se observar essa diferença da vulnerabilidade e da capacidade de regeneração cutânea dos indivíduos nas apresentações clínicas do envelhecimento extrínseco.

Pacientes de fototipo I e II de Fitzpatrick podem apresentar mais comumente atrofia cutânea, hipocromia focal, lesões pseudocicatriciais e maior tendência a lesões displásicas como ceratoses actínicas e malignidades epidérmicas (maior tendência a fotocarcinogênese). Pessoas de fototipo III e IV de Fitzpatrick tenderiam a apresentar um fotoenvelhecimento mais hipertrófico, com rugas mais profundas e abundantes, pele mais espessa e hiperpigmentações mais frequentes como lentigos (Yaar e Gilchrest, 2007).

O fotoenvelhecimento pode ser entendido como a superposição do envelhecimento intrínseco e dos danos crônicos por radiação ultravioleta (UV). O envelhecimento intrínseco ou cronológico da pele mostra alterações progressivas do tecido conjuntivo, porém estas alterações são mais severas e evidentes no envelhecimento extrínseco. O fotoenvelhecimento apresenta aumento do espaço entre as fibras do tecido conjuntivo, fibras mais finas e desorganizadas, em comparação à pele intrínsecamente envelhecida (Yaar e Gilchrest, 2007).

Histologicamente, notam-se no fotoenvelhecimento aumento na compactação do estrato córneo, aumento da espessura da camada de células granulosas e alteração da espessura epidérmica (áreas irregulares de hipo ou hiperplasia epidérmica). Na derme, apresenta-se o marcador mais lembrado do fotoenvelhecimento, a elastose. A elastose corresponde à deposição de fibras elásticas fragmentadas e parcialmente degradadas. Ocorre também degeneração basofílica, a substituição progressiva das fibras colágenas maduras por um colágeno de aparência mais basofílica. Aumenta a quantidade de substância extracelular como glicosaminoglicanos e proteoglicanos e a quantidade de fibras elásticas diminui. Pode aparecer a heliodermatite, com seu aumento de fibroblastos hiperplásicos e de células inflamatórias como mastócitos, histiócitos e outras (Yaar e Gilchrest, 2007).

O mecanismo do fotoenvelhecimento inclui vários processos.

O processo de sinalização de receptores é estimulado por radicais livres (espécies reativas de oxigênio) formados pelas células em virtude da exposição UV ou pelo próprio metabolismo aeróbio. Essas espécies reativas de oxigênio ativam receptores celulares de superfície (receptores de fator de crescimento epidérmico, de interleucina – I, de insulina, de fator de crescimento de queratinócitos, de fator de necrose tumoral alfa). Os receptores ativados iniciam um processo de sinalização interna que resulta na síntese do complexo de transcrição nuclear AP-1. O aumento de AP-1 diminui a síntese de colágeno e pró-colágeno e aumenta a síntese de metaloproteínas responsáveis pela degradação de colágeno e da matriz dérmica. A degradação de colágeno induzida por UV geralmente é incompleta, gerando acúmulo de fragmentos de fibras parcialmente degradadas na derme, o que prejudica a integridade e estrutura dérmica (Fisher et al., 2002).

Outro processo citado é de que a radiação UV induz maior formação de espécies reativas de oxigênio dentro da mitocôndria. Normalmente, a pele envelhecida intrinsecamente já produz tais espécies dentro da mitocôndria, porém essa síntese aumenta em dez vezes na pele exposta ao UV. Tal processo é tão associado ao fotoenvelhecimento que é considerado um marcador molecular de fotodano. O acúmulo de radicais livres na mitocôndria altera a geração de energia da célula e compromete também os fibroblastos dérmicos (Birch-Machin et al., 1998).

A oxidação protéica também tem papel no fotoenvelhecimento. Radicais livres induzem danos nas proteínas da derme superficial, atingindo o colágeno e a elastina. Essas fibras perdem sua função estrutural protéica e têm alterada a capacidade de serem degradadas. As proteínas danificadas permanecem por mais tempo e se acumulam na derme porque há menor capacidade de degradá-las (Sander et al., 2002).

Por fim, o encurtamento dos telômeros parece implicado no envelhecimento extrínseco. Os telômeros são estruturas que recobrem a porção terminal dos cromossomos, prevenindo sua fusão. As últimas 100 a 200 bases dos telômeros perdem-se a cada divisão celular e quando o telômero atinge um comprimento crítico, a célula não se divide mais. A radiação UV parece implicada no encurtamento mais precoce dos telômeros, produzindo senescência ou apoptose celular (Yaar e Gilchrest, 2007).



2- OBJETIVOS

Artigo 1

2.1- Objetivo geral

Comparar histologicamente a pele de mulheres com fotoenvelhecimento moderado, submetidas a injeções intradérmicas de salicilato de silanol e a injeções intradérmicas de soro fisiológico.

2.2- Objetivos específicos

2.2.1- Analisar a densidade das fibras colágenas e elásticas na derme injetada com salicilato de silanol e compará-la com a densidade das fibras na derme que recebeu soro fisiológico.

2.2.2- Avaliar a textura da derme que recebeu salicilato de silanol em comparação com a derme que recebeu soro fisiológico.

Artigo 2

2.3- Objetivo

Relatar o caso de uma paciente com cicatrizes atróficas após receber tratamento para micobacteriose atípica. As cicatrizes foram submetidas a injeções intradérmicas de silanol e obtiveram melhora parcial.



3- CAPÍTULO

3.1- Artigo publicado em revista de língua inglesa.

Herreros FO, Cintra ML, Adam RL, de Moraes AM, Metze K. Remodeling of the human dermis after application of salicylate silanol. Arch Dermatol Res 2007; 299: 41-45.

Remodeling of the human dermis after application of salicylate silanol

F. O. C. Herreros · M. L. Cintra · R. L. Adam ·
A. Machado de Moraes · Konradin Metze

Received: 11 July 2006 / Revised: 11 November 2006 / Accepted: 16 January 2007 / Published online: 28 February 2007
© Springer-Verlag 2007

Abstract Recently, a controlled double-blind study in patients with photo-aged facial skin demonstrated the beneficial role of oral intake of silanol for skin, hair and nails. The aim of our pilot study was to investigate histologic alterations in human skin after injection of silanol. Seven healthy female caucasian volunteers with a moderate degree of photoaged skin received ten sessions of weekly injections of 0.1% salicylate silanol in the left ventral lateral forearm. The histologic features of punch biopsies of the treated area and the non-treated contralateral arm were compared and the collagen and elastic fibers quantified. Texture analysis was performed on digitalized microscopic images by analyzing the Sarkar fractal dimension or amplitudes (inertia values) after Fast Fourier transformation. The treated area revealed a statistically significant increase of the density of both collagen and elastic fibers. Texture analysis showed more compact and homogeneously distributed collagen fibers after silicon injection. Our results suggest that the application of silicon may stimulate the production of collagen and elastic fibers leading to remodeling of the dermal fiber architecture,

which may explain the improvement of the skin surface observed in clinical studies.

Keywords Dermis · Silanol · Collagen · Elastic fiber · Texture analysis · Fast Fourier Transform · Fractals

Decrease in skin components such as collagen, glycosaminoglycans and proteoglycans and degeneration of elastic fibers (elastosis) are main factors for the genesis of a rough and wrinkled skin surface. Since experimental studies underlined the role of silicon (Si) as an important component for collagen synthesis and the formation of glycosaminoglycans, the supplementation of Si, in the form of water soluble organic derivatives (silanols) for cosmetic reasons has attracted attention. Recently, a placebo-controlled double-blind study in patients with photo-aged facial skin demonstrated the beneficial role of oral intake of Si for skin, hair and nails [4]. In that study an improvement in skin parameters such as microrelief and anisotropy could be shown, which the authors attributed to a potential regeneration or de novo synthesis of collagen fibers [4]. The aim of our pilot study was to investigate histologic alterations in human skin after injection of soluble Si, in particular, to examine the density of collagen and elastic fibers and to describe changes of their texture features. According to the results of Barel et al. [4], we hypothesized that the number of collagen and elastic fibers would be increased in the dermis after Si treatment, and that the tissue architecture would be more homogeneous than that of untreated photodamaged skin. Seven healthy female caucasian volunteers (from 38 to 50 years old) participated in this study after written informed consent. Ethical approval was obtained from our institutional Ethics Committee (protocol 181/2004).

