

**NATALIA CYMROT CYMBALISTA**

**Hipercromia cutânea idiopática da região orbital:  
avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica  
antes e após tratamento com luz pulsada de alta energia**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Dermatologia

Orientadora: Dra. Zilda Najjar Prado de Oliveira

**São Paulo**

**2004**

## ***AGRADECIMENTOS***

---

Agradeço a todas as pessoas que, de alguma forma, estiveram envolvidas e me ajudaram na realização deste trabalho.

Ao meu marido, **Alexandre Cymbalista**, que, incondicionalmente, me oferece seu apoio, estímulo e amizade, compartilhando comigo os momentos mais felizes e os mais difíceis da vida.

Aos meus pais, **David Cymrot** e **Paulina Cymrot**, e à minha irmã, **Fabiana Cymrot**, pela sua proximidade, amor e apoio constantes.

Ao **Oswaldo Lopes do Amaral** e **Lucas Cypriano** que, por uma felicidade do destino, agora fazem parte da família.

À **Profa. Dra. Zilda Najjar Prado de Oliveira**, minha orientadora, pela amizade, grande contribuição e envolvimento na minha formação profissional e na realização deste trabalho.

Ao Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, representado pelo **Prof. Dr. Evandro Ararigbóia Rivitti**, e ao serviço de pós-graduação do referido departamento, representado pelo **Prof. Dr. Luís Carlos Cucé**, pela permissão, disponibilidade e acolhimento para a realização deste trabalho.

Ao **Dr. Nuno Osório**, com quem tive o privilégio de aprender muito no âmbito profissional e humano, pela extraordinária generosidade e competência e por me permitir utilizar o equipamento de luz pulsada referido neste trabalho.

Ao **Dr. Luís Antônio Ribeiro Torezan**, pela amizade e importantes contribuições para este trabalho, por seu profundo conhecimento em dermatologia e *laser*.

Ao **Prof. Dr. Álvaro Boechat**, pela gentileza e disponibilidade em discutir dúvidas e me transmitir seu incomparável conhecimento na área de *laser*.

Às **Profas. Dras. Mirian Nacagami Sotto e Neuza Sakai Valente**, pela grande contribuição na minha formação profissional, paciência e auxílio na leitura das lâminas deste trabalho.

À **Profa. Dra. Marisa Dohnikoff**, e à **equipe técnica do Laboratório de Poluição da F.M.U.S.P.**, que me ensinaram a técnica e me permitiram utilizar o sistema de análise de imagens digitais para realizar a morfometria deste trabalho.

À **Profa. Dra. Elia Tamaso Espin Garcia Caldini**, pela amizade e auxílio na execução do termo de consentimento informado.

À **equipe técnica do Laboratório de Histopatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da F.M.U.S.P.**, que preparou com dedicação as lâminas deste trabalho.

À **Rute Tomida**, que, com muita dedicação, realizou a formatação deste trabalho.

Ao **Dr. Antonio Carmo Graziosi**, que destinou várias horas de sua atenção para o meu trabalho, contribuindo muito para a sua elaboração.

A **Alessandra Mary**, minha querida amiga, pela amizade e grande ajuda na seleção dos pacientes participantes deste estudo.

Ao **Beni Moreinas Grimblat**, amigo de todas as horas, que me ajudou no aprimoramento deste trabalho.

À **Adriana Maria da Cruz Silva**, minha fiel companheira no dia a dia profissional, que me auxiliou muito na execução da parte prática deste trabalho.

À **Célia Fix Korbivcher**, cuja presença no dia a dia é fundamental, ajudando-me nas minhas realizações.

À **Valéria Vilhena**, da biblioteca da F.M.U.S.P, que me auxiliou na correção das referências bibliográficas.

Ao **Frederic**

# ***SUMÁRIO***

---

	página
Lista de abreviaturas .....	xii
Lista de tabelas .....	xiii
Lista de gráficos .....	xiv
Lista de figuras .....	xiv
Resumo .....	xv
Summary .....	xviii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Definição .....	2
1.2. Sinonímia .....	2
1.3. Etiopatogenia .....	3
1.3.1. Genética .....	3
1.3.2. Fatores causais .....	4
1.3.3. Causas da HCIRO .....	5
1.3.4. Hiperchromia secundária da região orbital - doenças sistêmicas associadas .....	7
1.3.5. Outras causas de hiperchromia orbital secundária .....	8
1.4. Diagnóstico diferencial da HCIRO .....	8
1.5. Histologia da HCIRO .....	9
1.6. Terapêutica - Revisão da Literatura .....	10
1.7. Tipos de <i>laser</i> utilizados para tratamento da HCIRO .....	11
1.8. Luz pulsada de alta energia - Mecanismo de ação .....	14
1.9. Luz pulsada de alta energia no tratamento das lesões melanocíticas .....	18
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
<b>3. CASUÍSTICA E MÉTODO .....</b>	<b>24</b>
3.1. Casuística .....	25
3.1.1. Número de participantes e sexo .....	25
3.1.2. Idade .....	25
3.1.3. Cor da pele .....	25
3.1.4. Fototipo .....	26
3.1.5. Critérios de inclusão .....	26
3.1.6. Critérios de exclusão .....	26
3.2. Avaliação clínica .....	27
3.3. Método fotográfico .....	28
3.3.1. Método de obtenção das fotografias .....	28
3.3.2. Método da análise fotográfica .....	29
3.4. Avaliação clínica dos efeitos colaterais .....	32
3.4.1. Avaliação dos efeitos colaterais imediatos .....	32
3.4.2. Eritema e/ou edema .....	32
3.4.3. Grau de desconforto .....	33
3.4.4. Alteração de cor da pele .....	33
3.4.5. Avaliação dos efeitos colaterais tardios .....	33
3.5. Tratamento .....	34
3.5.1. Orientações após as sessões .....	35
3.6. Análise histológica .....	37
3.6.1. Obtenção dos fragmentos de pele .....	37
3.6.2. Preparo do tecido para avaliação histológica .....	39
3.6.3. Colorações específicas .....	39



3.6.4. Análise imunohistoquímica .....	39
3.7. Análise de imagens por computador (método digital) .....	43
3.8. Análise estatística .....	46
3.8.1. Análise estatística da avaliação clínica através de fotografias, .....	46
3.8.2. Análise estatística da concordância dos observadores na avaliação clínica através de fotografias .....	47
3.8.3. Análise estatística da quantificação de melanina por área .....	48
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
4.1. Avaliação clínica através de fotografias .....	50
4.1.1. Análise clínica através de fotografias segundo cada observador, individualmente .....	50
4.1.2. Seguimento clínico um ano após o término do tratamento .....	52
4.1.3. Análise de concordância (com utilização do coeficiente Kappa) para a avaliação clínica através das fotografias .....	55
4.2. Efeitos colaterais .....	57
4.2.1. Análise dos efeitos colaterais imediatos .....	57
4.2.2. Análise dos efeitos colaterais tardios .....	59
4.3. Análise histológica .....	61
4.3.1. Hematoxilina-Eosina .....	61
4.3.2. Coloração de Peris .....	61
4.4. Análise imunohistoquímica .....	62
4.4.1. Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD-68 .....	62
4.4.2. Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimelanóticos humanos tipo Melan-A .....	62
4.5. Análise comparativa da quantificação de melanina .....	63
4.5.1. Epiderme de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento .....	63
4.5.2. Epiderme de pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, em relação à epiderme de pele pré-auricular esquerda .....	64
4.5.3. Derme de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento .....	66
4.5.4. Derme de pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, em relação à derme de pele pré-auricular esquerda .....	67
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>86</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>88</b>
Anexo 1 - Reatividade da pele humana à radiação solar baseada nos fototipos 1 a 5 .....	89
Anexo 2 - Avaliação fotográfica orientações gerais .....	90
Anexo 3 - Termo de consentimento livre e esclarecido .....	94
Anexo 4 - Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa .....	98
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>

# ***LISTAS***

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\eta\text{m}$	nanômetros
$\mu\text{m}$	micrômetros
$\text{cm}^2$	centímetros quadrados
$\text{CO}_2$	dióxido de carbono
HCIRO	hipercromia cutânea idiopática da região orbital
J	joules
LPAE	luz pulsada de alta energia
ms	milissegundos
OBS	observadores
TRT	tempo de relaxamento térmico

## LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1 Escala de graduação dos efeitos colaterais: edema e eritema.	32
Tabela 2 Avaliação clínica pelo método fotográfico, pelos sete observadores - classificação dos casos em <b>melhor</b> , <b>inalterado</b> ou <b>pio</b> .....	51
Tabela 3 Porcentagem de casos com avaliação <b>melhor</b> , após o tratamento .....	51
Tabela 4 Estimativa e intervalo de confiança de 95% para o coeficiente Kappa (K) (IC 95%); Taxa geral de concordância [%] entre observadores e valores médios para K e para taxa geral de concordância [%] entre os observadores .....	56
Tabela 5 Quantificação de melanina (por área) na epiderme da pele	

## LISTA DE GRÁFICOS

		página
Gráfico 1	Curva de absorção dos principais pigmentos encontrados na pele .....	15
Gráfico 2	Médias dos índices Kappa ( $K_m$ ) de cada observador em relação aos demais .....	57

## LISTA DE FIGURAS

		página
Figura 1	Painel de fotografias do caso 5. ....	30
Figura 2	<b>A-</b> PhotoDerm - VL. <b>B-</b> Ponteira e filtros utilizados. <b>C-</b> Protetores oculares .....	36
Figura 3	Local da realização da biopsia na pálpebra inferior esquerda ..	38
Figura 4	<b>Colorações específicas: A - Fontana-Masson (magnificação de 400X); B - Imunohistoquímica - CD68 (magnificação de 200X); C - Imunohistoquímica - MELAN-A (magnificação de 200X)</b> .....	40
Figura 5	Morfometria. <b>A-</b> epiderme - marcação do pigmento melânico <b>B-</b> epiderme - marcação da área total selecionada. <b>C-</b> derme - marcação do pigmento melânico e <b>D-</b> derme - marcação da área total selecionada .....	45
Figura 6	Região orbital: <b>Caso 2: A</b> - pré-tratamento, <b>B</b> - 2 anos pós-tratamento. <b>Caso 3: C</b> - pré-tratamento, <b>D</b> - 20 meses pós-tratamento .....	53
Figura 7	Região orbital: <b>Caso 6: E</b> - Pré-tratamento, <b>F</b> - 1 ano pós-tratamento. <b>Caso 1: G</b> - Pré-tratamento, <b>H</b> - 2 meses pós-tratamento .....	54
Figura 8	Efeitos colaterais: <b>A e B</b> - Crostas. <b>C</b> - Epidermólise. <b>D</b> - Hiperpigmentação pós-inflamatória no formato do filtro. <b>E</b> – Hipocromia .....	60

## ***RESUMO***

---

Cymbalista NC. Hiperchromia cutânea idiopática da região orbital: avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica antes e após tratamento com luz pulsada de alta energia [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2004, 108 p.

**Introdução:** A hiperchromia cutânea idiopática (HCIRO) não tem sua etiopatogenia bem esclarecida. Parecem estar envolvidos fatores genéticos (herança familiar autossômica dominante), aumento de melanina na derme, vasculatura proeminente e frouxidão da pele palpebral. Encontraram-se, na revisão da literatura, alguns artigos que contribuíram para o esclarecimento da etiopatogenia. **Objetivos:** Avaliar clínica e histologicamente indivíduos portadores de HCIRO, antes e após o tratamento com luz pulsada de alta energia (LPAE), considerando-se a quantidade de melanina na epiderme e na derme antes e após o tratamento e, assim, avaliar a eficácia da LPAE no clareamento da HCIRO. Avaliar possível diferença na quantidade de melanina da pálpebra inferior (afetada) em relação à pele pré-auricular (controle). Avaliar a qualidade das células dérmicas na pálpebra inferior, contendo melanina antes do tratamento (observação através de imunohistoquímica para determinação do tipo de célula dérmica, se macrófagos ou melanócitos). Avaliar a presença ou não de hemossiderina na derme. Avaliar e seguir os indivíduos, clinicamente, após um ano do término do tratamento, para verificar a manutenção da melhora ou a recidiva da HCIRO. **Casuística e Método:** Selecionaram-se 12 indivíduos portadores de HCIRO, os quais foram submetidos à avaliação clínica através de fotografias e à avaliação histológica antes e após a aplicação de LPAE para o tratamento de HCIRO. Realizaram-se biopsias na pálpebra inferior, antes e após o tratamento com LPAE, e biopsia na pele pré-auricular esquerda para comparar a quantidade de melanina existente nela e na pálpebra inferior, antes do tratamento. Os indivíduos foram submetidos a uma série de uma a quatro sessões de aplicação de LPAE nas pálpebras inferiores, com intervalos de aproximadamente trinta dias entre as sessões. Sete observadores independentes, dermatologistas, analisaram fotografias da região palpebral inferior dos participantes antes e após o tratamento e classificaram os resultados como “melhor”, “pior”, ou “inalterado”. A reprodutibilidade dessa avaliação foi testada através do coeficiente Kappa. A quantificação de melanina, por área, antes e após o tratamento, foi realizada através de morfometria com análise de imagens por computador (método digital). A verificação de presença ou não de hemossiderina dérmica foi realizada pela coloração de Perls e a identificação da célula dérmica que contém melanina foi feita pela imunohistoquímica, com anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD68 e anticorpos monoclonais antimelanócitos humanos tipo Melan-A. **Resultados:** Segundo os sete observadores, houve melhora clínica (clareamento da pele palpebral inferior) estatisticamente significativa ( $p=0,024$ ) e o coeficiente Kappa mostrou boa concordância entre os observadores. Todos os indivíduos (100%) apresentaram hiperchromia pós-inflamatória transitória, com tempo médio de desaparecimento de seis meses, enquanto 58,33% apresentaram

hipocromia transitória, no local das biopsias palpebrais, com duração média de sete meses. A análise histológica mostrou ausência de hemossiderina dérmica na pele palpebral, antes e após o tratamento. A quantificação de melanina, por morfometria, mostrou diminuição da mesma após o tratamento tanto na epiderme como na derme, com significância estatística. A morfometria também mostrou, maior quantidade de melanina na epiderme e na derme da pele palpebral inferior, antes do tratamento, em relação à pele pré-auricular, com diferença estatisticamente significativa. A imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD68 e anticorpos monoclonais antimelanócitos humanos tipo Melan-A caracterizaram o macrófago como sendo a célula dérmica que contém melanina na HClRO, não havendo melanócitos dérmicos. **Conclusões:** A quantidade de melanina, tanto da epiderme quanto da derme, diminuiu após o tratamento com LPAE na pálpebra inferior. Há maior quantidade de melanina, tanto na epiderme quanto na derme da pálpebra inferior em comparação com a pele pré-auricular, com diferença estatisticamente significativa. As células que contém melanina na derme palpebral inferior dos indivíduos portadores de HClRO são macrófagos (e não melanócitos). Nos espécimes examinados neste estudo, não houve presença de hemossiderina na derme da pálpebra inferior. Houve clareamento da pele palpebral inferior após o tratamento com LPAE, e o seguimento clínico após um ano do tratamento mostrou que esse clareamento se manteve, não havendo recidiva da HClRO. No entanto, um seguimento mais longo é necessário para a avaliação de possível recidiva tardia da pigmentação palpebral.

Descritores: 1. HIPERPIGMENTAÇÃO/etiologia. 2. PÁLPEBRAS/anatomia & histologia. 3. HIPERPIGMENTAÇÃO/terapia. 4. FOTOTERAPIA / métodos. 5. FOTOTERAPIA/utilização. 6. MELANINAS/efeitos de radiação. 7. IMUNOHISTOQUÍMICA/métodos. 8. INTERPRETAÇÃO DE IMAGEM ASSISTIDA POR COMPUTADOR/métodos. 9. MULHERES.



## ***SUMMARY***

---

Cymbalista NC. Cutaneous idiopathic hyperchromia of the orbital region: clinical, histopathological and immunohistochemestric evaluation before and after the treatment with intense pulsed light [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2004, 108 p.

**Introduction:** The cutaneous idiopathic hyperchromia (HCIRO) does not have a clear etiopathogeny. Genetic factors seem to be involved (familial autosomic dominant heredity), increase of melanin in the dermis, proeminent vascularity and eyelid skin slackness. In the literature revision, a few articles were encountered, which contributed in clarifying the etiopathogeny. **Objectives:** Evaluate clinically and histologically individuals bearer of HCIRO, before and after the treatment with intense pulsed light (LPAE), considering the melanin quantity in the epidermis and dermis, before and after the treatment, in order to evaluate the efficacy of LPAE in the clearing up of HCIRO. Evaluate possible difference in the melanin quantity of the lower eyelid in relation to the pre-auricular skin. Evaluate the quality of the dermic cells in the lower eyelid, containing melanin before the treatment (observation through immunohistochemistry to determine the dermic cell type, whether macrophages or melanocytes). Evaluate the presence or not of hemossiderine in dermis. Evaluate and follow –up clinically of the individuals after a year treatment to check the improvement maintenance or HCIRO recurrence. **Casuistry and Method:** There were selected 12 individuals, bearer of HCIRO, and these were submitted to a clinical evaluation through photographs and to histological evaluation before and after LPAE application for HCIRO treatment. Biopsies were made in the lower eyelid, before and after treatment with LPAE, and in the left pre-auricular skin to compare the melanin quantity with the lower eyelid, before the treatment. The individuals were submitted to one to four sessions of LPAE application in the lower eyelid with approximately thirty–day intervals between sessions. Seven independent observers (dermatologists) analysed photos of the participant's lower eyelids, before and after the treatment and classified the results as “better”, “unaltered” or “worse”. The reproducibility of this affraisal was tested through the Kappa coefficient. The quantification of melanin, per area, before and after the treatment, was made through morphometry, with image analysis by computer (digital method). The verification of the presence or not of dermic hemossiderin was made through the Perls colouring and the cell identification, which contains melanin, was made through immunohistochemistry with monoclonal antibodies anti human macrophages type CD68 and monoclonal antibodies anti human melanocytes type Melan-A. **Results:** According to seven observers, there was a clinical improvement (clearing up of the eyelid skin) statistically significant ( $p= 0.24$ ) and the Kappa coefficient showed a good concordance between the observers. All of the of the individuals (100%) showed a temporary post-inflammatory hyperchromia with an average duration of six months, while 58.33% presents a transitory hypochromia, in the place of palpebral biopsies, of an average duration of seven months. The histological analysis showed absence of dermic hemossiderin in the palpebral skin, before and after the

treatment. The melanin quantification, per morphometry, showed decrease of same after the treatment both in the epidermis and dermis, of statistical significance. Melanin quantity was higher in the lower eyelid (before treatment), comparing with pre-auricular skin, with significant difference statistically. Immunohistochemistry with monoclonal antibodies anti human macrophages type CD68 and monoclonal antibodies anti human melanocytes type Melan-A, characterized the macrophages as being the dermic cell which contains melanin in HCIRO, showing no dermic melanocytes. **Conclusions:** The melanin quantity, both in the epidermis and dermis, decreased after the treatment with LPAE in the lower eyelid. There was more melanin in the epidermis and dermis of the eyelid skin, comparing with the pre-auricular skin, with a statistically significant difference. The cells that contain melanin in the lower eyelid dermis of the individuals bearer of HCIRO, are macrophages (and not melanocytes). In the specimens examined in this study, there was absence of hemosiderin in the dermis of the lower eyelid. There was a clearing up of the lower eyelid skin after the treatment with LPAE, and the clinical follow-up after one year of treatment showed that this clearing up was maintained and no HCIRO reincidence occurred. In the meantime, a longer follow-up is necessary to evaluate a later possible reincidence of the palpebral pigmentation.

Keywords: 1. HYPERPIGMENTATION/etiology. 2. EYELID/anatomy & histology. 3. HYPERPIGMENTATION/therapy. 4. PHOTOTHERAPY/methods. 5. PHOTOTHERAPY/utilization. 6. MELANIN/efects of radiation. 7. IMMUNOHISTOCHEMISTRY/methods. 8. INTERPRETATION OF COMPUTER-ASSISTED IMAGE /methods. 9. WOMEN.

# ***1. INTRODUÇÃO***

---

## 1.1. DEFINIÇÃO

A hiperchromia cutânea idiopática da região orbital (HCIRO), segundo Graziosi, em 2000<sup>(1)</sup>, caracteriza-se pelo escurecimento da pele palpebral e orbital bilateral, que contrasta com a pele facial adjacente, não secundário a doenças sistêmicas ou locais, de causa conhecida, identificável.

A expressão "hiperchromia cutânea" refere-se ao aumento de coloração da pele e inclui, entre outras causas, deposição de pigmentos (como, por exemplo, melanina). O termo "idiopático" traduz o desconhecimento da etiopatogenia. O termo "orbital" refere-se à região envolvida, que inclui a região palpebral.

## 1.2 SINONÍMIA

A HCIRO já foi referida na literatura com os termos: hiperpigmentação periocular <sup>(2)</sup>, hiperpigmentação palpebral familiar <sup>(3)</sup>, círculos escuros abaixo dos olhos <sup>(4,5)</sup>, círculos escuros ao redor dos olhos <sup>(6,7)</sup>, olheiras <sup>(6,8)</sup>, hiperpigmentação periorbital <sup>(9,10,11)</sup>, hiperpigmentação bipalpebral <sup>(12)</sup>, pele infra-orbital pigmentada <sup>(13)</sup>, hiperpigmentação das pálpebras <sup>(8)</sup>, hiperpigmentação infra-orbital <sup>(14,15)</sup>, círculos escuros infra-orbitais <sup>(16,17)</sup>.

### 1.3. ETIOPATOGENIA

A etiopatogenia da HClRO ainda não está bem elucidada.

#### 1.3.1. Genética

Há evidências de caráter familiar, com herança autossômica dominante, e expressão variável dos genes envolvidos, pois há diferença no grau de acometimento dos indivíduos de uma mesma família <sup>(3,6,9)</sup>.

Hunzinker, em 1962 <sup>(3)</sup>, encontrou, em um estudo, dez membros de uma mesma família acometidos de HClRO, além de descrever uma menina de 8 anos afetada.

Goodman e Belcher, em 1969 <sup>(9)</sup>, relataram os casos de 22 membros de uma família, em seis gerações, com HClRO. Depois, observaram outras três famílias, uma delas com 11 membros portadores de HClRO, em duas gerações, havendo casos em que ambos os pais eram afetados. A hiperchromia apareceu nessa família logo na infância e piorou no decorrer da vida, iniciando-se nas pálpebras inferiores e progredindo para as superiores. Maruri e Diaz, em 1969 <sup>(6)</sup>, descreveram vinte pessoas afetadas, em três gerações, de uma outra família.

Há estudos apontando maior incidência dessa enfermidade em indivíduos de cabelos, olhos e pele mais escuros <sup>(6,12)</sup>, sendo mais freqüente

em mulheres <sup>(12)</sup>, embora Hunziker (1962)<sup>(3)</sup> indique a relação homem-mulher como 1:1.

Segundo Bingel, em 1937<sup>(18)</sup>, e Diaz, em 1971<sup>(12)</sup>, a HCIRO é rara na infância e não ocorre no lactente. Parece ser mais freqüente no adulto, mas pode estar presente no indivíduo desde jovem. Observam também que é rara nos indivíduos de pele clara e mais freqüente em mestiços e judeus.

No entanto, apesar das constatações descritas em alguns estudos, não existem evidências concretas que confirmem transmissão genética <sup>(10)</sup> e todas essas observações são obtidas de relatos de casos, não havendo estudos epidemiológicos apropriados.

### **1.3.2. Fatores causais**

A hiperchromia da região orbital pode ser dividida, para fins de compreensão da etiopatogenia, em primária e secundária. A primária é a HCIRO, conforme referido no item “definição”, que se caracteriza pelo escurecimento da pele palpebral e orbital bilateral, que contrasta com a pele facial adjacente, não secundário a doenças sistêmicas ou locais, de causa conhecida. A secundária seria, então, a hiperchromia associada a doenças sistêmicas ou locais, de causa conhecida.

### 1.3.3. Causas da HCIRO

A causa primária mais comum de HCIRO é a hiperpigmentação da pele, a qual decorre de deposição de melanina na derme. A deposição de melanina na derme pode ser congênita (primária) ou secundária a fatores ambientais, como: excessiva exposição solar, uso de estrógenos e progestógenos, exógenos <sup>(19)</sup> ou endógenos, gestação e amamentação <sup>(16,20)</sup>. A deposição de melanina na derme também pode ser causada por hiperpigmentação pós-inflamatória, em geral decorrente de dermatite atópica <sup>(16)</sup>, dermatite de contato alérgica <sup>(13)</sup> ou de trauma por fricção palpebral excessiva <sup>(4)</sup>.

Outra possível causa da HCIRO é a presença de vasculatura superficial proeminente e visível na pálpebra inferior. A aparência hipervascular se deve à combinação de excesso de vascularização subcutânea e hipertransparência da pele <sup>(10,13)</sup>. Touraine, em 1937 <sup>(21)</sup>, observou que os vasos ficam mais visíveis também por perda da gordura subcutânea e do tônus muscular da região, além de haver excesso de melanina nessa área.

A presença de sombra por edema periorbital, a frouxidão <sup>(13)</sup>, a redundância <sup>(7)</sup> ou a herniação de gordura da pele palpebral <sup>(16)</sup> também podem contribuir para a hiperpigmentação da região orbital.

Segundo Diaz, em 1971 <sup>(12)</sup>, a HCIRO pode estender-se do olho até a altura do osso malar e a metade das partes laterais da raiz do nariz, sendo que a região medial das pálpebras costuma ser mais escura.



A piora do escurecimento da região palpebral inferior, com o passar do tempo, parece se dever à ação da gravidade e ao dano actínico. A gravidade, agindo em uma área com pouco tecido subcutâneo e pouca sustentação, faz com que a pele se mova para baixo, esticando-se e afinando-se, permitindo maior visibilidade dos vasos subjacentes e da musculatura orbicular <sup>(22)</sup>. A exposição à radiação UV além de afinar a pele, aumenta seu conteúdo de melanina e de vasos, promovendo o escurecimento dessa região <sup>(10)</sup>.

O grau de hiperchromia parece variar com alguns fatores, como: cansaço, ciclo menstrual, gripes e outras situações de *stress* físico e mental, indicando que um fator dinâmico pode estar presente. Provavelmente haja maior congestão vascular dérmica nesses períodos. Entretanto, trata-se apenas de uma especulação, sem comprovação científica até o momento.

Winkelman, em 1965 <sup>(4)</sup>, sugere que o escurecimento da região periorbital e palpebral em doenças agudas é conseqüência de desidratação numa área de pouco tecido subcutâneo e que o efeito da luz sobre o tecido em questão promove uma coloração azulada, sombreada. Já a pigmentação crônica dessa região, segundo o mesmo autor, se deve à presença de melanina, principalmente em indivíduos de determinadas raças, como árabes e povos mediterrâneos.

Marks, em 1966 <sup>(5)</sup>, associa a hiperchromia da pele da região orbital à rinite alérgica. A patogênese dessa descoloração resulta de estase venosa. Edema prolongado de mucosas nasal e paranasal afeta a drenagem das veias palpebrais gerando estase. A alteração de cor e o edema da região

orbital são agravados pelo espasmo alérgico do músculo de Müller (único músculo estriado palpebral) que, quando se contrai, altera o retorno venoso da pele e do tecido subcutâneo. Parece que, quanto mais intensa a rinite, maior o grau de alteração de cor da pele e edema palpebral. É rara a hiperpigmentação aparecer antes do primeiro ano de vida e não ocorre em casos de rinite sazonal.

#### **1.3.4. Hiperpigmentação secundária da região orbital - doenças sistêmicas associadas**

Adlerkreutz, em 1948 <sup>(2)</sup>, estudou sessenta pacientes femininas com hiperpigmentação orbital e, em 80% delas, encontrou infecções do trato genitourinário; em 50%, doenças ginecológicas; e em 30%, alterações do trato biliar. Nesse estudo, no entanto, não está clara a relação patogênica entre as referidas doenças e a hiperpigmentação orbital. Além disso, não se encontraram, posteriormente, tais achados na literatura.

Doença de Addison, tumores hipofisários, tireoidopatias, síndrome de Cushing podem promover um aumento de melanina na camada basal da epiderme e na derme superior, segundo Duke-Elder e Stewart, em 1952 <sup>(20)</sup>. Também segundo esses autores, doenças sistêmicas crônicas como lúpus, tuberculose, neoplasias, cirrose hepática, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, esclerodermia sistêmica, insuficiência renal crônica, hemocromatose (por aumento de melanina na camada basal), malária,

anemia e doenças do sistema nervoso central podem cursar com hiperpigmentação da região orbital.

Marañon, em 1961 <sup>(23)</sup>, chamou o hipertireoidismo com hiperpigmentação localizada nas pálpebras (sinal de Jellineck) de cloasma dos hipertireóides.