F. O. C. Herreros · A. M. de Moraes
Dermatology Unit, Department of Clinical Medicine,
Faculty of Medicine, State University of Campinas,
Campinas, Brazil

M. L. Cintra · K. Metze (✉)
Department of Pathology, Faculty of Medicine,
State University of Campinas, P.O. Box 6111,
13081-970 Campinas, SP, Brazil
e-mail: kmetze@fcm.unicamp.br

R. L. Adam
Institute of Computing,
State University of Campinas, Campinas, Brazil

All volunteers showed phototype III and a moderate degree of photoaging. We tested the effect of 0.1% salicylate silanol (organic silicium) diluted in 0.9% NaCl versus placebo (0.9% NaCl) in an area of about $5 \times 5 \text{ cm}^2$ on the ulnar side of the ventral forearm, at a distance of about 2 cm from the fossa ulnaris, applying silanol on the left and placebo on the right forearm. After local disinfection the volunteers received 12 intradermal injections perpendicular to the skin surface (using a 4 mm Lebel's needle) of 0.1 ml volume at a distance of 1.5 cm between them. This procedure was repeated once a week with a total of ten application sessions. Two weeks after the end of the last treatment a 3 mm punch biopsy was performed on each side (under local anesthesia, with 2% lidocaine without adrenaline). The samples were immediately fixed in 4% buffered formaldehyde and routinely included in paraffin. 5 μm thick sections were stained with hematoxylin–eosin, Weigert's elastica staining and Picrosirius Red. For quantification of the collagen and elastic fibers an eye piece graticule with cycloides was used as described elsewhere [6]. The system was positioned over the subepidermal dermis (at $20\times$ objective magnification) in parallel to the surface and the intercepts were counted in ten randomly chosen fields. For collagen fiber measurements Picrosirius stained slides were examined under polarized light. Assuming that the dermal fiber content should be very similar in both arms before treatment, we defined the fiber content of the untreated arm as the pretreatment fiber density and estimated the fiber gain after therapy as the difference between both arms. From each biopsy, ten horizontally orientated, randomly chosen bitmap images of the upper dermis (size $48 \times 48 \mu\text{m}$, equivalent to 480×480 pixels) were taken using the Kontron Zeiss KS300 system (0.5 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ spatial resolution). The analysis was done by an examiner blinded to the diagnosis. The images of the picrosirius stained sections, examined under polarized light, were converted to grayscale format with the levels of luminance ranging between 0 (absence of light) and 255 (very bright), as described elsewhere [1–3, 8–11, 13]. Images of the Weigert-stained elastica fibers were gray scale transformed using the complement of the red channel (luminance level 255 – red luminance). Interpreting the luminance of each pixel as the height of z-axis, we created pseudo-three-dimensional “landscape-like” representations, which we submitted to the Fast Fourier Transformation (FFT). These FFT pictures give us precise information about the wave structures (harmonic components) inherent in the original image [3, 8–11]. The inertia values of the FFT images, which are equivalent to the amplitudes of the harmonic waves building

up the microscopic image, characterize the evenness of the distribution of the elements. Higher amplitudes are equivalent to a more contrasted, repetitive pattern in the microscopic image of the dermis [3, 8–11]. We draw special attention to special frequency ranges, equivalent to the following spatial periods from (a) infinity to 9 μm , (b) 9–6 μm and (c) 6–4.5 μm . These spatial ranges have shown to be relevant for the characterization of dermal collagen by the FFT method [8–10].

Our hypothesis was to find a more densely packed, homogeneous and “smoother” distribution of collagen fibers after therapy, equivalent to a more homogenous skin surface, as described by clinical observation [4]. In this case the amplitudes in the FFT images would be lower in the relevant frequency ranges (from infinite to 4.5 μm). Furthermore, we estimated the fractal dimension according to Sarkar [1]. Since the addition of fibers in the dermis would increase the number of elements per image, the fractal dimension should increase for theoretical reasons [7]. The measurements of both arms were compared with the help of the one-tailed Wilcoxon test, in order to minimize the beta error.

Elastica stained biopsies from the left forearm (treated with silanol) showed a more uniform distribution of the fibers than the biopsies from the right forearm. The elastic fibers from the silanol treated skin appear to be longer, more abundant and less fragmented than the forearm that received physiological solution (Fig. 1). No inflammatory cells or foreign body reaction were seen. In Picrosirius stained slides the collagen fibers appeared to be more numerous (Table 1). By counting the intercepts, we found a mean collagen fiber increase of 23% ($P = 0.009$) in the dermis of the treated arm. There was no correlation between the increase of the collagen fiber content and the collagen fiber density in the non-treated skin. In a similar way the density of the elastic fibers was 45% higher ($P = 0.009$) in the treated arm (Table 1). Yet volunteers with lower initial elastic fiber density showed a more intensive increase than women with higher initial elastica content, which could be documented by an indirect Spearman correlation ($r = -0.75$; $P = 0.026$; Fig. 2).

The Fast Fourier Analysis demonstrated significant differences in the architecture. In every frequency range examined, the amplitudes were lower in the treated skin, indicating a more homogenous distribution with more densely packed collagen (Table 2). The difference was -7.4% ($P = 0.021$) for the spatial range (a), -9.6% ($P = 0.031$) for range (b) and -9.0% for (c) ($P = 0.08$). For the elastic fibers, however, no significant differences between the amplitudes of the FFT images could be found.

Fig. 1 One picture pair from each patient (a–g) comparing images after application of silanol (T) or placebo (P). Although there are important interindividual variations between the patients after application of silanol the reticular dermis shows more homogeneously and densely packed (type I) collagen fibers (stained in red) in typical vortiginous arrangement and a less elastotic appearance (Weigert van Gieson staining, elastic fibers in black objective magnification $\times 200$)

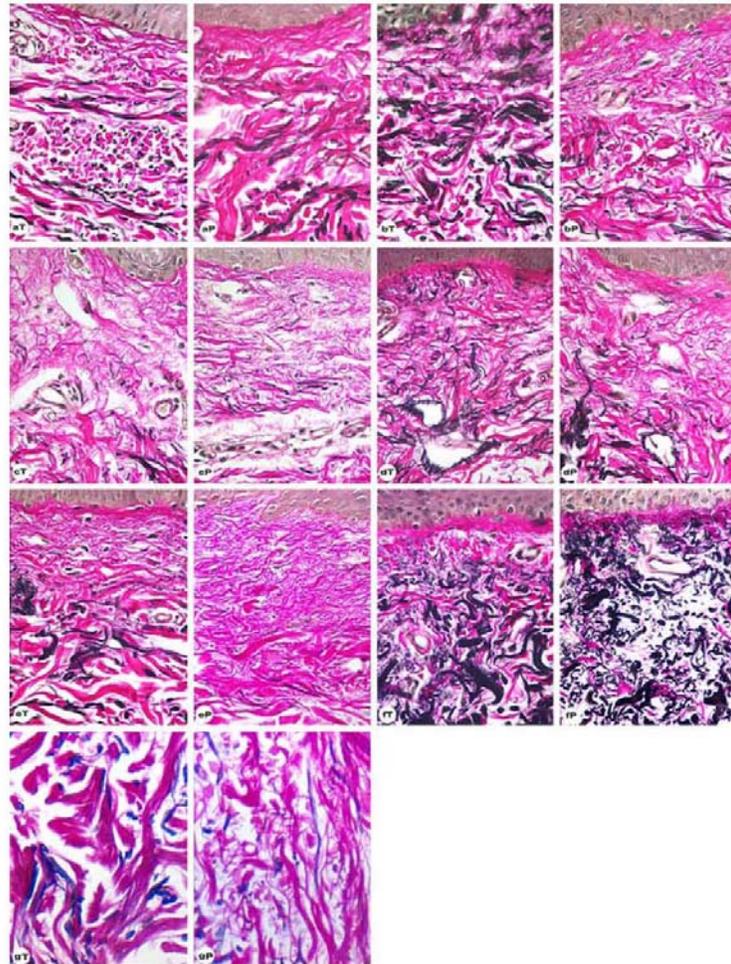


Table 1 Comparison of morphometric data between silanol and placebo treated dermis (in relative units)

Patient	Elastic fibers		Collagen fibers	
	Placebo	Silanol	Placebo	Silanol
1	29.9	44.0	45.9	51.7
2	64.2	73.8	28.6	30.0
3	35.5	35.8	37.5	61.4
4	28.0	47.6	36.3	51.0
5	30.3	36.0	39.7	50.9
6	18.1	33.7	46.7	48.7
7	24.0	42.9	34.3	35.8
Sum	32.9	44.8	38.4	47.1

When comparing the fractal dimensions of the collagen fiber architecture, there was no significant difference. Yet the arrangement of the elastic fibers showed a discrete, but statistically significant increase in the fractal dimension (0.021 units; $P = 0.31$) (Table 3).