Diaz, em 1971<sup>(18)</sup>, sugere que a hiperpigmentação cutânea da região orbital não é sinal de outras doenças, pois também ocorre em indivíduos sãos.

### **1.3.5. Outras causas de hiperpigmentação orbital secundária**

Duke-Elder e Stewart, 1952 <sup>(20)</sup>, enumeraram causas secundárias de hiperpigmentação orbital, como: eritema *ab igne*, radiodermite, drogas fotossensibilizantes (arsênico, fenotiazídicos, hidantoína, antimaláricos, alcatrões, hidrocarbonetos).

## **1.4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA HCIRO**

Algumas doenças foram referidas no diagnóstico diferencial da HCIRO: nevos melanocíticos, nevo de Ota, equimoses palpebrais, acantose nigricante <sup>(11)</sup>, amiloidose restrita à face <sup>(24)</sup>, melasma, melanose de Riehl, efélides agrupadas, lentigos, ocronose exógena, urticária pigmentosa, líquen plano <sup>(20)</sup>. Jadassohn discute em artigo de Miescher e Stork <sup>(25)</sup>, em 1951, a

existência da tríade de Hutchinson, onde há combinação de xantelasma, comedões e pigmentação palpebral.

### 1.5. HISTOLOGIA DA HCIRO

A maioria dos estudos realizados mostra que a presença de melanina no interior de células dérmicas é um fator importante na gênese da hiperpigmentação da pele periorbital. Maruri e Diaz, em 1969 <sup>(6)</sup>, fizeram avaliação histológica de pacientes portadores de hiperpigmentação palpebral e encontraram ortoqueratose com aumento do número de grânulos de melanina na camada basal e malpighiana inferior, bem como em melanóforos dérmicos. Da mesma forma, Goodman e Belcher, em 1969 <sup>(9)</sup>, biopsiaram um indivíduo portador de HCIRO e encontraram, com a coloração de Fontana Masson, aumento do número de grânulos de melanina na camada basal e malpighiana inferior. A coloração de Perls para hemossiderina resultou negativa nesse material e foram encontrados muitos macróforos contendo melanina no terço superior da derme. Neste trabalho, também se realizou estudo histológico de pele palpebral inferior de três indivíduos não portadores da HCIRO, tendo sido encontrada menor quantidade de melanina.

Miescher e Stork (1951)<sup>(25)</sup>, Jadassohn *et al.* (1954)<sup>(26)</sup> e Hunziker (1962)<sup>(3)</sup> sugerem que o fenômeno se trate de incontinência pigmentar.

Boxrud *et al.*, em 1993 <sup>(7)</sup>, realizaram análise histológica em 15 pacientes com hiperchromia orbital e encontraram depósito de melanina na derme reticular e aumento de vasos dérmicos.

Lowe *et al.*, em 1995 <sup>(13)</sup>, fizeram análise histológica em nove indivíduos afetados pela hiperchromia orbital (biopsia com punch de 2 mm). Esses indivíduos foram tratados com Q-Switched Ruby *laser* e, após o tratamento, os pesquisadores encontraram menos macrófagos contendo melanina na derme (pela coloração da prata) em comparação com os achados anteriores.

Graziosi, em 2000 <sup>(1)</sup>, observou ausência de hemossiderina na derme de indivíduos portadores de HCIRO, além de aumento da concentração de melanina na derme e congestão de vasos subdérmicos.

## 1.6. TERAPÊUTICA - REVISÃO DE LITERATURA

Várias modalidades terapêuticas foram descritas para o tratamento da HCIRO: crioterapia, ácido retinóico <sup>(27)</sup>, ácido glicólico <sup>(28)</sup>, produtos clareadores de uso tópico (contendo hidroquinona, ácido kójico e outros) <sup>(14)</sup>, cremes à base de vitamina A (retinol) e vitamina K1 em microesponjas <sup>(10)</sup>. Vale ressaltar que a dermabrasão, alguns *peelings*, como o de fenol, e a crioterapia podem levar à hipopigmentação da pele <sup>(29,30,31)</sup>. Epstein, em 1999 <sup>(16)</sup>, associou a blefaroplastia transconjuntival ao *peeling* de fenol em oito pacientes obtendo resultados satisfatórios. Avelar, em 1996 <sup>(8)</sup>, propôs

uma técnica cirúrgica com retirada das bolsas palpebrais e do excesso de pele da pálpebra inferior, que pode ser útil no tratamento da HClRO. Zarem e Resnick, em 1991 <sup>(32)</sup>, já haviam sugerido que a blefaroplastia transconjuntival da pálpebra inferior seria capaz de corrigir o escurecimento da pele do local pela diminuição da quantidade de vasos sanguíneos subcutâneos que estão em excesso devido à maior quantidade de gordura subcutânea.

Todas essas formas de tratamento mostraram resultados lentos e pouco animadores.

### **1.7. TIPOS DE LASER UTILIZADOS PARA TRATAMENTO DA HClRO**

Mais recentemente, introduziu-se o *laser* para o tratamento da HClRO.

Boxrud *et al.*, em 1993 <sup>(7)</sup>, trataram 15 pacientes com HClRO com Q-switched ruby (694 nm) *laser*, Q-switched Nd:Yag *laser* (1064 nm) para o componente pigmentar e Dye *laser* (Candela-585 nm) para o componente vascular, com bom clareamento em todos os pacientes e sem efeitos colaterais.

Em outro estudo, Lowe *et al.* (1995) <sup>(13)</sup> trataram HClRO em 17 pacientes, 15 do sexo feminino e dois do sexo masculino, fototipos 2 a 5, com Q-switched ruby *laser* (694 nm), em oito sessões mensais. A avaliação

clínica da melhora foi fotográfica, realizada por um pesquisador independente que avaliou fotografias prévias e posteriores ao tratamento, classificando a melhora em uma escala de 1 a 4 (1= 0-25%, 2= 26-50%, 3= 51-75%, 4= 76- 100% de melhora). Houve clareamento superior a 50% (graus 3 ou 4) em 23,5% dos pacientes após uma sessão e em 88,9 % após duas sessões. A melhora máxima ocorreu após o período de três a seis meses do término do tratamento. O exame histológico mostrou redução de melanina dérmica após o tratamento. Em relação aos efeitos colaterais, 29,4% dos casos apresentaram hiperpigmentação no local da aplicação do *laser*, que foi tratada com hidroquinona a 4% aplicada topicamente, desaparecendo completamente no período de um a dois meses. A porcentagem de hipopigmentação foi de 5,9%, também transitória.

Cisneros, em 1996 <sup>(33)</sup>, tratou dez pacientes portadores de hiperpigmentação palpebral com *laser* Nd: Yag Q-switched poliderm, utilizando comprimentos de onda de 650 nm e 532 nm. Lentigos, efélides, siringomas e queratoses, por vezes associados a HClRO, também podem ser eliminados por esses comprimentos de onda (parâmetros utilizados: ponteiros de 2 e 3 mm, 3 a 4 J/cm<sup>2</sup>, pulsos de 4 a 10 ns). Esse autor refere ser possível a utilização de comprimento de onda de 1064 nm para atingir a melanina dérmica, caso as pálpebras estejam espessadas. Obteve resultados muito satisfatórios, com clareamento das áreas pigmentadas e melhora do componente vascular, sem cicatrizes. O estudo contou com avaliação histológica que mostrou diminuição de melanina dérmica e de melanócitos epidérmicos após o tratamento. Segundo ele, os efeitos

---

colaterais possíveis são: púrpura (duração de 10 a 15 dias), discromias passageiras e cicatrizes, se forem utilizadas altas energias.

Alster e West, em 1998 <sup>(14)</sup>, realizaram *resurfacing* em 12 pacientes do sexo feminino (27 a 56 anos, fototipos 1 a 3) com *laser* de CO<sub>2</sub> pulsado de alta energia. Fotografias prévias e posteriores ao tratamento foram analisadas por dois observadores independentes. A melhora clínica foi graduada em uma escala de 1 a 4 (1= menos de 25% de melhora, 2= 25-50% de clareamento, 3= 50-75%, 4= 75-100% de melhora). O *score* médio foi de 2,5 nove semanas após o *resurfacing*. Quatro pacientes apresentaram hiperpigmentação pós-inflamatória, que durou oito semanas.

Kovak e Alster, em 1998 <sup>(17)</sup>, trataram vinte pacientes comparando Q-Switched Alexandrite (755 nm) com Q-switched Nd:Yag (1064 nm) e constataram que ambos os tipos de *laser* foram capazes de promover o clareamento da HClRO. O clareamento já foi notável após a primeira sessão e mais importante ainda após a ss .0a HC3Tr047/MC5 igdsessão e mais impo=exuain



melhora, 2- boa melhora, 3- melhora total). Com um tratamento houve boa melhora dos 16 pacientes com HCIRO, sem quaisquer complicações.

Lupton e Alster, em 2002 <sup>(15)</sup>, trataram cinquenta pacientes (fototipos 1 a 4) portadores de hiperpigmentação infra-orbital com uma única aplicação de *laser de CO<sub>2</sub> (resurfacing)*. Obtiveram melhora substancial em todos os pacientes. A avaliação da melhora foi clínica, através de dois observadores independentes após uma semana do tratamento, um mês e até um ano, em intervalos regulares. O efeito colateral mais comum foi hiperpigmentação transitória, principalmente em indivíduos de pele mais escura. Não houve efeitos colaterais permanentes ou cicatrizes.

## **1.8. LUZ PULSADA DE ALTA ENERGIA - MECANISMO DE AÇÃO**

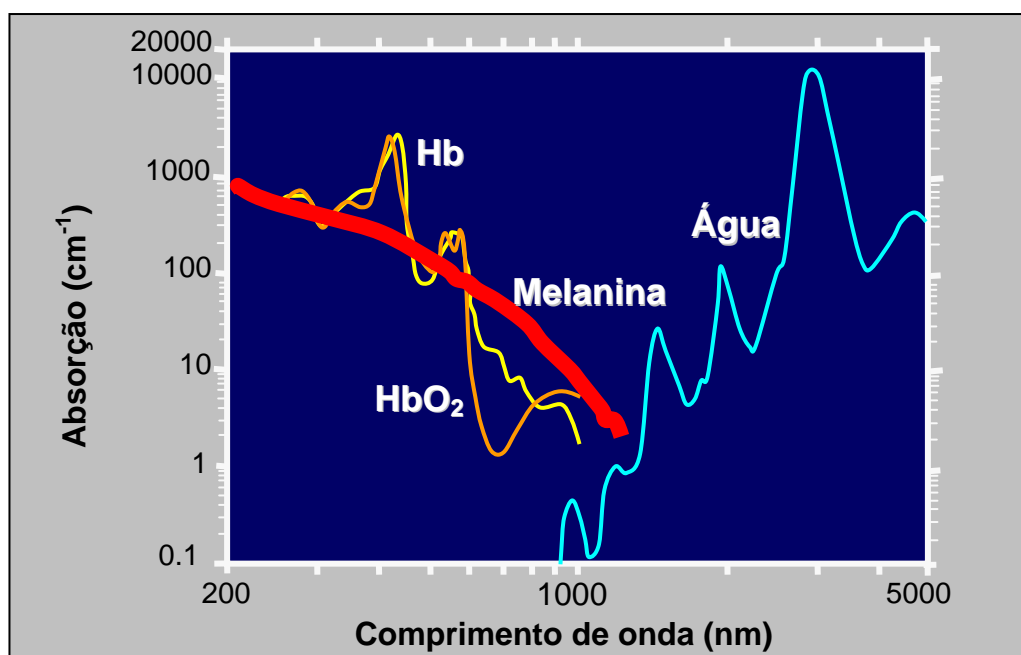
A luz é uma radiação eletromagnética. A absorção tissular de qualquer comprimento de onda de radiação eletromagnética causa aquecimento. Quando um átomo passa do estado excitado para o repouso, libera partículas de ondas luminosas que são fótons. O aquecimento do tecido alvo é diretamente relacionado com o grau de excitação cinética das moléculas. A quantidade de calor gerado, onde há absorção de fótons, é proporcional ao produto da intensidade da radiação pelo coeficiente de absorção do tecido alvo. A partir de determinadas temperaturas, as estruturas tissulares desnaturam e há coagulação tissular com necrose,

hemostasia e alterações de matriz extracelular, caracterizando uma queimadura <sup>(35)</sup>.

A luz pulsada de alta energia (LPAE), como vários tipos de *laser*, objetivam controlar o sítio exato e a intensidade dessa injúria térmica. A combinação entre a temperatura atingida no tecido e o tempo de exposição é que governará o dano térmico coagulativo <sup>(36)</sup>.

Cromóforo é um grupo de átomos que confere cor a uma substância e absorve um comprimento de onda específico de luz. O cromóforo alvo das lesões melanocíticas é a melanina, contida nos melanossomas estágios 3 e 4 (maduros e que contêm maior quantidade de melanina) <sup>(37,38)</sup>. A melanina é capaz de absorver luz em comprimentos de onda que variam de aproximadamente 250 a 1200 nm <sup>(36,39)</sup> (**gráfico 1**).

**Gráfico 1** – Curva de absorção dos principais pigmentos encontrados na pele. Hb= Hemoglobina; HbO<sub>2</sub>= Oxihemoglobina



O mecanismo pelo qual a LPAE atua no tratamento de lesões melanocíticas é o da fototermólise seletiva <sup>(35)</sup>. As condições necessárias para que ocorra a fototermólise seletiva são: utilização de comprimentos de onda que sejam absorvidos preferencialmente pelos alvos desejados; tempo de exposição do alvo à luz (duração de pulso) menor que o tempo de relaxamento térmico (TRT) do tecido alvo e longo o suficiente para atuar sobre o mesmo; fluências suficientes para atingir uma temperatura que danifique o alvo <sup>(36)</sup>. A fluência é a densidade de energia (joules) fornecida em um determinado tempo (segundos), em uma determinada área (centímetros quadrados) <sup>(37)</sup>.

O TRT é o tempo que um tecido leva para perder 50% do calor sem conduzi-lo às estruturas adjacentes. Depende de vários fatores, entre eles a forma e o diâmetro do tecido alvo <sup>(37)</sup>. O TRT em segundos é igual ao quadrado do tamanho do tecido alvo, em milímetros <sup>(36)</sup>. O TRT da epiderme varia entre 3 a 10 ms. O TRT dos melanossomas varia de 10 a 1000 ns <sup>(35,36,38,40)</sup>. Idealmente, a duração de pulso utilizada deve estar entre o TRT da epiderme e o do tecido alvo. Os pulsos utilizados para o tratamento seletivo de lesões melanocíticas devem ser mais curtos que o

TRT dos melanossomas, po0 0nfrs a1 0 0 12 113.4001 173.768jd113.4001 173.0s

a velocidade de resfriamento do alvo, promovendo sua destruição específica (36,38).

Uma competição entre o calor ativo e o resfriamento passivo, por difusão térmica, define o quanto o tecido será aquecido (35).

Os mecanismos de dano térmico possíveis na fototermólise seletiva são: desnaturação térmica, dano mecânico por rápida expansão térmica, alteração de fases (cavitação) ou pirólise (alteração na estrutura química primária) (36).

A LPAE é uma modalidade de luz intensa de *flash*, controlada por computador, não coerente (energia emitida em várias direções), policromática, ou seja, é composta por vários comprimentos de onda (diferente do *laser*, que emite luz monocromática) (41). Para selecionar um comprimento de onda, utilizam-se filtros acoplados à ponteira do aparelho (515 nm, 550 nm, 570 nm, 590 nm, 615 nm, 645 nm, 695 nm, 755 nm). Os filtros permitem a passagem de comprimentos de onda iguais e maiores ao valor designado por cada filtro, impedindo a passagem de comprimentos de onda inferiores a esse valor. Comprimentos de onda maiores penetram mais profundamente na pele. Por isso, filtros mais curtos, como o de 515 nm, são utilizados para o tratamento de lesões melanocíticas superficiais, enquanto que filtros mais longos são usados para lesões mais profundas (42,43,44).

Comprimentos de onda entre 500 e 1000 nm penetram entre 300 e 1600 micrômetros na pele (36).

## **1.9. LUZ PULSADA DE ALTA ENERGIA NO TRATAMENTO DAS LESÕES MELANOCÍTIICAS**

Como os vários tipos de *laser*, a LPAE tem-se mostrado eficaz no tratamento de lesões pigm

receberam tratamentos bimestrais, com utilização do filtro de 615 nm, fluência de 38 J/cm<sup>2</sup>, pulso duplo de 4,5 ms com intervalo entre pulsos de 20 ms. As manchas *café au lait*, efélides e melasma epidérmico clarearam de 76 a 100%. *Nevus spilus* clareou de 51 a 75%, enquanto nevo de Becker, nevos epidérmicos e melasma dérmico clarearam menos de 50% e, no último observou-se pigmentação pós-inflamatória. Não houve cicatrizes, alterações permanentes de pigmentação ou repigmentação das lesões tratadas. As lesões com componente melânico mais profundo (dérmico) necessitaram de comprimentos de onda mais longos, energias mais altas e um número maior de sessões. Foi possível concluir, no referido estudo, que a LPAE é uma alternativa útil e eficaz no tratamento de lesões melanocíticas benignas da pele, de diferentes origens, principalmente as mais superficiais, como efélides, manchas *café au lait* e *nevus spilus*.

Remington e Remington, em 2002, trataram com LPAE uma paciente de dez anos de idade, portadora de síndrome de Peutz-Jeghers, com lentiginose facial. Foram efetuadas 12 sessões, com filtro de 590 nm, fluência de 47 J/cm<sup>2</sup>, pulsos triplos de 3,2 ms e intervalos entre pulsos de 20 ms, a cada quatro a oito semanas, com clareamento total das lesões <sup>(48)</sup>.

Huang *et al.*, em 2002 <sup>(49)</sup>, trataram efélides de 36 pacientes asiáticos com LPAE. A melhora foi avaliada com base em fotografias que tomaram como parâmetros o contraste de cor das efélides com a pele adjacente, a densidade de cor e a área das mesmas. Obtiveram, em 86,1% dos pacientes, resultados bons ou excelentes.

Kawada *et al.*, em 2002 <sup>(50)</sup>, trataram pacientes japoneses portadores de efélides e lentigos solares. Deles, 48% obtiveram mais de 50% de clareamento e 20%, mais de 75%, sendo que 50% dos pacientes apresentaram microcrostas que duraram duas semanas e desapareceram sem seqüelas pigmentares.

Cymbalista *et al.*, em 2002, trataram quatro pacientes do sexo feminino, portadoras de HClRO, aplicando LPAE na pálpebra inferior esquerda e Q-switched ruby *laser* na pálpebra inferior direita. Ambos os lados apresentaram clareamento clínico evidente em todos os pacientes e o exame histológico mostrou diminuição no número de macrófagos dérmicos contendo melanina (coloração de Fontana-Masson) após o tratamento. Os parâmetros de LPAE utilizados foram: filtros de 570 nm, pulsos duplos de 2,6 e 4 ms, com intervalo entre os pulsos de 20 ms e fluência de 37 J/cm<sup>2</sup>. A pálpebra inferior esquerda, tratada com LPAE, mostrou um clareamento mais importante e efeitos colaterais, como edema, menos intensos, comparando-se com o lado direito, tratado com Q-switched ruby *laser* <sup>(51)</sup>.

Ho *et al.*, 2003 <sup>(52)</sup>, realizaram um estudo prospectivo tratando com LPAE 19 pacientes com hiperpigmentação pós-queimaduras (3 a 7 tratamentos com intervalos de três a quatro semanas). Nesse estudo, um observador independente avaliou o clareamento da pele com fotografias prévias e posteriores ao tratamento, baseado na escala: grau 1- sem alterações; grau 2- 0-25% de clareamento; grau 3- 25-50%; grau 4- 50-75%; grau 5- 75-100 % e grau 6- clareamento total. Dos pacientes, após quatro sessões, 78% apresentaram mais de 50% de clareamento; 32%, mais de

75%; um teve 100% de clareamento e dois não responderam ao tratamento. Houve bolhas e eritema como efeitos colaterais transitórios e não houve efeitos colaterais permanentes. O acompanhamento de 11 a 32 meses não evidenciou recorrência da hiperpigmentação.

Kontoes *et al.*, em 2003 <sup>(53)</sup>, tratou com LPAE um paciente portador de síndrome de LEOPARD, com lentigos cutâneos, com clareamento ou desaparecimento de todos os lentigos tratados, sem recidivas após dois anos de seguimento.

Com frequência, a HCIRO é, esteticamente, bastante incômoda, conferindo um aspecto de “cansaço” ao portador e, muitas vezes, dificultando sua inserção social. Por isso e por ser a HCIRO dependente primordialmente de excesso de melanina na pele da região orbital, propusemos um tratamento com luz pulsada de alta energia visando a promover o clareamento da pele, sem danos permanentes à sua textura ou coloração normal.



## ***2. OBJETIVOS***

---

1. Avaliação clínica e histopatológica (pela quantificação de melanina na epiderme e na derme) da HClRO, nas pálpebras inferiores, antes e após o tratamento com luz pulsada de alta energia (LPAE), para verificar a eficácia da LPAE no clareamento da HClRO.
2. Comparar a pele pré-auricular (controle) com a pele palpebral (afetada) quanto à quantidade de melanina na epiderme e na derme.
3. Avaliar a qualidade de células dérmicas contendo melanina na pálpebra inferior, antes do tratamento (observação através de imunohistoquímica para determinação do tipo de célula dérmica, se macrófago ou melanócito).
4. Avaliar a presença ou a ausência de hemossiderina na derme da pálpebra inferior.
5. Seguimento clínico, após um ano do término de aplicações de LPAE nas pálpebras, com 03 03T2ie

### **3. CASUÍSTICA E MÉTODO**

---

### **3.1. CASUÍSTICA**

#### **3.1.1. Número de participantes e sexo**

Foram estudados 12 indivíduos do sexo feminino, do Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (n = 5), do Ambulatório de Dermatologia do Hospital do Servidor Público Municipal (n = 1) e de clínica particular (n = 6). A seleção ocorreu entre os meses de janeiro e agosto de 2002.

#### **3.1.2. Idade**

A mediana das idades dos indivíduos participantes foi de 32,5 anos (mínima = 20, máxima = 41 anos).

#### **3.1.3. Cor da pele**

Dos 12 indivíduos participantes, dez eram brancos (83,33%) e dois eram pardos (16,67%).

### **3.1.4. Fototipo**

Cada indivíduo foi classificado quanto à cor de sua pele (fototipo), levando-se em consideração a classificação de Fitzpatrick <sup>(54)</sup>. Dos 12 indivíduos, cinco apresentavam fototipo 2 (41,67%), dois apresentavam fototipo 3 (16,67%) e cinco apresentavam fototipo 4 (41,67%).

### **3.1.5. Critérios de inclusão**

- Presença de escurecimento da pele da região orbital bilateral, com evidências clínicas de excesso de deposição de pigmento.
- Idade acima de 18 anos.
- Indivíduos clinicamente hígidos, não recebendo tratamento para doenças agudas ou crônicas no momento da inclusão.
- Indivíduos que se mostraram interessados no tratamento e dispostos a comparecer durante todo o tratamento e seguimento.

### **3.1.6. Critérios de exclusão**

- Presença de processos inflamatórios, infecciosos ou tumorais na pele palpebral (por exemplo, dermatite de contato, carcinomas basocelulares, abscessos).

- Presença de doenças sistêmicas que caracterizam a hiperpigmentação como secundária (por exemplo, doença de Addison).
- Distúrbios psiquiátricos que podem interferir na assiduidade ao tratamento e seguimento.
- Tratamentos realizados na região orbital há menos de seis meses do início do protocolo.
- Recusa em assinar o termo de consentimento orientado.
- Hipersensibilidade à lidocaína.
- Presença de doenças dermatológicas que cursam com fotossensibilidade (por exemplo, lúpus eritematoso, erupção polimorfa à luz), presença de vitiligo ou doenças que cursam com o fenômeno de Koebner.
- Indivíduos em que o aspecto de escurecimento da região orbital se deve apenas à presença de vasos, sombra ou bolsas palpebrais (casos em que, clinicamente, não se observa hiperpigmentação).

### **3.2. AVALIAÇÃO CLÍNICA**

Os indivíduos selecionados, após a assinatura do termo de consentimento orientado, foram submetidos aos procedimentos abaixo indicados.

- Exame clínico dermatológico da pele da região orbital para verificar a presença de hiperpigmentação da região orbital, e que esta não fosse decorrente de vasos excessivamente visíveis, edema local ou sombra.
- Exame clínico dermatológico em que se classificou cada indivíduo quanto à cor de sua pele (fototipo), levando-se em consideração a classificação de Fitzpatrick <sup>(54)</sup>.
- Fotografias antes e após as sessões de LPAE.
- Biópsia de pele da região medial da pálpebra inferior esquerda, antes e após o tratamento.
- Biópsia de pele da região pré-auricular esquerda antes do tratamento.
- Tratamento com aplicação de LPAE nas pálpebras inferiores.

### **3.3. MÉTODO FOTOGRÁFICO**

#### **3.3.1. Método de obtenção das fotografias**

Foram feitas fotografias da face com iluminação padrão (ambiente com luz natural e artificial, com fundo escuro opaco), sempre no mesmo local.

Todas as fotografias foram tiradas pela mesma pessoa, com uma câmera fotográfica Vivitar 3300 SE, com lente macro 100 mm e flash Tron S400 TCZ sobre a câmera. A velocidade do obturador foi de 1/60 e a

abertura do diafragma 1/16. Os filmes foram para fotografias, de asa 400, marcas Kodak, Agfa ou Fuji.

As fotografias foram realizadas em três fases: antes do tratamento, um mês e aproximadamente um ano após seu término (com exceção de 3 indivíduos, que não compareceram nessa última ocasião).

Em cada fase fizeram-se três fotografias: uma na posição frontal englobando ambos os olhos; uma na posição frontal englobando apenas a região orbital esquerda; outra na posição frontal englobando apenas a região orbital direita.

### **3.3.2. Método da análise fotográfica**

As fotografias foram analisadas por sete observadores independentes, dermatologistas, escolhidos ao acaso, do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Apresentaram-se painéis com fotografias de cada paciente (**figura 1**) e a cada observador coube avaliar se houve melhora clínica ou não, através do exame de fotografias tiradas antes do tratamento, logo após seu término, e depois de um ano, aproximadamente, do término do tratamento. Os observadores receberam as orientações contidas no **anexo 2** e relacionadas a seguir.





**Figura 1** – Painel de fotografias do caso 5. Fotografias da esquerda (superior e inferior): pré-tratamento; fotografias do centro (superior e inferior): um mês após o término do tratamento; fotografias da direita (superior e inferior): um ano após o término do tratamento.

Os observadores foram orientados a avaliar somente a região orbital, mais nenhuma outra característica da pele do paciente, e a analisar as fotos quanto:

- ao clareamento (da cor) da região orbital antes e após o tratamento,
- à mudança de tamanho do raio de área escurecida da região orbital antes e após o tratamento.

Cada fotografia foi observada durante cerca de 15 segundos. As fotografias da esquerda foram feitas antes do tratamento, enquanto que as da direita foram realizadas um mês após a última sessão. Em alguns casos, a melhora foi mais nítida somente depois de um ano do final do tratamento. Nestes casos, foi inserida, na extrema direita do painel, uma terceira fotografia que foi tirada, então, um ano após o término do tratamento. Após a análise das fotos mostradas de cada paciente, os observadores foram orientados a preencher um formulário (**Anexo 2**) e assinalar um X em :

- **Melhor** - se houve qualquer grau de clareamento ou diminuição do raio de área escurecida após o tratamento (independente do grau de melhora), não importando se a melhora se deu logo após a última sessão ou decorrido um tempo maior (terceira foto, da extrema direita);
- **Inalterado**- se não houve clareamento ou diminuição do raio de área escurecida após o tratamento;
- **Pior**- se a área em questão escureceu mais ou se o raio de área escurecida aumentou após o tratamento.

Cada observador foi orientado a analisar as fotografias levando em conta que, nos casos onde havia uma terceira foto, aquela de 1 ano após o

término do tratamento, ela prevaleceria sobre a fotografia intermediária (um mês após o final das sessões), pois é a que melhor retrata o resultado final. O observador foi orientado a assinalar a alternativa “melhor” nos casos em que achasse que pelo menos um lado (esquerdo ou direito) melhorou.

### **3.4.3. Grau de desconforto**

Perguntou-se a cada indivíduo a respeito do grau de desconforto experimentado durante a aplicação da LPAE nas pálpebras inferiores, em cada sessão individualmente. A classificação do grau de desconforto foi subjetiva, distribuindo-se pelas categorias: leve, moderado ou intenso.

### **3.4.4. Alteração de cor da pele**

Verificou-se a presença ou a ausência de alteração da coloração da pele palpebral inferior imediatamente após cada aplicação de LPAE.