Silicon (Si) was suggested to have an important function in the formation and maintenance of connective tissue [4]. In animal experiments dietary supplementation of Si has shown to increase the hydroxyproline content in the dermis [5]. Furthermore, Si stimulated the synthesis of collagen type I in cultures of human osteoblasts and skin fibroblasts [12]. In our study, a significant increase of both collagen and elastic fibers in the human dermis after repeated silanol injections could be shown. It is interesting to note that the effect was different for collagen and elastic fibers. Assuming that the pretreatment fiber density would be similar in both arms, our results suggest that patients with an initial lower content of elastic fibers would benefit more from therapy since they reveal a more accentuated gain in elastic fibers. This effect was not detected when examining the collagen fibers.

Although we studied a small number of patients, silanol seemed to modulate the architecture of the

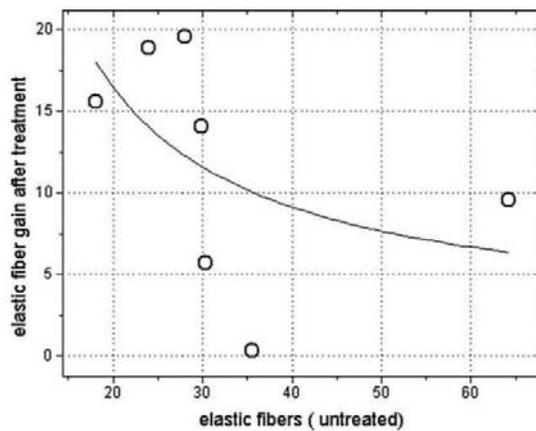


Fig. 2 Comparison of the elastic fiber density (in *interceptions*) between the untreated dermis (*x*-axis) and the difference between the treated and untreated side (*y*-axis). The gain in elastic fibers after therapy is less pronounced in women with higher initial fiber density. The regression can be approximated by a hyperbolic function (goodness-of fit: $R^2 = 0.26$)

Table 2 Amplitudes of frequency regions in the FFT images stained for collagen fibers by Picrosirius red (in relative units)

Patient	>9 μm		9–6 μm		6–4.5 μm	
	Placebo	Silanol	Placebo	Silanol	Placebo	Silanol
1	15.3	14.6	51.1	42.3	74.8	60.3
2	16.0	14.8	55.5	42.2	88.9	57.4
3	14.1	13.8	46.2	43.2	72.8	65.8
4	14.9	15.6	45.5	48.6	66.1	70.6
5	15.9	13.5	47.2	44.1	66.4	71.6
6	16.6	15.4	46.7	44.4	69.1	65.2
7	21.7	17.5	53.1	45.3	64.2	59.0
Sum	16.4	15.0	49.3	44.3	71.7	64.3

Table 3 Fractal dimension of the collagen fiber architecture (Picrosirius staining) or the elastic fibers (Weigert staining)

Patient	Collagen fibers		Elastic fibers	
	Placebo	Silanol	Placebo	Silanol
1	2.28	2.32	2.33	2.31
2	2.28	2.27	2.29	2.32
3	2.29	2.24	2.25	2.31
4	2.30	2.29	2.25	2.27
5	2.22	2.29	2.22	2.25
6	2.28	2.28	2.33	2.34
7	2.24	2.27	2.28	2.30
Sum	2.27	2.28	2.28	2.30

dermis, which we could demonstrate by computerized texture analysis using FFT or fractal analyses of digitalized images, two methods which are able to document subtle texture alterations beyond the perception of the human eye [1–3, 8–11, 13].

The decrease of the amplitudes in the Fourier spectrum after treatment is equivalent to a more compact and homogenous collagen fiber arrangement [3, 8–10], which could explain at least in part the improvement of the parameters “mechanical anisotropy” and “microrelief”, which measure the “roughness” of skin in the clinical study of Barel et al. [4].

The fact that the Fourier parameters did not differ significantly for the elastic fibers may be due to the relative paucity of these fibers and the small number of volunteers, thus compromising the test power. Nevertheless, a small but significant increase of the fractal dimension of the elastic fibers could be calculated, which may be explained by the “filling effect” of the image with an increasing number of elastic fibers [7]. This phenomenon was not demonstrated for collagen fibers, which may be explained by the normally higher fiber density of collagen, turning it difficult to measure small increases, particularly with a small number of test persons.

In summary, our results, although based on few volunteers, suggest that silicon (salicylate silanol) application in the human dermis may stimulate the production of collagen and elastic fibers with a more homogeneous fiber distribution, thus explaining the clinical improvement of the skin surface observed by Barel and co-workers [4].

Acknowledgments Supported by FAEPEX, FAPESP and CN-Pq.

References

- Adam RL, Corsini TCG, Silva PV, Cintra ML, Leite NJ, Metzke K (2004) Fractal dimensions applied to thick contour detection and residues—comparison of keloids and hypertrophic scars. *Cytometry A* 59:63–64
- Adam RL, Silva RC, Pereira FG, Leite NJ, Lorand-Metze I, Metzke K (2006) The fractal dimension of chromatin as prognostic factor in acute B-precursor lymphoid leukemia. *Cell Oncol* 28:55–59
- Auada MP, Adam RL, Leite NJ, Puzzi MB, Cintra ML, Rizzo WB, Metzke K (2006) Texture analysis of the epidermis based on the fast Fourier transform in Sjögren—Larsson Syndrome. *Anal Quant Cytol Histol* 28:219–27
- Barel A, Calomme M, Timchenko A, De Paepe K, Demeester N, Rogiers V, Clarys P, Vanden Berghe D (2005) Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on skin, nails and hair in women with photodamaged skin. *Arch Dermatol Res* 297:147–153
- Calomme MR, Vanden Berghe D (1997) Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the Si, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. *Biol Trace Elem* 56:153–165
- Gil J, Barba J (1994) Principles of stereology. Computerized applications to anatomic pathology. In: Marchevsky AM, Bartels PH (eds) *Image analysis: a primer for pathologists*. Raven Press, New York, pp 79–124

7. Jelinek HF, Elston N, Zietsch B (2005) Fractal analysis pitfalls and revelations in neuroscience. In: Losa GA, Merlini D, Nonnenmacher TF, Weibel ER (eds) *Fractals in biology and medicine*, vol IV. Birkhäuser, Basel
8. Metzke K, Gomes Neto A, Adam RL, Gomes AA, Leite NJ, Souza EM, Cintra ML (2002) Texture of dermal elastotic tissue in patients with different phenotypes. *Anal Cell Pathol* 24:196
9. Metzke K, Silva PVVT, Adam RL, Cintra ML, Leite NJ (2002) Differentiation of keloid and hypertrophic scar by texture analysis. *Anal Cell Pathol* 24:196
10. Metzke K, Adam RL, Silva PVVT, Gomes Neto A, Gomes AA, de Souza EM, Cintra ML, Leite NJ (2003) Application of the new fast Fourier transform derived variables in dermatopathology. *Pathol Res Pract* 199:242
11. Metzke K, Bedin V, Adam RL, Cintra ML, de Souza EM, Leite NJ (2005) Parameters derived from the fast Fourier transform are predictive for the recurrence of basal cell carcinoma. *Cell Oncol* 27:137
12. Reffitt DM, Ogston N, Jugdaohsingh R, Cheung HFJ, Evans BAJ, Thompson RPH, Powell JJ, Hampson GN (2003) Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone* 32:127–135
13. Rocha LB, Adam RL, Leite NJ, Metzke K, Rossi MA (2006) Biomineralization of polyanionic collagen-elastin matrices during cavariar bone repair. *J Biomed Mater Res A* 79:237–245

3.2- Artigo aceito em periódico médico (língua inglesa): Dermatologic Surgery.

Case Report DS-00004-2008

Title: Cutaneous Atypical Mycobacteriosis following Ultrasound Hydrolipoclasia Treatment

Authors: Fernanda Oliveira Camargo Herrerros, MD (1); Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho, MD, PhD (1); Aparecida Machado de Moraes, MD, PhD (1); Maria Leticia Cintra, MD, PhD (2) .

(1)Dermatology Division, Medical School, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Sao Paulo, Brazil.

(2)Pathology Department, Medical School, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Sao Paulo, Brazil.

Corresponding author:

Fernanda Oliveira Camargo Herrerros, MD.

Dermatology Division, FCM / UNICAMP

Cidade Universitária Zeferino Vaz, s/n

Campinas, Sao Paulo 13081-970

Brazil

Telephone/fax: 55 19 32894107

E-mail: fernandaherrerros@uol.com.br

Key words: Mycobacteria; Skin Disease, Infectious; Ultrasonic Therapy;
Lipolysis

The authors have no conflict of interest.

Abstract

BACKGROUND Ultrasound hydrolipoclasia is a form of mesotherapy in which normal saline is injected subdermally prior to ultrasound application, and is an off-label treatment for localized fatty areas. This procedure has little scientific documentation and is sometimes performed by unlicensed medical personnel, as was the case with our patient.

OBJECTIVE To describe the first published complication of an ultrasound hydrolipoclasia treatment.

METHOD Case report.

RESULT A 28-year-old white woman presented painful erythematous-secreting nodules in her abdomen for one week. The nodules were located at the points where an ultrasound hydrolipoclasia treatment had been applied one month before. Histological examination of one lesion showed chronic inflammation with alcohol-acid resistant bacilli. A culture of the skin specimen isolated *Mycobacterium fortuitum*. A diagnosis of atypical mycobacteriosis was made. Doxycycline was prescribed, resulting in remission of lesions.

CONCLUSION Ultrasound hydrolipoclasia should not be performed until clinical testing with conclusive evidence has been conducted.

Case report

Ultrasound hydrolipoclasia is a form of mesotherapy in which physiological solution is injected subdermally prior to ultrasound application, and is an off-label treatment for localized fatty areas. A 28-year-old white woman presented painful erythematous-secreting nodules in her abdomen for one week. The nodules were located at the points where an ultrasound hydrolipoclasia treatment had been applied by a non-physician performing another service one month prior (figure 1). She reported that four other women who had received this sort of intervention on the same day and in the same aesthetical clinic were presenting the same symptoms. The patient did not experience systemic symptoms.

The diagnostic hypothesis was atypical mycobacteriosis. A biopsy of one lesion was performed and cultures of the smear and of the biopsy specimen were prepared. The culture of the smear isolated *Mycobacterium fortuitum* and a histological examination revealed dermal chronic inflammation with alcohol-acid resistant bacilli present at the Ziehl-Nielsen stain.

Treatment was performed with 100 mg of doxycycline twice a day for 6 months, resulting in complete remission of the erythema and secretions and involution of the lesions. Because skin palpation demonstrated remaining nodules, a topical betamethasone dipropionate ointment was prescribed during the last month of antibiotic treatment, which resulted in improvement of the skin texture.

Six months following the final treatment, the lesions were atrophic with an appearance resembling stretch marks (figure 2a). To improve this condition, we submitted the scars to five weekly sessions of intradermotherapy with 0.5% salicylate silanol. Injections were performed beginning with 1 ml of salicylate silanol, in consecutively decreasing amounts, until filling of the scar was visually evident.

Following the intradermotherapy treatment, some improvement in skin texture was noted (figure 2b) and the patient was satisfied.

Discussion:

Ultrasound hydrolypoclasia is an off-label procedure for treatment of localized fatty areas and cellulite, and consists of injections of physiological solution into the subdermic tissue, followed by ultrasound applications.¹ This procedure has little scientific documentation and is sometimes performed by unlicensed medical personnel, as was the case with our patient. Advocates of this procedure state that because the substance being injected is a 0.9% physiological solution, it is a safe procedure, and for this reason it is popular in Brazilian aesthetical clinics. However, this report indicates that this technique can cause undesirable complications and that it should not be performed until clinical testing with conclusive evidence has been conducted. To the authors' knowledge, this is the first article to be published in an indexed journal reporting ultrasound hydrolypoclasia complications.

Intradermotherapy is a treatment that is slightly different from ultrasound hydrolypoclasia. It consists of the injection of specific drugs into the upper dermis. Mycobacterial infections are common and distressing complications of mesotherapy. Some authors sustain that these complications are due to poor aseptic measures during the sessions or contamination of the injected substances. In either case, resulting infections require extensive multi-antibiotic treatments and often lead to scarring at the affected site.²⁻

5

Although our patient did not have mycobacterial abscesses caused by mesotherapy itself, the assumption can be made that the infection in this case study followed the same progression reported previously as intradermotherapy complications. The infection developed following an aesthetical injection procedure, indicating that mycobacteria were inoculated into the subcutis. Both the time lapse between injection and development of symptoms and the clinical appearance were the same as those in mesotherapy infections, which led the authors to believe that once a mycobacterium is inoculated in the skin, the resulting infection will be similar, whether in the dermis or the subcutaneous tissues.

Treatment of atrophic scars is difficult and there are some reports about the use of fat injections, 1064-nm Nd:Yag laser and fractional photothermolysis for this condition.⁶⁻⁸ Our decision to treat the atrophic scars with silanol salicylate was based on previous reports about its beneficial effects on regenerating and altering the architecture of the dermis.⁹ In Brazil, silanol is an active ingredient in oral dermatological supplements, topical creams and injectable intradermotherapy drugs; recent reports demonstrate its role in improving dermal texture and increasing dermal fiber content.¹⁰⁻¹²

Acknowledgments: ProVitae Pharmacy, for providing the intradermal medication.

References:

1. Rossi ABR , Vergnanini AL. *Cellulite: A Review*. J Eur Acad Dermatol Venereol 2000; 14: 251 -262.
2. Sañudo A, Vallejo F, Sierra M, Hoyos JG, Yepes S, Wolff JC, Correa LA, Montealegre C, Navarro P, Bedoya E, Sanclemente G. *Nontuberculous Mycobacteria Infection After Mesotherapy: Preliminary Report of 15 Cases*. Int J Dermatol. 2007 Jun; 46:649-53.
3. Rivera-Olivero IA, Guevara A, Escalona A, Oliver M, Pérez-Alfonzo R, Piquero J, Zerpa O, de Waard JH. *Soft-tissue Infections Due to Non-tuberculous Mycobacteria Following Mesotherapy. What is the Price of Beauty?* Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006 May; 24:302-6.
4. Marco-Bonnet J, Beylot-Barry M, Texier-Maugein J, Barucq JP, Supply P, Doutre MS, Beylot C. *Mycobacterial Bovis BCG Cutaneous Infections Following Mesotherapy: 2 Cases*. Ann Dermatol Venereol. 2002 May; 129:728-31.
5. Nagore E, Ramos P, Botella-Estrada R, Ramos-Níguez JA, Sanmartín O, Castejón P. *Cutaneous Infection with Mycobacterium fortuitum After Localized Microinjections (mesotherapy) Treated Successfully with a Triple Drug Regimen*. Acta Derm Venereol. 2001 Aug-Sep; 81:291-3.
6. Dasiou-Plakida D. *Fat Injections for Facial Rejuvenation: 17 Years Experience in 1720 Patients*. J Cosmet Dermatol. 2003 Jul; 2:119-25.
7. Alster TS, Tanzi EL, Lazarus M. *The Use of Fractional Laser Photothermolysis for the Treatment of Atrophic Scars*. Dermatol Surg 2007 Mar; 33:295-9.
8. Keller R, Belda Júnior W, Valente NY, Rodrigues CJ. *Nonablative 1,064-nm Nd:YAG Laser for Treating Atrophic Facial Acne Scars: Histologic and Clinical Analysis*. Dermatol Surg. 2007 Dec; 33:1470-6.

9. Seaborn CD, Nielsen FH. *Silicon Deprivation Decreases Collagen Formation in Wounds and Bone, and Ornithine Transaminase Enzyme Activity in Liver*. Biol Trace Elem Res. 2002; 89: 251-61.
10. Herreros FO, Cintra ML, Adam RL, de Moraes AM, Metze K. *Remodeling of the Human Dermis after Application of Salicylate Silanol*. Arch Dermatol Res 2007; 299: 41-45.
11. Seaborn CD, Nielsen FH. *Silicon Deprivation Decreases Collagen Formation in Wounds and Bone, and Ornithine Transaminase Enzyme Activity in Liver*. Biol Trace Elem Res. 2002; 89(3): 251-61.
12. Barel A, Calomme M, Timchenko A, Paepe KD, Demeester N, Rogiers V, Clarys P, Vanden Berghe D. *Effect of Oral Intake of Choline-stabilized Orthosilicic Acid on Skin, Nails and Hair in Women with Photodamaged Skin*. Arch Dermatol Res 2005; 297: 147-53.

Figures:



Fig 1- Erythematous nodules and abscesses in the abdomen.



Fig 2a. The lesions became atrophic scars after the end of antibiotic treatment (left).

Fig 2b. Scars appearance after 5 sessions of intradermotherapy. Some improvement can be noted.



4- DISCUSSÃO GERAL

O estudo criterioso da intradermoterapia ainda é incipiente. O primeiro estudo apresentado nessa tese é, até onde os autores sabem, o primeiro trabalho com metodologia mais rigorosa publicado em uma revista médica indexada e que avalia as conseqüências histológicas de um procedimento mesoterápico. Também é o primeiro a demonstrar um aumento significativo no número de fibras elásticas e colágenas e a melhora da textura dérmica após intradermoterapia.