### **3.4.5. Avaliação dos efeitos colaterais tardios**

Os efeitos colaterais chamados de tardios foram aqueles que não apareceram imediatamente após a realização de cada sessão e, sim, depois de sete dias ou mais.

A partir da segunda sessão, os indivíduos foram avaliados clinicamente na data de cada sessão, antes da aplicação da LPAE, quanto à presença de cicatriz cutânea, hiperpigmentação e/ou hipopigmentação da pele palpebral inferior. O objetivo foi a verificação de efeitos colaterais decorrentes de alguma sessão anterior.

Nos casos onde esses achados foram constatados, determinou-se a sua duração (tempo decorrido entre seu aparecimento e desaparecimento).

### 3.5. TRATAMENTO

Os pacientes foram tratados com LPAE (PhotoDerm-VL; Lumenis-ESC Medical Systems Ltd, Yorkneam, Israel) (**figura 2A**) apenas nas pálpebras inferiores.

O equipamento utilizado neste estudo emite luz nos comprimentos de onda entre 515-1200 nm, permite variação na duração (1 a 25 ms) e no modo do pulso (único, duplo ou triplo), bem como no intervalo entre os pulsos (10 a 300 ms) e na fluência (3 a 90 J/cm<sup>2</sup>). Possui ponteiros de 8 x 35 mm e 10 x 45 mm (**figura 2B**). Esses parâmetros podem variar em outros equipamentos de LPAE.

Após a aplicação local ocular de colírio anestésico (Anestacom), foram colocados protetores intra-oculares de aço, específicos para o uso do referido equipamento (**figura 2C**). Fez-se a aplicação da LPAE com uma camada de gel gelado entre a ponteira e a pele. Utilizaram-se filtros de 515, 550 ou 570 nm (**figura 2B**), fluências de 36 a 37 J/cm<sup>2</sup>, pulsos duplos, de 2,6 e 4,0 ms com intervalo entre pulsos de 20 ms.

Os indivíduos receberam um total de duas a quatro sessões bilateralmente, com mediana de intervalos entre as sessões de 1,33 meses (mínimo = 0,93, máximo = 4,10).

### 3.5.1. Orientações após as sessões

Após cada sessão, os pacientes receberam as orientações abaixo apresentadas.

- Aplicar, nas pálpebras inferiores, cremes à base de corticosteróides (aceponato de metilprednisolona 0,1%) e/ou compressas geladas, enquanto durasse o eritema, edema ou crostas.
- Aplicar cremes fotoprotetores imediatamente após o término de cada sessão, durante todo o período de tratamento e seguimento.
- Evitar exposição solar.
- Evitar trauma local.
- Na presença de crostas, utilizar cremes antibióticos à base de mupirocina duas vezes ao dia.

**A****B****C**

**Figuras 2 - A – PhotoDerm – VL. B – Ponta e filtros utilizados. C Protetores oculares**

### 3.6. ANÁLISE HISTOLÓGICA

#### 3.6.1. Obtenção dos fragmentos de pele

Cada indivíduo, em decúbito horizontal dorsal, foi submetido à antissepsia da pele da região palpebral inferior com gluconato de clorexidina em solução aquosa, seguido de anestesia local infiltrativa com lidocaína 2%, sem vasoconstritor.

Todas as biopsias de pele foram realizadas em ambulatório, pelo mesmo médico, para coleta de tecido para as análises histopatológica e imunohistoquímica.

A área escolhida foi a região palpebral inferior esquerda medial, onde a hiperpigmentação fosse bem evidente, próximo à borda ciliar (**figura 3**).

Utilizou-se punch de 2 mm para a retirada do fragmento de pele e a área foi suturada com fio mononylon 6-0, para assegurar melhor resultado estético, fazendo-se, em seguida curativo oclusivo com micropore e pomada de mupirocina. O fragmento de pele retirado foi preservado em formol a 10% até o processamento para análise histológica.

Após cada biopsia, os indivíduos foram orientados a fazer limpeza da região duas vezes ao dia com água e sabonete e posterior aplicação de pomada de mupirocina. O ponto de sutura foi retirado três ou quatro dias após o procedimento.



No mesmo ato cirúrgico, realizou-se biopsia da região pré-auricular esquerda com o objetivo de comparar a quantidade de melanina na epiderme e na derme dessa área (que serviu como controle do próprio indivíduo, de pele não afetada pela hiperpigmentação) em relação à pele palpebral inferior, com HCIRO. Escolheu-se, para a biopsia controle, a região pré-auricular, pois é uma área exposta, como a região orbital, e que não acarretaria danos estéticos aos indivíduos.

Nova biopsia de pele da região medial da pálpebra inferior esquerda foi realizada aproximadamente um mês após o término do tratamento, próximo ao local da biopsia anterior, com a mesma técnica já descrita.



**Figura 3** – Local da realização da biopsia na pálpebra inferior esquerda

### 3.6.2. Preparo do tecido para avaliação histológica

O material fixado em formol a 10% foi desidratado por meio de álcool absoluto, diafanizado pelo xilol e incluído em parafina.

### 3.6.3. Colorações específicas

Os fragmentos de tecido obtidos foram corados pela Hematoxilina - Eosina para avaliação de possíveis diferenças na epiderme, junção dermo-epidérmica e derme da pele na região palpebral pré-tratamento, em comparação com a pele pré-auricular.

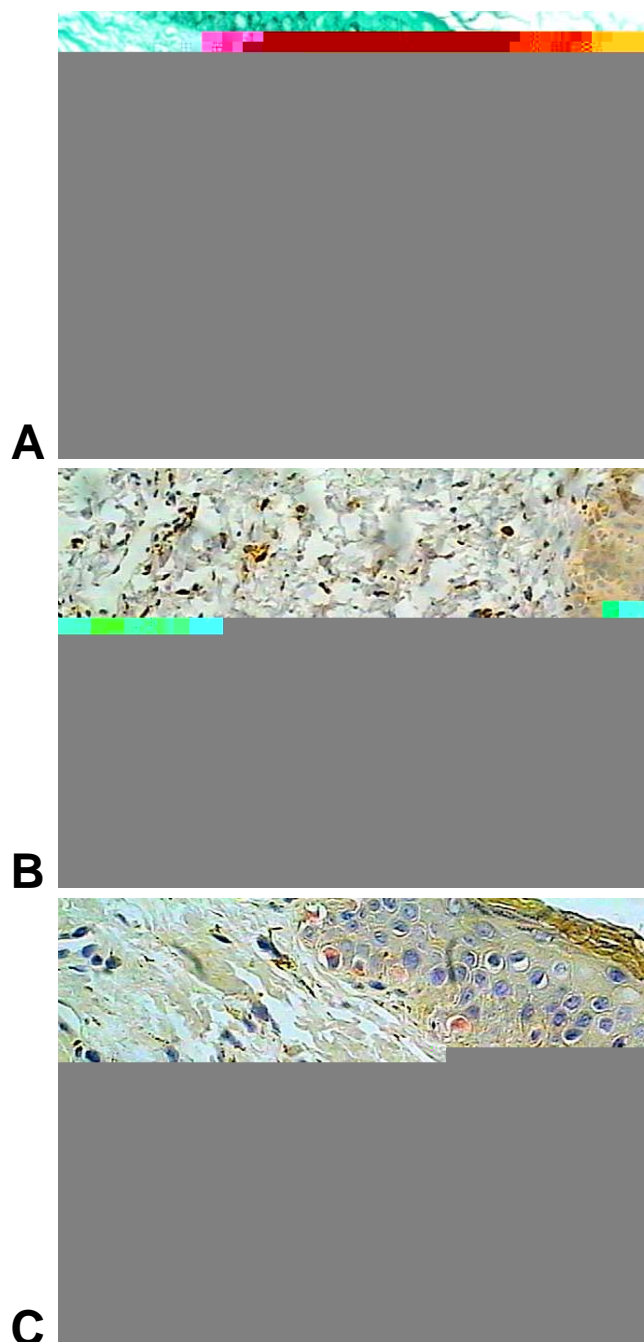
Foram também corados pela coloração de Perls para se verificar a presença ou ausência de hemossiderina na derme <sup>(55)</sup> e com Prata coloidal (Fontana - Masson) para se evidenciar o pigmento melânico epidérmico e dérmico <sup>(56)</sup> (**figura 4a**).

### 3.6.4. Análise imunohistoquímica

Realizou-se análise imunohistoquímica com os anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD68 (**figura 4b**) a fim de se demonstrar a presença ou ausência de macrófagos na derme.

A marcação com os anticorpos monoclonais antimelanócitos humanos tipo MELAN-A visa a demonstrar a presença específica, ou a ausência, de melanócitos na derme (**figura 4c**). Dessa forma, foi possível caracterizar o

tipo de célula que contém melanina, encontrada na derme, se macrófago ou melanócito.



**Figuras 4 -** Colorações específicas- **A** - Fontana-Masson (magnificação de 400X); **B** - Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD68 (magnificação de 200X); **C** - Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimelanócitos humanos tipo MELAN-A (magnificação de 200X)

A técnica para Imunohistoquímica em material embebido em parafina obedeceu ao seguinte protocolo: cortes histológicos de 4  $\mu\text{m}$  de espessura foram obtidos a partir de material embebido em parafina e colhidos em lâminas previamente preparadas com solução adesiva de 3 amino-propyltriethoxy-silane (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO/USA, cód. A3648).

A seguir, foram desparafinados em dois banhos de xilol a 60°C durante vinte minutos e à temperatura ambiente durante dez minutos, sendo, posteriormente, hidratados em seqüência decrescente de etanol (100%, 95% e 70%) e água corrente durante cinco minutos cada. Para a remoção de pigmentos de formol, incubaram-se as lâminas em solução de hidróxido de amônia 10% em álcool 95%, durante vinte minutos.

Fez-se exposição antigênica com tampão citrato 1mM pH 6.0 através da irradiação por microondas em dois ciclos de dez minutos cada. Os cortes histológicos foram lavados em água corrente e água destilada.

O bloqueio de peroxidase endógena foi feito em câmara escura com duas incubações em água oxigenada 3% por dez minutos cada e, em seguida, as lâminas foram novamente lavadas em água corrente, água destilada e solução tampão TBST (Tris [hydroxymethyl]-aminomethane) – HCl (Tris + Tween 20).

Fez-se o bloqueio de proteínas inespecíficas do tecido com incubação em solução Tris + BSA + Soro Normal. A etapa seguinte constituiu-se da incubação das lâminas com os anticorpos monoclonais produzidos em

camundongo, antimacrófagos humanos (CD68, Dako M814 – clone KP1) e antimelanócitos humanos (Melan-A, Dako M7196 – clone A103) nas diluições 1:800 e 1:200, respectivamente, em solução de bloqueio *over-night* a 4°C.

Para a detecção de macrófagos, procedeu-se à incubação com o anticorpo secundário antiimunoglobulina de coelho e antiimunoglobulina de camundongo produzido em cabra (Dako K492) durante uma hora, a 37°C. As lâminas foram novamente lavadas em tampão e incubadas com o complexo SABC (Dako K492) durante uma hora, a 37°C. Após nova lavagem em tampão, a reação foi revelada com solução cromógena de diaminobenzidina (3,3'-diaminobenzidine, SIGMA Chemical Co., St. Louis, MO/USA, cód. D5637) 0,06%, acrescida de 10µl de peróxido de hidrogênio concentrado.

Para a detecção de melanócitos, após três lavagens com tampão TBST por cinco minutos cada, procedeu-se à incubação com o sistema Envision, constituído de um polímero marcado com fosfatase alcalina (Dako Envision K4017). Após lavagem em tampão, procedeu-se à revelação da reação com o substrato New Fuchsin (Biogenex USA-HK 183-5K), seguida de lavagem em TBST.

Os cortes histológicos foram lavados em água corrente durante dez minutos, contracorados com hematoxilina, lavados em água corrente, desidratados em etanol e diafanizados em xilol. A montagem das lâminas foi feita com resina Permout (FISHER Scientific, Fair Lawn, NJ/USA, cód. SP15-100).

A intensidade de cor foi controlada ao microscópio óptico, através dos controles positivos que acompanharam cada reação.

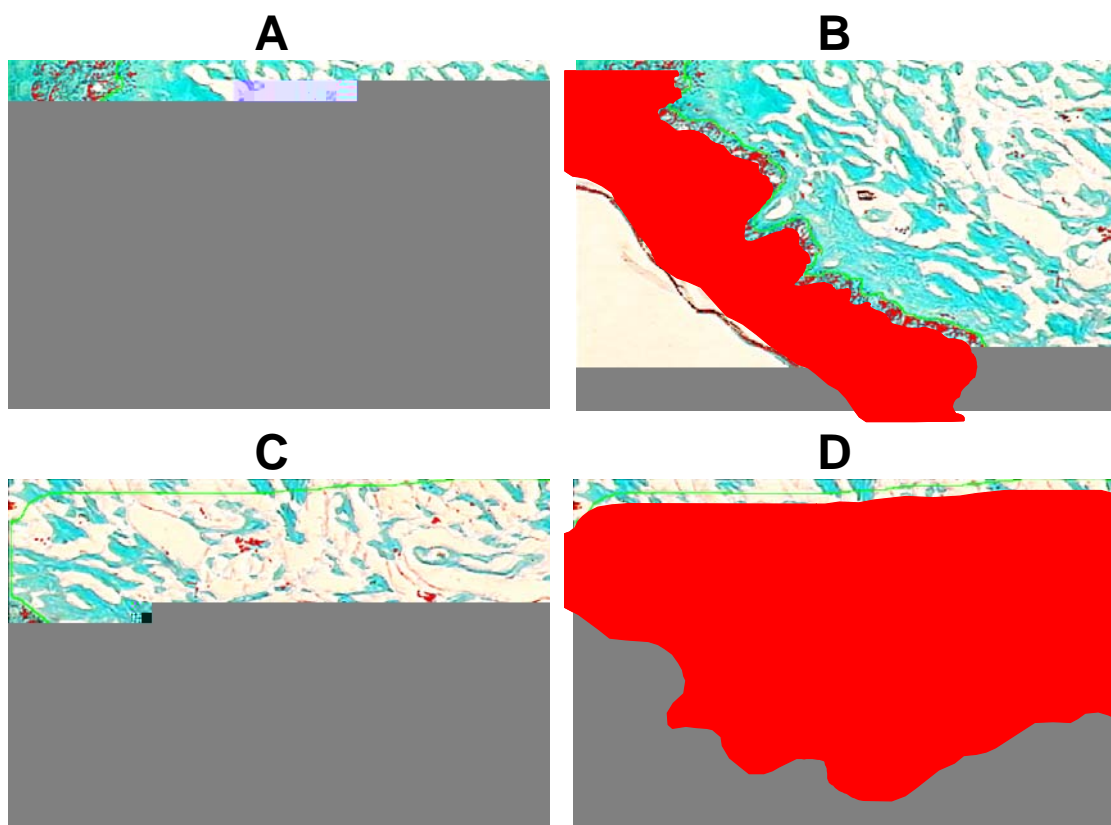
### **3.7. ANÁLISE DE IMAGENS POR COMPUTADOR (MÉTODO DIGITAL)**

A quantificação de melanina na epiderme e na derme foi efetuada através de um sistema de análise de imagens por computador. Todas as imagens foram analisadas através de um *software* comercialmente disponível sob a denominação de Image Pro- Plus, versão 4.1 para Windows 95/98/NT (Media Cybernetics, Silver Spring, MD). O sistema completo de análise de imagens consiste em uma câmera filmadora CCD Sony DXC-101, associada a um microscópio Zeiss Axioplan, de onde as imagens são enviadas para um monitor Trinitron Sony. Um computador (Pentium 133 Mhz) processa as imagens através de um sistema de digitalização de imagens (Oculus TCX, Coreco Inc.; St Laurent, Quebec, Canada), as quais são processadas por um *software* (Bioscan- Optimas 5.1; Bioscan, Inc; Edmonds, WA).