Como mencionado, existe um estudo anterior publicado em periódico não indexado sobre o benefício da mesoterapia para lipodistrofia ginóide, porém, o autor usou uma mistura de produtos e seu critério de avaliação de melhora foi a perda de medidas (avaliação clínica e pelo número de manequim de roupas), o que dificulta uma análise mais rigorosa (Jean, 1989). Pode-se questionar se a perda de medidas é adequada para avaliar a lipodistrofia ginóide (em que alterações de relevo parecem mais importantes), assim como a possibilidade de se avaliar um tratamento baseado numa mistura de produtos, em razão da dificuldade de se determinar qual produto da mistura seria o responsável pelo resultado.

Os outros estudos existentes em revistas indexadas, como já referido na introdução, são estudos que utilizam o termo mesoterapia, mas valem-se de uma técnica que dificilmente pode ser classificada como tal. São trabalhos sobre a injeção de fosfatidilcolina e deoxicolato, como substâncias lipolíticas (Rittes, 2001; Rittes, 2003; Rotunda et al., 2004; Rose e Morgan, 2005; Doerr, 2007). A técnica preconizada nesses estudos é a de injeção subcutânea de volumes maiores de produto em poucos pontos de aplicação. Apesar de a injeção subcutânea encaixar-se na definição de mesoterapia, já que o subcutâneo também deriva da mesoderme, as doses maiores e a menor quantidade de pontos de punctura diferem do apregoado pelo introdutor da técnica, Pistor. Portanto, é discutível o emprego do termo mesoterapia para esse tipo de procedimento.

O único trabalho anterior metodologicamente mais adequado é o de Amin et al., 2006. Nesse estudo, os autores não encontraram benefício clínico em quatro sessões mensais de mesoterapia para tratar o fotoenvelhecimento facial, porém notaram, assim como no estudo aqui apresentado, um aumento de colágeno na área tratada, o que foi encarado como uma zona de reparo. Porém, não foi um aumento estatisticamente significativo. Apesar da boa metodologia para avaliação dos resultados, cabe uma crítica à

técnica desenvolvida pelos autores. Não se sabe qual o produto utilizado, já que se afirma ter aplicado uma mistura de ácido hialurônico e “multivitaminas”. Além disso, o número de sessões (quatro) e o tempo decorrido entre a última aplicação e a biópsia (2 meses) foram diferentes do empregado nesta tese (dez sessões semanais, biópsia duas semanas após a última sessão).

Pode-se destacar que o primeiro estudo dessa tese conseguiu dissociar o efeito da punctura do efeito da medicação em mesoterapia. Tradicionalmente, apregoa-se que o efeito terapêutico dessa modalidade é devido ao conjunto medicamento e estímulo da agulha e que não se pode separar o efeito de um e de outro (Pistor, 1976). Aplicando silício orgânico em um lado e soro fisiológico no outro e obtendo um aumento de fibras no lado injetado com silanol, comprova-se que o efeito do silício é mais importante que o efeito da punctura.

Apesar da utilização da pele de mulheres com fotoenvelhecimento moderado, em nenhum momento foi objetivo desta avaliar a intradermoterapia como um “tratamento” para essa condição. Na verdade, o objetivo principal era avaliar e comparar os achados histológicos cutâneos após injeção intradérmica de salicilato de silanol e de soro fisiológico. A escolha da aplicação em pele fotoenvelhecida ocorreu por já haver publicação anterior, sugerindo o emprego de intradermoterapia com silício orgânico nessa condição. Mesmo assim, sem haver a intenção de sugerir a intradermoterapia com salicilato de silanol como um tratamento para pele com envelhecimento extrínseco, os resultados deste estudo sinalizaram que mulheres com menor conteúdo de fibras elásticas foram as que tiveram ganho maior de fibras no antebraço que recebeu silício. Isso foi demonstrado no cálculo da correlação de Spearman, já que mulheres com menos fibras elásticas no antebraço que recebeu o placebo foram as que mais apresentaram aumento de fibras elásticas no lado do silício, sugerindo um benefício maior da aplicação de silanol em uma derme mais depletada em fibras elásticas.

Permanece, porém, uma dúvida: como foi observada melhora na textura para fibras elásticas no método de Sarkar e não pela TRF, considerada mais sensível? Além do que foi citado no artigo, do número pequeno de pacientes (dez voluntárias completaram o tratamento, porém três se recusaram a realizar a biópsia), é necessário lembrar que os

cálculos para textura de fibras elásticas da TRF foram feitos dentro dos mesmos períodos espaciais significativos para colágeno. Ainda não há um padrão para estudo de fibras elásticas pela TRF, o que pode ter prejudicado a análise.

Além disso, um estudo demonstrou que o tempo para síntese de fibras elásticas é maior que três meses (Roten et al., 1996) e as pacientes foram submetidas à biopsia duas semanas após a décima sessão.

Com tão poucos estudos indexados sobre o papel da intradermoterapia e tantos sobre as suas complicações, é natural a desconfiança dos dermatologistas em relação a essa técnica. Com mais de dois anos de término experimental, não houve qualquer complicação no grupo estudado. O relato de caso apresentado é justamente para salientar que a intradermoterapia ou qualquer procedimento de injeção parenteral (como na paciente submetida à hidrolipoclasia) deve ser feito sob estritas condições de assepsia, utilizando-se medicamento de qualidade comprovada. A complicação infecciosa por micobactéria uma vez instalada exigirá tratamento longo e geralmente resultará em cicatrizes inestéticas. O profissional que se propõe a oferecer tratamentos injetáveis deve estar ciente disso.

Além disso, o relato de caso visa mostrar o resultado da intradermoterapia com silanol em cicatrizes atróficas. A melhora, ainda que discreta, agradou à paciente, que não desejava tratá-las cirurgicamente.

A melhora parcial obtida no caso relatado já demonstra a possibilidade de aplicação dos resultados da pesquisa apresentada no primeiro trabalho. Estudo com estrias antigas em um grupo maior de pacientes vem sendo realizado, permitindo avaliar histologicamente o resultado do tratamento de víbices com injeções intradérmicas de salicilato de silanol.



5- CONCLUSÃO GERAL

A intradermoterapia com silício orgânico aumentou o número de fibras elásticas e colágenas na derme injetada com o produto.

A textura do colágeno, no lado que recebeu silício, apresentou-se mais homogênea pela análise da TRF.

A análise de textura pela TRF para fibras elásticas pode requerer um padrão próprio de períodos espaciais específicos para seu estudo, diferente do utilizado para colágeno.

Houve resposta clínica à injeção do silanol em cicatrizes atróficas secundárias à micobacteriose atípica.

Há necessidade de mais estudos com metodologia adequada, para mostrar o real valor da intradermoterapia como técnica dermatológica.



6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam RL. Análise espectral usando a transformada rápida de Fourier discreta para estudo de núcleos celulares: elaboração de programa e aplicação no desenvolvimento do coração. [Dissertação-Mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2002.

Adam RL, Corsini TCG, Silva PV, Cintra ML, Leite NJ, Metze K. Fractal dimensions applied to thick contour detection and residues - comparison of keloids and hypertrophic scars. *Cytometry* 2004; 59:63-4.

Allain P, Callieux A, Mauras Y, Renier JC. Etude de l'absorption digestive du silicium apers administratin unique chez l'homme sous forme de salicylate de methylsilanetriol. *Therapie* 1983; 38(2):171-4.

Amin SP, Phelps RG, Goldberg DJ. Mesotherapy for facial skin rejuvenation: a clinical, histological, and electron microscopic evaluation. *Dermatol Surg* 2006; 32:1467-72.

Astner S, Anderson RR. Skin phototypes 2003. *J Invest Dermatol* 2004; 122(2):xxx-xxi.

Auada MP, Adam RL, Leite NJ, Puzzi MB, Cintra ML, Rizzo WB, Metze K. Texture analysis of the epidermis based on the fast Fourier transform in Sjögren-Larsson Syndrome. *Anal Quant Cytol Histol* 2006; 28(4):219-27.

Aumjaud ED. Spécificités de la mésothérapie appliqué aux pathologies et aux états inesthétiques dès meti set dès noirs. In: Bulletin 5 des communications du 6e Congrès International de Mésothérapie; 1992; Bruxelles, Bélgica. Paris: Société Française de Mésothérapie; 1992 p.4 -7.

Austin JH. Silicon levels in human tissues. *Nobel Symp* 1977; 255-68.