Uma média de cinco campos aleatórios de epiderme e cinco campos de derme foi analisada por lâmina, com magnificação de 400 X. Para cada caso estudado, examinaram-se uma lâmina de fragmento de pele palpebral inferior esquerda antes do tratamento, uma lâmina de fragmento de pele palpebral inferior esquerda após o tratamento e uma lâmina de fragmento de pele pré-auricular.

Inicialmente, se delimitou o campo a ser examinado através da ferramenta de traço livre, do Image Pro- Plus e, dentro dele, o pigmento melânico, corado pelo Fontana Masson, foi marcado de forma a se diferenciar do restante das estruturas por contraste de cor. A área de pigmento melânico foi determinada por densitometria digital, em micrômetros quadrados ( $\mu^2$ ). Artefatos de coloração, presentes em algumas lâminas, foram eliminados do campo analisado.

Posteriormente, a área total do campo delimitado foi quantificada, também por densitometria digital, para que fosse possível determinar a área de melanina em relação à área total do campo selecionado. Em relação à epiderme, os campos selecionados estenderam-se desde a membrana basal até o final da camada granulosa, excluindo-se a camada córnea. Em relação à derme, os campos selecionados iniciaram-se a partir da derme papilar englobando parte da derme reticular (**figura 5**). Derme e epiderme foram analisadas separadamente para que fosse possível identificar alterações de quantidade de pigmento melânico, antes a após o tratamento, em cada uma dessas camadas de pele <sup>(57,58,59)</sup>. Obteve-se a mediana dos valores de melanina por área dos campos analisados de epiderme e derme, separadamente.



**Figura 5-** Morfometria. **A** - epiderme - marcação do pigmento melânico **B** - epiderme – marcação da área total selecionada. **C** - derme - marcação do pigmento melânico e **D** - derme - marcação da área total selecionada



Apenas um pesquisador realizou todas as medidas de melanina por área, de forma "cega", ou seja, sem saber quais lâminas eram prévias e quais eram posteriores ao tratamento. Isso objetivou evitar tendências na leitura das medidas de área de melanina.

A análise das lâminas de fragmentos de pele pré-auricular serviu para que eles fossem comparados com a pele da pálpebra inferior esquerda antes do tratamento em relação à quantidade de melanina epidérmica e dérmica. O objetivo foi determinar se há ou não diferença de quantidade desse pigmento entre a pele afetada pela HCIRO e a não afetada, ambas em área exposta, no mesmo indivíduo.

Também pelo método digital, realizou-se a medida da espessura da pele da pálpebra inferior pré-tratamento (epiderme e derme, conjuntamente), para que fosse possível estabelecer a correlação com a profundidade da penetração da luz nos comprimentos de onda utilizados neste estudo (a partir de 515, 550 e 570, até 1200  $\eta\text{m}$ ).

### **3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

#### **3.8.1. Análise estatística da avaliação clínica através de fotografias**

A análise da distribuição da freqüência da avaliação clínica segundo a classificação das fotos por cada observador foi feita através do teste Q. de Cochran <sup>(60)</sup>.<

### **3.8.2. Análise estatística da concordância dos observadores na avaliação clínica através de fotografias**

A análise estatística da concordância interobservadores para a classificação das fotos foi efetuada por meio do coeficiente Kappa (K). O coeficiente Kappa (K) é uma medida de concordância utilizada em escalas dicotômicas ou em escalas ordinais <sup>(61)</sup>, definida como a proporção de concordância além da esperada pelo acaso. A estratégia adotada para a análise foi a combinação dos sete observadores em pares, o que permitiu a formação de 21 pares de combinações, cujas tabelas de contingência serviram para o cálculo do coeficiente Kappa e respectivo intervalo de confiança de 95% para cada uma das combinações de observadores. A partir daí, foi considerado um coeficiente final de Kappa, determinado pela média aritmética dos 21 coeficientes Kappa calculados. Para a interpretação do coeficiente Kappa, consideraram-se: reprodutibilidade excelente:  $K > 0,75$ ; boa reprodutibilidade:  $0,4 \leq K \leq 0,75$ ; reprodutibilidade marginal:  $0 \leq K \leq 0,4$ . Os valores negativos foram interpretados como equivalentes a 0,00, ou seja, ausência de concordância. Com o objetivo de adicionar informações à estatística descritiva da análise de concordância, a taxa geral de concordância, definida como a proporção de concordância entre os observadores em relação ao total da amostra, foi calculada em relação a cada par de observadores.

### 3.8.3. Análise estatística da quantificação de melanina por área

O teste não-paramétrico dos postos assinalados de Wilcoxon foi utilizado na comparação de amostras pareadas para a análise da diferença de quantidade de melanina por área na pele da pálpebra inferior, antes e após o tratamento, bem como da pele pré-auricular em comparação com a da pálpebra inferior antes do tratamento. Essas amostras foram apresentadas de forma descritiva, em tabelas contendo medianas. Não foi utilizado um teste T pareado, pois a amostra ( $n=12$ ) é reduzida demais e não existe, dessa forma, um alto poder de discriminação para fazer um teste de normalidade que verifique a suposição do teste T pareado. Assim, foi utilizada sempre a mediana como medida de tendência central e valores de mínimo e máximo, já que eles são parâmetros mais adequados para descrever variáveis de distribuição não normal, ou assimétrica.

Todas as probabilidades de significância apresentadas são do tipo bilateral e valores menores que 0,05 são considerados estatisticamente significativos <sup>(62)</sup>. A análise estatística dos dados foi efetuada através do *software* SAS, versão 8.0 (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) e *Minitab* versão 13.1 (State College, PA, USA).

## ***4. RESULTADOS***

---

#### 4.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA ATRAVÉS DE FOTOGRAFIAS

Sete observadores (dermatologistas) examinaram as fotografias de cada paciente antes e após o tratamento, e as classificaram como "melhor" ou "inalterado" após o tratamento. Nenhum observador achou que algum caso pudesse ser classificado como "pior" após o tratamento. As distribuições das frequências das avaliações clínicas por fotografias, efetuadas pelos observadores, estão descritas na **tabela 2**. A **tabela 3** mostra a porcentagem total de casos classificados como "melhor" após o tratamento, por observador.

##### 4.1.1. Análise clínica através de fotografias segundo cada observador, individualmente

Os observadores 1, 6 e 7 apontaram melhora em 83,3% dos casos; os observadores 2 e 3, em 75% e 58,3% respectivamente; os observadores 4 e 5 apresentaram melhora em 50%. A análise dessas diferenças foi estatisticamente significativa (teste de Q. de Cochran) <sup>(60)</sup>, com  $p=0,024$ .  
**(tabela 2)**

**Tabela 2-** Avaliação clínica através do método fotográfico pelos sete observadores – classificação dos casos em **melhor**, **inalterado** ou **pior**

	OBS 1	OBS 2	OBS 3	OBS 4	OBS 5	OBS 6	OBS 7
CASO 1	M	M	M	M	M	M	M
CASO 2	M	M	M	I	I	M	M
CASO 3	M	M	I	M	M	M	M
CASO 4	M	M	M	M	M	M	M
CASO 5	M	M	M	I	I	M	M
CASO 6	M	M	M	M	M	M	M
CASO 7	M	M	M	M	M	M	M
CASO 8	M	M	I	I	I	M	M
CASO 9	M	I	I	I	I	I	I
CASO 10	I	I	M	I	I	M	M
CASO 11	M	M	I	M	M	M	M
CASO 12	I	I	I	I	I	I	I
Total M	10	9	7	6	6	10	10

M = melhora; I = inalterado; OBS = observador

**Tabela 3 -** Porcentagem de casos com avaliação **melhor**, após o tratamento

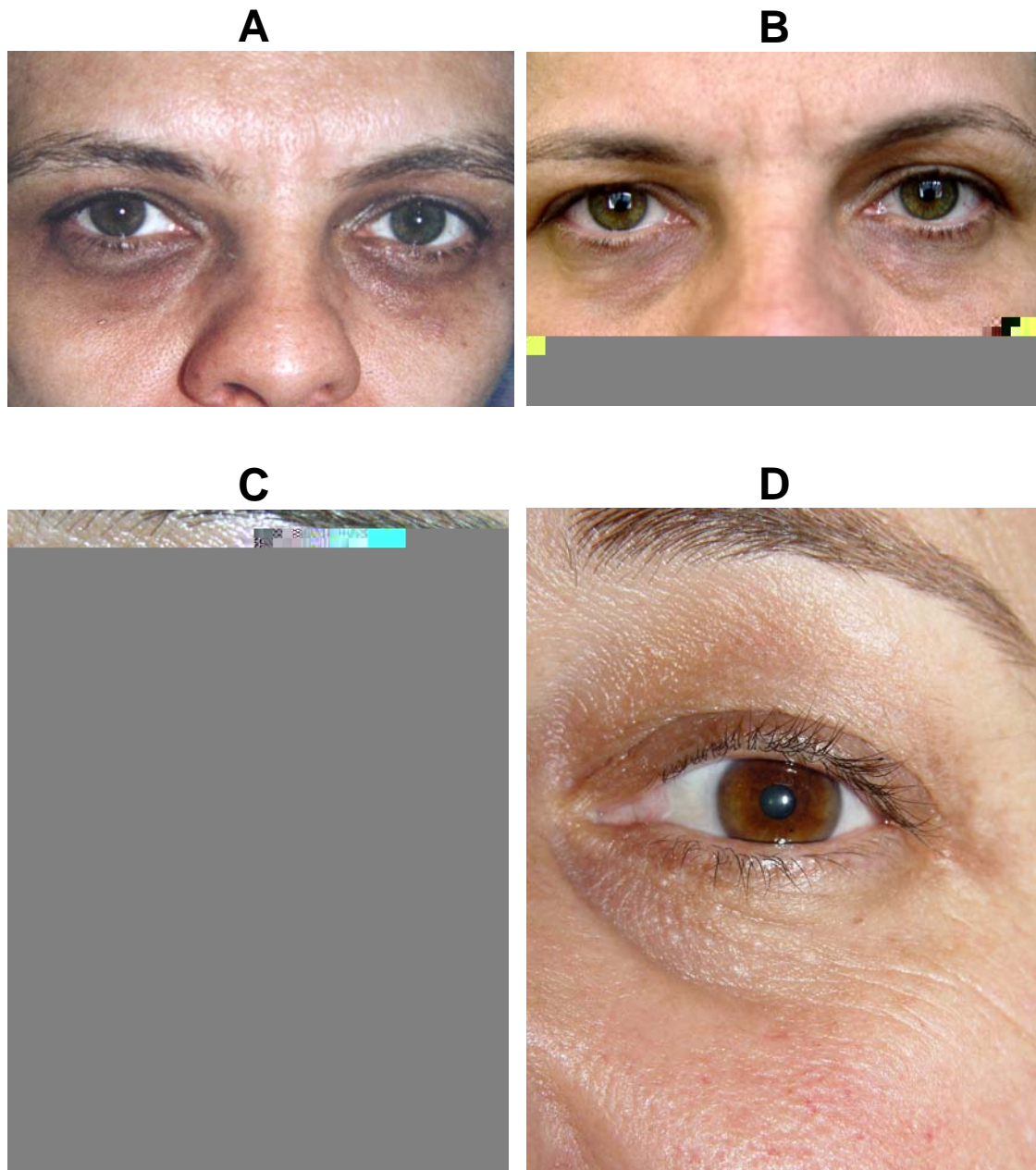
1	2	3	4	5	6	7
83,34%	75,00%	58,34%	50,00%	50,00%	83,34%	83,34%