Barel A, Calomme M, Timchenko A, Paepe KD, Demeester N, Rogiers V et al. Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on skin, nails and hair in women with photodamaged skin. *Arch Dermatol Res* 2005; 297(4):147-53.

Bessis D, Gulhou JJ, Guillot B. Localized urticaria pigmentosa triggered by mesotherapy. *Dermatology* 2004; 209(4):343-4.

Birch-Machin MA, Tindall M, Turner R, Haldane F, Rees JL. Mitochondrial DNA deletions in human skin reflect photo - rather than chronologic aging. *J Invest Dermatol* 1998; 110(2):149-52.

Calomme MR, Vanden Berghe D. Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the Si, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. *Biol Trace Elem* 1997; 56(2):153-65.

Carlisle EM. Silicon: an essential element for the chick. *Science* 1972; 178(61):619-21.

Carlisle EM. In vivo requirement for silicon in articular cartilage and connective tissue formation in the chick. *J Nutr* 1976; 106(4):478-84.

Carlisle EM. A silicon requirement for prolyl hydroxylase activity. *Fed Proc* 1981a; 40:866.

Carlisle EM. Silicon: a requirement in bone formation independent of vitamin D1. *Calcif Tissue Int* 1981b; 33(1):22-34.

Chanalet L, Ettaiche M, Baudouin C, Lapalus P. Distribution of salicylate in pigmented rabbit ocular tissues after application of a prodrug, sodium monomethyl trisilanol orthohydroxybenzoate: in vivo and ex vivo studies. *J Ocul Pharmacol Ther* 1995; 11(1):83-94.

Chung JH, Eun HC. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol* 2007; 34(9):593-600.

Colón-Soto M, Peredo RA, Vila LM. Systemic lupus erythematosus after mesotherapy with acetyl-L-carnitine. *J Clin Rheumatol* 2006; 12(5):261-2.

Cooksey RC, de Waard JH, Yacrus MA, Rivera I, Chopite M, Toney SR et al. *Mycobacterium cosmeticum* sp. nov., a novel rapidly growing species isolated from a cosmetic infection and from a nail salon. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54(6):2385-91.

Dal Zotto M, Realdon N, Ragazzi E, Dalla Fini G. Effects of two different kinds of silicium dioxide on release of drugs from suppositories: benzydamine hydrochloride. *Farmaco* 1991; 46(5):699-711.

Dalloz-Bourguignon A. Mesotherapy. *Chir Dent Fr* 1980; 50(76):43-5.

de Rie MA, Enomoto DN, de Vries HJ, Bos JD. Evaluation of medium-dose UVA1 phototherapy in localized scleroderma with the cutometer and fast Fourier transform method. *Dermatology* 2003; 207(3):298-301.

De Ridder A, Driessens M, De Bruyne J, Dijs H, Guastavino V, De Vroey Y et al. Mesotherapy in abarticular rheumatism. *Acta Belg Med Phys* 1989; 12(3):91-3.

Doerr TD. Lipoplasty of the face and neck. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 15(4):228-32.

Einholtz B, Maudet D, Bicheron M. Use of NHA1 via mesotherapy in oral surgery. *Actual Odontostomatol* 1990; 44(170):285-98.

Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S et al.. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol* 2002; 138 (11):1462-70.

Friedel J, Piemont Y, Truchetet F, Cattan E. Mésothérapie et mycobatériose cutanée a *Mycobacterium fortuitum*: une médecine douce à risqué. *Ann Dermatol Venereol* 1987; 114(6-7):845-9.

Gendre P. Ultrastructure de l'athérome chez le lapin: action d'un derive du silicium. Action sur la plaque lipidique. *C R Soc Biol* 1969; 163(6):1373-6.

Guazzetti R, Iotti E, Marinoni E. Mesotherapy with naproxin sodium in musculoskeletal diseases. *Riv Eur Sci Med Farmacol* 1988; 10(6):539-42

Guillaume JC, Jouffroy L, Touraine R. Complications cutanées de la mésothérapie (2 observations). *Ann Dermatol Venereol* 1984; 111(8):701-2.

Henry F, Pierard-Franchimont C, Pierard GE. Clinical case of the month. Atypical mycobacteria and mesotherapy. *Rev Med Liege* 2005; 60(1):7-10.

Heymans O, Blacher S, Brouers F, Piérard GE. Fractal quantification of the microvasculature heterogeneity in cutaneous melanoma. *Dermatology* 1999; 198(2):212-7.

Hott M, Pollak C, Modrowski D, Marie PJ. Short term effects of organic silicon on trabecular bone in mature ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 1993; 53(3):174-9.

Isquith A, Slesinski R, Matheson D. Genotoxicity studies on selected organosilicon compounds: in vivo assays. *Food Chem Toxicol* 1988; 26(3):263-6.

Izu A, Kumai T, Tohno Y, Tohno S, Minami T, Yamada G et al. Silicon intake to vertebral columns of mice after dietary supply. *Biol Trace Elem Res* 2006; 113(3):297-316.

Jean A. Mobilisation des graisses de reserve en mésothérapie. *J Med et Chir Derm* 1989; XVI (63):233-40.

Jelinek HF, Elston N, Zietsch B. Fractal analysis pitfalls and revelations in neuroscience. In: Losa GA, Merlini D, Nonnenmacher TF, Weibel ER. *Fractals in biology and medicine*. Basel: Birkhüaser, 2005.

Jugdaohsingh R, Reffitt D, Oldham C, Davy JP, Fifield LK, Thompson RPH et al. Oligomeric but not monomeric silica prevents aluminium absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(4):944-9.

Jugdaohsingh R, Anderson SH, Tucker KL, Elliott H, Kiel DP, Thompson RP et al. Dietary silicon intake and absorption. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(5):887-93.

Kaplan JA, Coutris G. Mésoscintigraphie et proposition d'une théorie unifiée de la mésothérapie. In: *Bulletin 5 des communications du 6e Congrès International de Mesothérapie*; 1992, Paris, França: p. 2-4.

Lee DP, Chang SE. Subcutaneous nodules showing fat necrosis owing to mesotherapy. *Dermatol Surg* 2005; 31(2):250-1.

Levrier M, Reboul J, Dufaut N, Dilhuydy. Composés organo-siliciés et regeneration du tissue conjonctif mammaire. *Senologia* 1977; 2(4):3-9.

Marco-Bonnet J, Beylot-Barry M, Texier-Maugein J, Barucq JP, Supply P, Doutre MS. Mycobacterial bovis BCG cutaneous infections following mesotherapy: 2 cases. *Ann Dermatol Venereol* 2002; 129(5):728-31.

Matarasso A, Pfeifer TM. Plastic Surgery Educational Foundation DATA Committee. Mesotherapy for body contouring. *Plast Reconstr Surg* 2005; 115(5):1420-4.

Maya V. Mesotherapy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007; 73(1):60-2.

Medione G. Results of 6 years of treatment of painful periodontal episodes by mesotherapy. *Chir Dent Fr* 1980; 50(77):35-7

Menkes CJ, Laoussadi S, Kac-Ohana N, Lassere O. Controlled trial of injectable diclofenac in mesotherapy for the treatment of tendonitis. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1990; 57(7-8): 589-91.

Metze K, Gomes Neto A, Adam RL, Gomes AA, Leite NJ, Souza EM, Cintra ML. Texture of dermal elastotic tissue in patients with diferent phenotypes. *Anal Cell Pathol* 2002a; 24:196.

Metze K, Silva PVVT, Adam RL, Cintra ML, Leite NJ. Diferentiation of keloid and hypertrophic scar by texture analysis. *Anal Cell Pathol* 2002b; 24:196-210.

Metze K, Adam RL, Silva PVVT, Gomes Neto A, Gomes AA, de Souza EM et al. Application of the new fast Fourier transform derived variables in dermatopathology. *Pathol Res Pract* 2003; 199:242.

Monticone M, Barbarino A, Testi C, Arzano S, Moschi A, Negrini S. Symptomatic efficacy of stabilizing treatment versus laser therapy for sub-acute low back pain with positive tests for sacroiliac dysfunction: a randomised clinical controlled trial with 1 year follow-up. *Eura Medicophys* 2004; 40(4):263-8.

Mrejen D. Semeiologie, Pharmacocinetique et profondeur des injections en mèsothérapie. In: Bulletin 5 des communications du 6e Congrès International de Mesothérapie; 1992; Bruxelles, Bélgica. Paris: Société Française de Mésothérapie; 1992 p. 13-14.

Nagore E, Ramos P, Botella-Estrada R, Ramos-Níguez JÁ, Sanmartin O, Castejon P. Cutaneous infection with *Mycobacterium fortuitum* after localized microinjections (mesotherapy) treated successfully with a triple drug regimen. Acta Derm Venereol 2001; 81(4):291-3.

Palermo S, Riello R, Cammardella MP, Carossino D, Orlandini G, Casigliani R et al. TENS + mesotherapy association in the therapy of cervico-brachialgia: preliminary data. Minerva Anesthesiol 1991; 57(10):1084-5.

Paul C, Burguiere AM, Vincent V, Susbielle P, Bonvalet D, Dubertret L. BCG-induced mycobacterium infection induced by alternative medicine. Ann Dermatol Venereol 1997; 124(10):710-2.

Pennington JA. Silicon in food and diets. Food Addit Contam 1991; 8(1):97-118.

Pistor M. What is mesotherapy? Chir Dent Fr 1976; 46(288): 59-60.

Ramos-e-Silva M, Da Silva Carneiro SC. Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. J Cosmet Dermatol 2007; 6(1):40-50.

Rittes PG. The use of phosphatidylcholine for correction of lower lid bulging due to prominent fat pads. Dermatol Surg 2001; 27(4):391-2.

Rittes PG. The use of phosphatidylcholine for correction of localized fat deposits. Aesthetic Plast Surg 2003; 27(4):315-8.

Rivera-Olivero IA, Guevara A, Escalona A, Oliver M, Perez-Alfonzo R, Piquero J. Soft-tissue infections due to non-tuberculous mycobacteria following mesotherapy. What is the price of beauty. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006; 24(5):302-6.

Rohrich RJ. Mesotherapy: What is it? Does it work? *Plast Reconstr Surg* 2005; 115(5):1425.

Rose PT, Morgan M. Histological changes associated with mesotherapy for fat dissolution. *J Cosmet Laser Ther* 2005; 7(1):17-9.

Rosina P, Chierigato C, Miccolis D, D'Óngia S. Psoriasis and side-effects of mesotherapy. *Int J Dermatol* 2001; 40(9):581-3.

Rossi ABR, Vergnanini AL. Cellulite: a review. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000; 14(4):251-62.

Roten SV, Bhat S, Bhawan J. Elastic fibers in scar tissue. *J Cutan Pathol* 1996; 23(1):37-42.

Rotunda AM, Suzuki H, Moy RL, Kolodney MS. Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution. *Dermatol Surg* 2004; 30(7):1001-8

Rotunda AM, Avram MM, Avram AS. Cellulite: Is there a role for injectables? *J Cosmet Laser Ther* 2005; 7(3-4):147-54.

Rotunda AM, Kolodney MS. Mesotherapy and phosphatidylcholine injections: historical clarification and review. *Dermatol Surg* 2006; 32(4):465-80.

Sañudo A, Vallejo F, Sierra M, Hoyos JG, Yepes S, Wolff JC et al. Nontuberculous mycobacteria infection after mesotherapy: preliminary report of 15 cases. *Int J Dermatol* 2007; 46(6):649-53.

Sander CS, Chang H, Salzmann S, Müller CS, Ekanayake-Mudiyanselage S, Elsner P et al. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol* 2002; 118(4):618-25.

Schwarz K. A bound form of silicon in glycosaminoglycans and polyuronides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70(5):1608-12.

Seaborn CD, Nielsen FH. Dietary silicon affects acid and alkaline phosphatase and calcium uptake in bone of rats. *J Trace Elem Exp Med* 1994; 7:11-8.

Seaborn CD, Nielsen FH. Dietary silicon and arginine affect mineral element composition of rat femur and vertebra. *Biol Trace Elem Res* 2002a; 89(3):239-50.

Seaborn CD, Nielsen FH. Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver. *Biol Trace Elem Res* 2002b; 89(3):251-61.

Sripanyakorn S, Jugdaohsingh R, Elliott H, Walker C, Mehta P, Shoukru S et al. The silicon content of beer and its bioavailability in healthy volunteers. *Br J Nutr* 2004; 91(3):403-9.

Städtler P, Höller H. Toothpastes. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992; 30(5):167-72.

Tan J, Rao B. Mesotherapy-induced panniculitis treated with dapsone: case report and review of reported adverse effects of mesotherapy. *J Cutan Med Surg* 2006; 10(2):92-5.

Tennstedt D, Lachapelle JM. Effets cutanés indésirables de la mésothérapie. *Ann Dermatol Venereol* 1997; 124(2):192-6.

Urbani CE. Urticarial reaction to ethylenediamine in aminophylline following mesotherapy. *Contact Dermatitis* 1994; 31(3):198-9.

Vaillant P. Remission of painful oro-dental symptoms using treatment with mesotherapy. *Chir Dent Fr* 1986; 56(343):41-2.

Vaillant L, De Muret A, Muller C, Machet L, Lorette G. Lichenoid drug eruption after mesotherapy. *Ann Dermatol Venereol* 1992; 119(11):936-7.

van Zuijlen PPM, Vries HJC, Lamme EN, Coopkens JE, van Marle J, Kreis RW et al. Morphometry of dermal collagen orientation by Fourier analysis is superior to multi-observer assesment. *J Pathol* 2002; 198(3):284-91.

Verin P, Mortemousque B, Coulon P, Williamson W. Influence of topical monomethyl trisilanol on cataract epidemiology. *Dev Ophthalmol* 1994; 26:40-6.

Yaar M, Gilchrest BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* 2007; 157(5):874-87.

Zondlo FM. Final report on the safety assessment of Tocopherol, Tocopheryl Acetate, Tocopheryl Linoleate, Tocopheryl Linoleate/Oleate, Tocopheryl Nicotinate, Tocopheryl Succinate, Dioleoyl Tocopheryl Methylsilanol, Potassium Ascorbyl Tocopheryl Phosphate, and Tocophersolan. *Int J Toxicol* 2002; 21(3):51-116.



7- ANEXOS

ANEXO 1- Primeiro parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas-SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-8925
www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html
cep@head.fcm.unicamp.br

PARECER CIRCUNSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FCM/UNICAMP

IDENTIFICAÇÃO

1. Título do Projeto: "Efeitos histológicos da aplicação intradérmica de Silanol."		
2. Pesquisador Responsável: Fernanda Oliveira Camargo Herreros		
3. Instituição do Pesquisador: UNICAMP		
4. Local onde será realizada a Pesquisa: FCM - UNICAMP		
5. Nº de inscrição no CEP/FCM: 181/2004.	6. Grupo:	7. Data de apresentação ao CEP: 30/4/2004.

OBJETIVOS

8. - Mostrar as alterações histológicas decorrentes do tratamento intradérmico de pele fotovelhecida com o uso de silanol; - Comparar o número de fibras colágenas e elásticas na derme tratada com silanol com o número de fibras na derme que recebeu solução fisiológica estéril.
--

SUMÁRIO DO PROJETO

9. A pesquisadora faz uma abordagem sobre a importância no uso da via intradérmica das características do silanol, ressaltando ser um silício orgânico e hidrossolúvel. Há ainda uma explanação sobre a utilização do silanol em procedimentos médicos já que é bem estabelecido e seus benefícios parecem claros. Não há, segundo a bibliografia citada pela pesquisadora, relatos de efeitos colaterais e genotoxicidade, exceto aquelas relacionadas à infecção pela injeção propriamente dita. Os silanóis são considerados como inertes, seguros e estáveis no uso humano, segundo a pesquisadora e bibliografia por ela citada. Serão convidadas ao estudo mulheres caucasianas com idades entre 35 e 55 anos, sadias, sem antecedentes de alergias a medicamentos e que nunca tenham realizado tratamento para fotoenvelhecimento nos antebraços. As voluntárias serão submetidas a um mínimo de 5 e um máximo de 10 sessões semanais de injeções intradérmicas de: a) 0,1 mL de silanol 0,1% no antebraço esquerdo; b) 0,1 mL de solução fisiológica no antebraço direito. Uma semana após a 5ª sessão de intradermoterapia, a voluntária será submetida a biópsias nos antebraços onde houveram as inoculações. O material obtido nas biópsias será corado para avaliação histológica e posteriormente análise estatística.
--

COMENTÁRIOS DO RELATOR

10. Não está claro se os sujeitos da pesquisa são pacientes e, portanto teriam algum benefício no estudo. Da mesma forma, a pesquisadora não estabelece o número de indivíduos para a realização do protocolo ou a forma de avaliação estatística. Siglas como PVPf não devem ser utilizadas. O silanol será injetado a 0,1 % em que? No que é dissolvido? Não há previsão de ressarcimento ou indenização. Por qual motivo alguém se submeteria a várias sessões de injeções e depois biópsias, se não há qualquer benefício esperado? Creio que a Resolução 196/96, III.3 (a, b e c) não estão adequadamente contempladas.