1 a 7 = observadores

#### 4.1.2. Seguimento clínico um ano após o término do tratamento

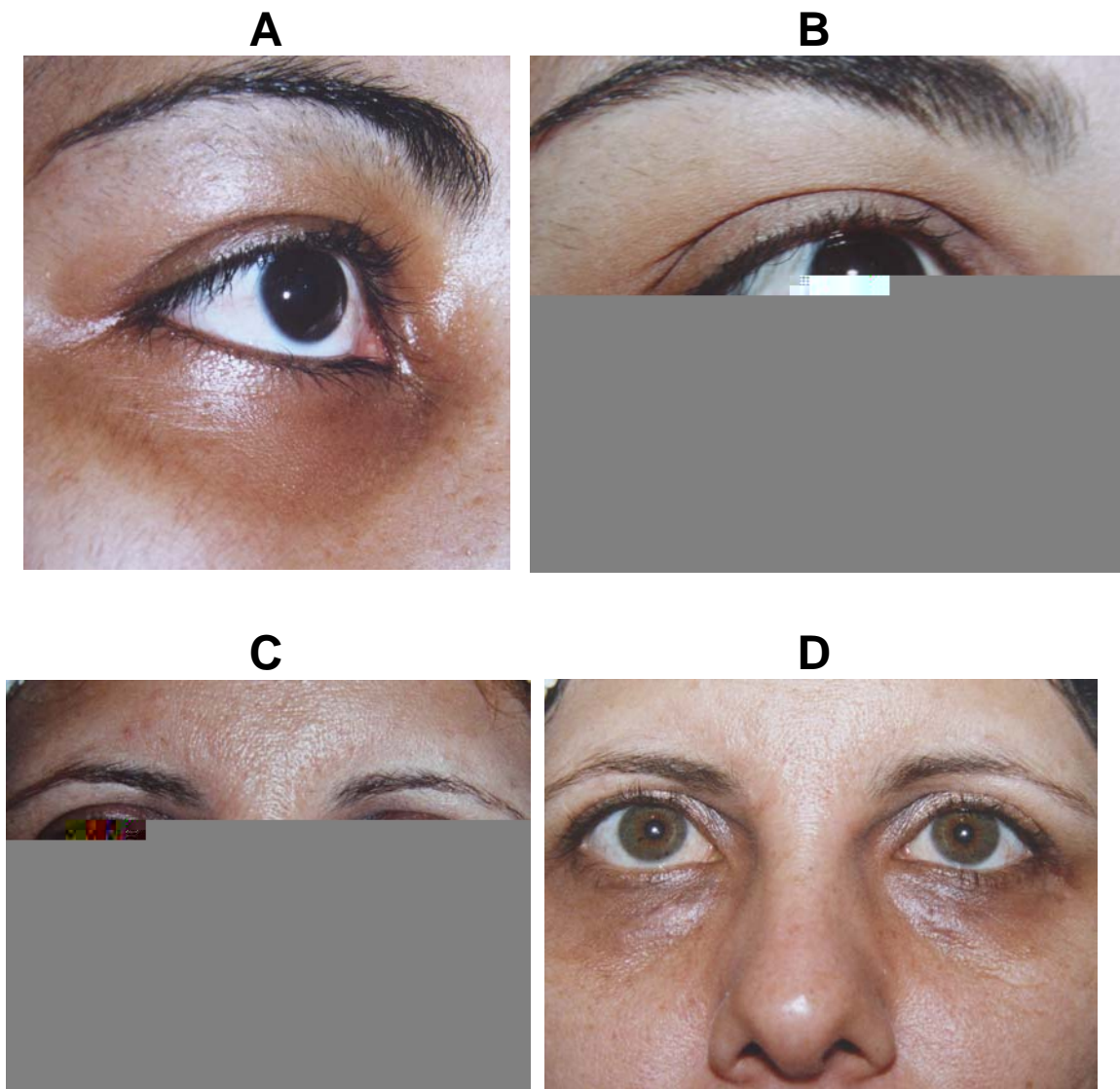
Dos 12 indivíduos participantes deste estudo, nove compareceram e três não compareceram à avaliação após um ano do término do tratamento. Dos que compareceram, todos apresentavam manutenção da melhora (clareamento e/ou diminuição do raio de hiperpigmentação) da pele das pálpebras inferiores. Em alguns deles, foi possível observar uma melhora mais evidente, comparando-se com o resultado de um mês após o final do tratamento. Isso foi observado na terceira fotografia, aquela da extrema direita, no painel apresentado aos sete observadores.

As **figuras 6 e 7** mostram a região orbital dos casos 2, 3, 6 e 1 antes e após o tratamento.



**Figura 6** – Região orbital. **Caso 2:** **A** – pré-tratamento, **B** – 2 anos após o tratamento. **Caso 3:** **C** – pré-tratamento, **D** – 20 meses após o tratamento.





**Figura 7** – Região orbital. **Caso 6:** **A** – Pré-tratamento, **B** – 1 ano após o tratamento. **Caso 1:** **C** – Pré-tratamento, **D** – 2 meses após o tratamento.

#### 4.1.3. Análise de concordância (com utilização do coeficiente Kappa) para a avaliação clínica através das fotografias

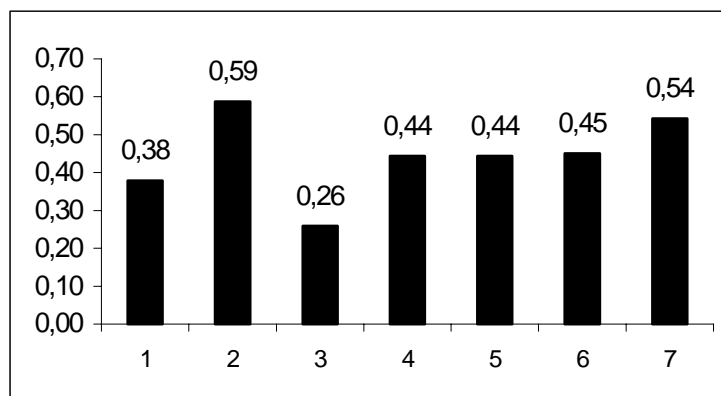
Os sete observadores foram combinados em pares (o que permitiu a formação de 21 pares). Os coeficientes Kappa foram calculados para medir a concordância na avaliação clínica através de fotografias. A taxa geral de concordância das 21 combinações variou entre 100% (obs 4 x obs 5; obs 6 x obs 7) e 54% (obs 1 x obs 3; obs 3 x obs 4; obs 3 x obs 5). Os coeficientes Kappa variaram entre  $K=1,00$  (obs 4 x obs 5; obs 6 x obs 7) e  $K = 0,06$  (obs 1 x obs 3) (**tabela 4**). A média dos coeficientes Kappa foi  $K_m=0,46$ , significando um bom nível de reprodutibilidade <sup>(63)</sup>.

O desempenho de cada observador nos resultados obtidos foi analisado a partir dos coeficientes Kappa dos pares em que o observador estava incluído. Cada observador participou de sete pares de combinações e as médias dos índices Kappa ( $K_m$ ) de cada observador em relação aos demais estão descritas no **gráfico 2**. As médias variam de  $K_m = 0,26$  (obs 3) a  $K_m = 0,59$  (obs 2).

**Tabela 4** - Estimativa e intervalo de confiança de 95% para o coeficiente Kappa (K) (IC 95%); taxa geral de concordância [%] entre observadores e valores médios para K e para taxa geral de concordância [%] entre os observadores

Observadores		TGC (%)	Kappa	IC 95%	
1	2	92	0.75	0.29	1.

**Gráfico 2-** Médias dos índices Kappa ( $K_m$ ) de cada observador em relação aos demais



1 a 7- Observadores

0,00 – 0,70 - média dos índices Kappa de cada observador

## 4.2. EFEITOS COLATERAIS

### 4.2.1. Análise dos efeitos colaterais imediatos

#### 4.2.1.1. Presença de desconforto durante as sessões

Essa avaliação foi subjetiva. Dentro do grupo de 12 indivíduos, dois (16,67%) apresentaram desconforto intenso ou moderado durante as sessões a que foram submetidos; um indivíduo apresentou, em todas as sessões, desconforto leve (8,33%); três indivíduos apresentaram, em todas as sessões, desconforto moderado (25%); outros seis indivíduos (50%) classificaram o desconforto como leve ou moderado.

#### **4.2.1.2. Presença de eritema nas pálpebras inferiores imediatamente após as sessões**

A intensidade de eritema foi classificada em uma escala de 1 a 4+/4+. Dos 12 indivíduos, quatro (33,33%) apresentaram eritema 1 ou 2+/4+; um (8,33%) apresentou eritema 1 ou 2 ou 3+/4+; três (25%) apresentaram 2+/4+ e quatro (33,33%) apresentaram 2 ou 3+/4+.

#### **4.2.1.3. Presença de edema nas pálpebras inferiores imediatamente após as sessões**

A intensidade de edema foi classificada em uma escala de 1 a 4+/4+. Dos 12 indivíduos, quatro (33,33%) apresentaram edema 1+/4+ em todas as sessões; cinco (41,67%) apresentaram edema 1 ou 2+/4+; um apresentou 1 (8,33%) ou 3+/4+ e dois (16,67%) apresentaram 2 ou 3+/4+.

#### **4.2.1.4. Presença de alteração da cor da pele imediatamente após as sessões ou outros efeitos colaterais**

Todos os indivíduos apresentaram, na pele palpebral inferior, cor arroxeadada ou acinzentada após a aplicação de LPAE, com formação posterior de crostas (**figuras 8A e 8B**), enquanto dois indivíduos (16,67%) apresentaram episódios isolados (após uma das sessões) de epidermólise cutânea (**figura 8C**). Um indivíduo apresentou, na pálpebra inferior esquerda, uma lesão de milium após a última sessão a que foi submetido.

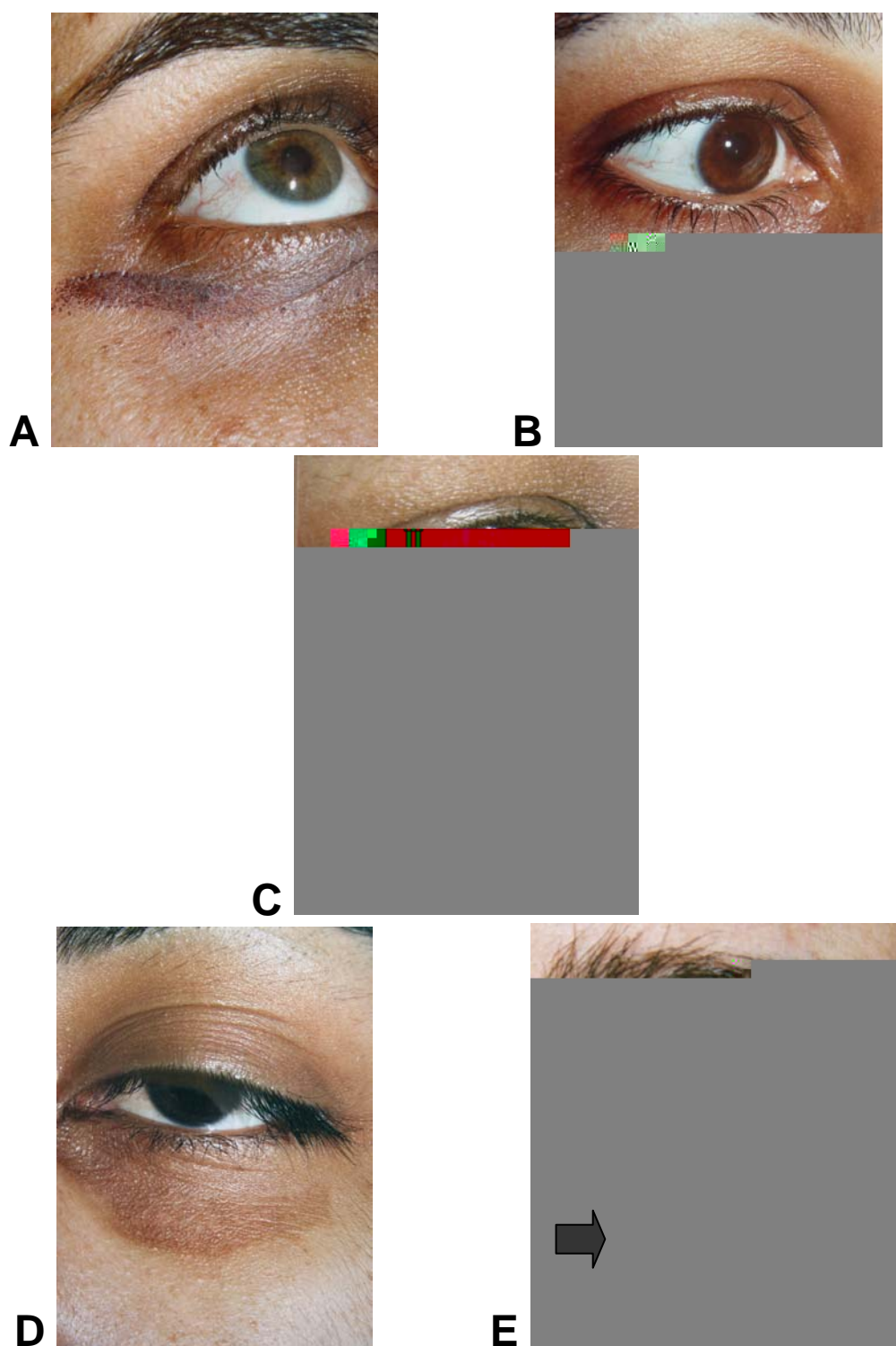
## 4.2.2. Análise dos efeitos colaterais tardios

### 4.2.2.1. Hiperchromia

Dos 12 indivíduos participantes deste estudo, 100 % apresentaram pelo menos uma vez, em algum momento, hiperchromia pós - inflamatória na pele palpebral inferior, após a aplicação da LPAE, em alguns casos no formato do filtro acoplado à ponteira do aparelho (**figura 8D**). Tal efeito desapareceu em 91,7% (11/12) dos indivíduos. A mediana da duração desse efeito colateral (período entre o seu aparecimento e desaparecimento total) foi de 6,7 meses (mínimo de 1,86 e máximo de 14,6 meses). Em um dos 12 indivíduos (8,3%), a hiperchromia não havia desaparecido completamente até o último contato, 6,13 meses após o término do tratamento, apesar de ter havido uma importante atenuação da mesma.

### 4.2.2.2. Hipocromia

Dos 12 indivíduos, sete apresentaram em algum momento do estudo, hipocromia da pele palpebral inferior (58,33%) (**figura 8E**). Desses sete indivíduos, quatro (57,1%) apresentaram desaparecimento do efeito em questão ao longo do tempo de acompanhamento e a mediana da duração foi de 7,11 meses (mínimo de 2,56 e máximo de 14,33 meses). Em três indivíduos, a hipocromia, apesar de se ter atenuado, não havia desaparecido completamente até o último contato (14,2; 5 e 11,2 meses), tendo duração mediana de 11,2 meses.



**Figura 8 – Efeitos colaterais - A e B – Crostas. C – Epidermólise. D – Hiperpigmentação pós-inflamatória no formato do filtro. E – Hipocromia**

#### **4.2.2.3. Cicatriz cutânea**

Dos 12 participantes, sete apresentaram discreta cicatriz apenas na pálpebra inferior esquerda, onde foram realizadas as biopsias pré e pós-tratamento.

### **4.3. ANÁLISE HISTOLÓGICA**

#### **4.3.1. Hematoxilina – Eosina**

A epiderme se apresentou sem alterações nos cortes examinados. A derme apresentou um discreto infiltrado inflamatório linfo-histiocitário perivascular, em alguns cortes de pálpebra inferior e região pré-auricular, sem outras alterações. Os vasos não foram examinados já que a anestesia da região foi associada ao uso de vasoconstritores, o que dificulta a análise de possível dilatação vascular.

#### **4.3.2. Coloração de Perls**

A análise da coloração de Perls, para verificar a presença de hemossiderina na derme se mostrou negativa em 100% dos fragmentos de pele da região pré-auricular. Nos 12 fragmentos de pele da pálpebra inferior esquerda, antes do tratamento havia presença de raros macrófagos contendo grânulos de hemossiderina no citoplasma em dois casos (16,67%).