PARECER FINAL

<input type="checkbox"/> Recomenda a aprovação	<input type="checkbox"/> Não recomenda a aprovação	<input checked="" type="checkbox"/> Em pendência
--	--	--

11.

Campinas, 5 de Maio de 2004.

Nome e assinatura do(s) membro(s) relator(es) do CEP:



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas-SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-8925
🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa.etica/index.html
✉ cep@head.fcm.unicamp.br

PARECER CIRCUNSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FCM/UNICAMP

IDENTIFICAÇÃO		
1. Título do Projeto: Efeitos histológicos da aplicação intradérmica de silanol		
2. Pesquisador Responsável: Fernanda Oliveira Camargo Herreros		
3. Instituição do Pesquisador: Pós-Graduação em Clínica Médica-Mestrado		
4. Local onde será realizada a Pesquisa: Departamento de Anatomia Patológica-FCM-UNICAMP		
5. Nº de inscrição no CEP/FCM: 181/2004.	6. Grupo: III	7. Data de apresentação ao CEP: 26/4/2004.

OBJETIVOS
8. Mostrar as alterações histológicas decorrentes do tratamento intradérmico da pele fotoenvelhecida com uso de silanol. Comparar o número de fibras colágenas e elásticas na derme tratada com silanol com o número de fibras na derme que recebeu placebo.

SUMÁRIO DO PROJETO
9. A descrição e caracterização da amostra, os critérios de inclusão e exclusão não estão claros, as adequações da metodologia e das condições de realização são descritas, porém as dúvidas seguem abaixo

COMENTÁRIOS DO RELATOR
10. Solicito esclarecimentos: 1- definir o número de voluntárias participantes na página 7; 2- qual critério estatístico utilizado para estabelecer o n mínimo da amostra a fim de que os resultados sejam significativos?; 3- definir separadamente os critérios de inclusão e exclusão, como idade, participação voluntária, etc. 4- por que o sexo masculino não foi incluído? Este fato não poderia interferir nos resultados?; 5- qual será a metodologia estatística utilizada para análise dos resultados? 6- Descrever riscos e benefícios decorrentes da participação neste estudo. 7- no Consentimento livre e esclarecido: a) fazer constar diversos itens descritos na página 22 da resolução 196; b) incluir endereço e telefone para contato da voluntária; c) no final do texto, após nome por extenso e espaço para assinar, incluir telefone das responsáveis (pesquisadora e orientadora) e telefone do Comitê de Ética em Pesquisa para eventuais dúvidas ou esclarecimentos; 9- detalhar o Orçamento, como serão reembolsadas as despesas no Departamento de Anatomia Patológica, pois não são procedimentos da rotina hospitalar. 10- entendi que as participantes frequentam o consultório particular da pesquisadora e não os Ambulatórios do HC. Portanto, as despesas dos procedimentos correrão por conta da pesquisadora e as pacientes aparentemente parecem não ter problemas com reembolso de despesas com transporte para comparecer ao consultório várias vezes. 11- formatar as páginas do texto do projeto na margem direita conforme a esquerda.

PARECER FINAL			
<input type="checkbox"/> Recomenda a aprovação	<input type="checkbox"/> Com destaque	<input type="checkbox"/> Não recomenda a aprovação	<input checked="" type="checkbox"/> Em pendência
11. o			

Campinas, 12 de 05 de 2004.	Nome e assinatura do(s) membro(s) relator(es) do CEP:
-----------------------------	---

ANEXO 2- Resposta dos autores ao Comitê de Ética em Pesquisa.



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - FCM
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
DISCIPLINA DE DERMATOLOGIA

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

13081-970 - Campinas - São Paulo – Brasil

Tel. (19) 3521.7602 – FAX. (19) 3289.4107

Campinas, 5 de março de 2004

Resposta às pendências do projeto de pesquisa 181/2004

Título: Efeitos histológicos da aplicação intradérmica de silanol

Pesquisador responsável: Fernanda Oliveira Camargo Herreros

Orientadora: Prof.a Dr.a Maria Leticia Cintra

Departamento de Anatomia Patológica – UNICAMP

Declaramos que agradecemos a avaliação do Comitê de ética em Pesquisa e acatamos suas orientações, procedendo aos esclarecimentos pedidos.

Os sujeitos da pesquisa são pacientes da clínica privada da pesquisadora, que apresentem como demanda o tratamento do fotoenvelhecimento e desejem participar do protocolo. Como já explicitado no item sujeitos da pesquisa, serão pacientes saudáveis, maiores de idade, sem tratamento prévio para fotodano ou histórico de alergia.

Quanto ao número de pacientes, conversamos com Dr Konradin Metze que acredita que uma amostra pequena pode trazer resultados significativos desde que optemos pelo tratamento estatístico correto. Optamos então por uma amostra de 10 sujeitos e os dados (número de fibras elásticas e colágenas contadas de acordo com o método descrito em metodologia) passarão pela análise de Cox.

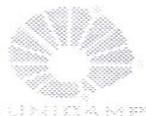
Apesar da palavra paciente aplicar-se mais a condições patológicas, acreditamos que podemos chamar os sujeitos da pesquisa assim, já que os mesmos estão procurando meios de melhorar uma condição física que os incomoda.

O silanol já vem pronto para aplicação intradérmica a 0,1%, e seu diluente é solução fisiológica.

O motivo pelo qual as pacientes se submetem ao tratamento é que receberão o tratamento intradérmico com silanol de forma gratuita ao final do trabalho, e esse tratamento já é muito divulgado e utilizado em clínicas dermatológicas e de cirurgia plástica, sendo o custo de cada sessão em clínica privada de 60 a 80 reais. Assim, se o paciente desejar pode receber o silanol gratuitamente no local da pele que deseje tratar, depois da conclusão da pesquisa. Esperamos sim benefício com a aplicação de silanol, já que o mesmo é cotado como renovador da derme: o benefício que os sujeitos da pesquisa devem ter é o de uma pele mais hidratada, brilhante, mais elástica e com melhor turgor.

Alteramos o termo de consentimento de participação como solicitado (para melhor explicitar itens da resolução 196/96).

ANEXO 3- Parecer definitivo do Comitê de ética em Pesquisa



CEP, 20/07/04.
(Grupo III)

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
✉ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-8925
🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html
✉ cep@fcm.unicamp.br

PARECER PROJETO: N° 181/2004

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “EFEITOS HISTOLÓGICOS DA APLICAÇÃO INTRADÉRMICA DE SILANOL”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Fernanda Oliveira Camargo Herreros

INSTITUIÇÃO: Departamento de Anatomia Patológica/FCM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 30/04/2004

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 15/06/05

II - OBJETIVOS

Mostrar as alterações histológicas decorrentes do tratamento intradérmico de pele fotoenvelhecida com o uso de sinalol.

III - SUMÁRIO

Os sujeitos do estudo serão voluntários de 35 a 55 anos, caucasianos, sadios, sem antecedentes de alergias a medicamentos e que nunca tenham realizado tratamento para foto envelhecimento nos antebraços. Serão realizadas 5 sessões semanais de intradermoterapia, com agulha 4 mm, na porção ventral do antebraço próximo à fossa cubital. Após a última sessão será feito biópsia com punch 3 mm no local tratado. Após contadas as fibras elásticas e colágenas e, dez campos na derme papilar com a ajuda do ciclóide serão comparadas os achados das biópsias do antebraço tratado com silanol com os achados das biópsias que receberam soro fisiológico.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após esclarecimentos da pesquisadora em relação aos questionamentos dos assessores o protocolo encontra-se adequado, conforme as normas vigentes.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é adequado, apenas recomendamos modificar o cabeçalho, que consta Termo de Consentimento de Participação. Além de substituir a última frase (fui informada...) por outra, citando o item “I”, página 22 da Resolução 190/90, que menciona o direito do participante de requerer indenização diante de eventuais danos recorrentes da pesquisa.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na VII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 20 de julho de 2004.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

ANEXO 4- E-mail da revista Dermatologic Surgery

Dear Dr. Fernanda Herreros,

Re:DS-00004-2008.R3, Cutaneous Atypical Mycobacteriosis following
Ultrasound Hydrolipoclasia Treatment

We are pleased to accept this manuscript for publication. Thank you for your contribution to Dermatologic Surgery.

Due to publishing guidelines, we CANNOT download the files for publication directly from the website; therefore, you must submit the following materials necessary for publication of your manuscript to: Dermatologic Surgery, William P. Coleman, III, MD, 4425 Conlin Street, Metairie, LA 70006 USA. Failure to do so will result in non-publication of your manuscript.

Sincerely yours,

Dr. Desiree Ratner

Co-Editor