Após o tratamento, a coloração de Perls foi negativa em 100 % dos casos, nos fragmentos de pele de pálpebra inferior esquerda.

#### **4.4. ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA**

##### **4.4.1. Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimacrófagos humanos tipo CD - 68**

A marcação dos fragmentos de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento e de pele pré-auricular esquerda com o anticorpo monoclonal antimacrófagos humanos tipo CD - 68, foi positiva em 100% dos casos, na derme. Na epiderme, a marcação foi negativa em 100% dos casos (**figura 4B** - item “Casuística e Métodos”).

##### **4.4.2. Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais antimelanócitos humanos tipo Melan-A**

A marcação dos fragmentos de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento, e pele pré - auricular esquerda, com o anticorpo monoclonal antimelanócitos humanos tipo Melan-A, foi negativa em 100% dos casos, na derme. Na epiderme, a marcação foi positiva em 100% dos casos examinados (**figura 4C** - item “Casuística e Métodos”).

#### 4.5- ANÁLISE COMPARATIVA DA QUANTIFICAÇÃO DE MELANINA

##### 4.5.1. Epiderme de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento

A análise morfométrica para a quantificação de melanina por área (em micrômetros quadrados) na epiderme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, mostrou uma mediana de 0,045 (min = 0,011, máx = 0,147). Após o tratamento, a mediana dos valores de área de melanina foi de 0,021 (min = 0,005, máx = 0,079). O p foi de 0,025; portanto, estatisticamente significativo (menor que 0,05) (**Tabela 5**).

**Tabela 5** - Quantificação de melanina (por área) na epiderme da pele palpebral inferior esquerda, antes e após o tratamento, para cada caso estudado

EPIDERME			
casos	pálpebra inferior esquerda pré-tratamento ( $\mu^2$ )	pálpebra inferior esquerda após o tratamento ( $\mu^2$ )	diferença ( $\mu^2$ )
CASO 1	0,0264	0,0056	-0,0208
CASO 2	0,0161	0,0129	-0,0032
CASO 3	0,0565	0,0093	-0,0472
CASO 4	0,0644	0,029	-0,0354
CASO 5	0,0329	0,0129	-0,02
CASO 6	0,1469	0,0787	
CASO 7	0,1213	0,0389	-0,0824
CASO 8	0,0307	0,0469	0,0162

#### 4.5.2. Epiderme de pele palpebral inferior esquerda antes do tratamento em relação à epiderme de pele pré-auricular esquerda

A análise morfométrica para a quantificação de melanina, por área, na epiderme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, mostrou uma mediana de 0,0565 (min = 0,0161, máx = 0,1469). Na pele da região pré-auricular esquerda, a mediana dos valores de área de melanina foi de 0,0376 (min = 0,0050, máx = 0,1108). O p foi de 0,045; portanto, estatisticamente significativo (menor que 0,05) (**tabela 6**). A lâmina referente ao fragmento de pele pré-auricular do caso 12 foi imprópria para análise (mesmo após refeita), por problemas de coloração com a prata coloidal e, portanto, o caso 12 foi excluído da avaliação comparativa de epiderme da pálpebra inferior, pré-tratamento, em relação à pele pré-auricular.

**Tabela 6 -** Quantificação de melanina (por área) da epiderme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, em relação à epiderme da pele pré-auricular esquerda, para cada caso estudado

EPIDERME			
casos	pálpebra inferior esquerda pré-tratamento ( $\mu^2$ )	pré -auricular ( $\mu^2$ )	diferença
CASO 1	0,02289	0,02147	-0,00142
CASO 2	0,0161	0,0206	0,0045
CASO 3	0,0565	0,0397	-0,0168
CASO 4	0,0644	0,0385	-0,0259
CASO 5	0,02287	0,00532	-0,01755
CASO 6	0,1469	0,096	-0,0509
CASO 7	0,1213	0,1018	-0,0195
CASO 8	0,0307	0,0148	-0,0159
CASO 9	0,1188	0,0376	-0,0812
CASO 10	0,0209	0,005	-0,0159
CASO 11	0,091	0,1108	0,0198

#### 4.5.3. Derme de pele palpebral inferior esquerda antes e após o tratamento

A análise morfométrica para a quantificação de melanina, por área, na derme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, mostrou uma mediana de 0,028 (min = 0,003, máx = 0,263). Na pele da mesma região, após o tratamento, a mediana dos valores de área de melanina foi de 0,013 (min = 0,005, máx = 0,036). O p foi de 0,025; portanto, estatisticamente significativo (menor que 0,05) (**tabela 7**).

**Tabela 7-** Quantificação de melanina (por área) na derme da pele palpebral inferior esquerda, antes e após o tratamento, para cada caso estudado

DERME			
casos	pálpebra inferior esquerda pré-tratamento ( $\mu^2$ )	pálpebra inferior esquerda pós-tratamento ( $\mu^2$ )	diferença ( $\mu^2$ )
CASO 1	0,023	0,007	-0,016
CASO 2	0,024	0,020	-0,004
CASO 3	0,023	0,005	-0,018
CASO 4	0,045	0,036	-0,008
CASO 5	0,003	0,007	0,004
CASO 6	0,022	0,031	0,009
CASO 7	0,056	0,009	-0,047
CASO 8	0,032	0,015	-0,017
CASO 9	0,059	0,011	-0,049
CASO 10	0,004	0,010	0,007
CASO 11	0,033	0,022	-0,011
CASO 12	0,263	0,015	-0,248

#### 4.5.4. Derme de pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, em relação à derme de pele pré-auricular esquerda

A análise morfométrica para a quantificação de melanina, por área, na derme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, mostrou uma mediana de 0,0241 (min = 0,0005, máx = 0,0594). Na pele da região pré - auricular esquerda, a mediana dos valores de área de melanina foi de 0,0074 (min = 0,0007, máx = 0,021). O p foi de 0.007; portanto, estatisticamente significativo (menor que 0,05)(**tabela 8**).

**Tabela 8** - Quantificação de melanina (por área) da derme da pele palpebral inferior esquerda, antes do tratamento, em relação à derme da pele pré-auricular esquerda, para cada caso estudado

DERME			
casos	pálpebra inferior esquerda pré-tratamento ( $\mu^2$ )	pré-auricular ( $\mu^2$ )	diferença
CASO 1	0,0229	0,0069	-0,016
CASO 2	0,0238	0,01	-0,0138
CASO 3	0,0231	0,0213	-0,0018
CASO 4	0,0446	0,0133	-0,0313
CASO 5	0,0005	0,0007	0,0002
CASO 6	0,0221	0,0079	-0,0142
CASO 7	0,0556	0,008	-0,0476
CASO 8	0,0321	0,0067	-0,0254
CASO 9	0,0594	0,0029	-0,0565
CASO 10	0,0009	0,0037	0,0028
CASO 11	0,0325	0,0121	-0,0204
CASO 12	0,0245	0,0065	-0,018

## **5. DISCUSSÃO**

---

O mecanismo de ação da LPAE é o da fototermólise seletiva, onde a luz é absorvida por um alvo específico e promove o aquecimento dele, gerando temperaturas suficientemente altas (maiores que 80°C) para lhe causar dano térmico específico, sem comprometer estruturas adjacentes <sup>(35)</sup>. Em contraste com os diversos tipos de *laser*, a LPAE é uma luz não coerente, com emissão de amplo espectro de comprimentos de onda, entre 515 -1200 nm. O manejo requer o uso de filtros que bloqueiam a passagem de comprimentos de onda de valores menores que o designado pelo filtro <sup>(41)</sup>. A utilização dos filtros permite a escolha dos comprimentos de onda desejados, levando em consideração o coeficiente de absorção do tecido alvo, o fototipo do paciente e a profundidade do tecido que se deseja atingir (comprimentos de onda maiores penetram mais profundamente na pele) <sup>(64)</sup>.

A epiderme funciona como uma "parede de melanina" que atenua a energia absorvendo parte dela. A energia absorvida pela epiderme gerará calor que, quando excessivo, pode ocasionar queimaduras com discromias e cicatrizes posteriores. Quanto mais escura a pele, maior a absorção da luz pela epiderme <sup>(41)</sup>. Fototipos mais altos requerem maior proteção epidérmica, com utilização de filtros mais altos (que só permitem a passagem de comprimentos de onda maiores) e resfriamento da epiderme. A utilização de pulsos múltiplos permite o resfriamento da epiderme entre os pulsos <sup>(47)</sup>, protegendo-a. Além disso, a utilização do gel gelado entre a ponteira e a



pele possibilita a transferência de calor da epiderme ao gel resfriando-a, além de melhorar o acoplamento da luz à pele <sup>(42,52,64)</sup>. O resfriamento da epiderme permite o uso de energias mais altas, com maior eficácia do tratamento, menor incômodo e menor risco de seqüelas para o paciente <sup>(35,41)</sup>.

Comprimentos de onda mais longos são menos absorvidos pela melanina, protegendo indivíduos bronzeados ou de fototipos mais altos de efeitos colaterais, como: eritema intenso, bolhas e formação de crostas <sup>(65)</sup>. Além do fototipo, outros fatores também podem contribuir para uma maior prevalência de efeitos colaterais: tonalidade da pele, espessura da derme, grau de sensibilidade e número de glândulas sebáceas nas diferentes regiões da pele <sup>(66)</sup>.

Neste estudo, foram utilizados filtros de 515, 550 ou 570 nm; fluências de 36 a 37 J/cm<sup>2</sup>; pulsos duplos de 2,6 e 4,0 ms, com intervalo entre os pulsos de 20 ms. Os filtros mais baixos (515 nm e 550 nm) foram usados para o tratamento dos indivíduos com fototipo 2, enquanto o mais alto (570 nm), para os indivíduos com fototipos 3 ou 4. Comprimentos de onda entre 500 e 1000 nm penetram entre 300 e 1600 micrômetros na pele (**tabela 9**)<sup>(36)</sup>. A espessura da pele palpebral foi medida neste estudo e mostrou valores de aproximadamente 1 milímetro (considerando epiderme e derme, apenas). Isso significa que a luz, nos comprimentos de onda utilizados neste estudo (a partir de 515, 550 ou 570, até 1200 nm), foi capaz de penetrar na derme da pálpebra inferior.

**Tabela 9** – Penetração aproximada do feixe de luz em pele caucasiana. Em azul estão assinalados os comprimentos de onda aproximados, correspondentes aos utilizados no presente estudo, emitidos pela LPAE, e suas penetrações no tecido

Penetração aproximada do feixe de luz em pele caucasiana		
Comprimento de onda ( $\eta\text{m}$ )	Penetração ( $\mu\text{m}$ )	Cromóforo
193 (Excimer)	0,5	proteína
355 (Tripled Neodymium)	80	melanina
488 (Argon - ion)	200	melanina/Oxy-Hb
<b>514 (Argon - ion, dye)</b>	<b>300</b>	<b>melanina/Oxy-Hb</b>
<b>532 (Doubled Neodymium)</b>	<b>400</b>	<b>melanina/Oxy-Hb</b>
<b>577 (Pulsed dye)</b>	<b>400</b>	<b>melanina/Oxy-Hb</b>
<b>585 (Pulsed dye)</b>	<b>600</b>	<b>melanina/Oxy-Hb</b>
<b>694 (Ruby)</b>	<b>1200</b>	<b>melanina</b>
<b>760 (Alexandrite)</b>	<b>1300</b>	<b>melanina</b>
<b>1060 (Nd:Yag)</b>	<b>1600</b>	<b>melanina/Oxy-Hb</b>
2100 (Holmium)	200	água
2940 (Erbium)	1	água
10.6000 (CO <sub>2</sub> )	20	água

(Goldman MP, Fitzpatrick RE. *Cutaneous laser surgery - the art of selective photothermolysis*. Boston: Mosby; 1994. p.5)

A energia, os pulsos duplos com as durações indicadas e o intervalo entre os pulsos foram utilizados levando-se em consideração outras publicações que apontam melhores resultados do tratamento com esses parâmetros em relação a outros parâmetros testados <sup>(42,67)</sup>.

Para o tratamento de lesões pigmentadas, é ideal a utilização de pulsos muito curtos, da ordem de nanossegundos, que causam um aumento muito intenso no gradiente de temperatura, em torno de 10.000.000 graus Celsius por segundo, promovendo lise celular e nuclear de melanócitos, com explosão de partículas de pigmento. Na seqüência, tais partículas serão

digeridas e removidas pelos macrófagos dérmicos ou drenadas pela circulação linfática. Esse é o mecanismo de ação do *laser* Q-Switched, como o de ruby, Nd: Yag e alexandrite, para o tratamento das lesões melanocíticas. Os pulsos em nanossegundos são capazes de atingir, seletivamente, organelas celulares; pulsos em microssegundos danificam a célula; pulsos em milissegundos danificam estruturas pequenas, maiores que a célula, como por exemplo, vasos sanguíneos <sup>(35)</sup>.

Os equipamentos de LPAE emitem pulsos da ordem de milissegundos. Os pulsos em milissegundos excedem o TRT do melanossoma mas, apesar disso, lesões melanocíticas podem ser tratadas com eficácia por esses aparelhos, que se têm mostrado eficazes para tal objetivo <sup>(45,50)</sup>. Isso provavelmente ocorre, pois equipamentos de LPAE emitem luz em diversos comprimentos de onda, a partir do comprimento designado pelo filtro utilizado, chegando a 1200 nm. Como a curva de absorção da melanina abrange ondas no espectro de 250 a 1200 nm, os melanossomas absorvem os vários comprimentos de onda emitidos e são destruídos pelo calor gerado. Outras estruturas da pele, extracelulares e intracelulares, adjacentes aos melanossomas, também absorvem os referidos comprimentos de onda contribuindo para a geração de calor <sup>(39)</sup>. A LPAE, por ser uma luz policromática, tem a energia distribuída em todos esses comprimentos de onda que chegam à pele (não se tratando de uma energia concentrada em uma só frequência, como no caso do *laser*). Isso faz com que o efeito térmico pela absorção da luz no tecido seja menos intenso, possibilitando que os efeitos colaterais também sejam menores. Foi o que

ocorreu no estudo de Cymbalista *et al.*, em 2002, baseado no tratamento de quatro pacientes do sexo feminino, portadoras de HClRO, com LPAE na pálpebra inferior esquerda e Q-switched ruby *laser* na pálpebra inferior direita. Embora ambos os lados tenham apresentado clareamento clínico evidente e, histologicamente, diminuição no número de macrófagos dérmicos contendo melanina, o lado direito (tratado com Q-switched ruby *laser*) mostrou edema muito mais intenso que o lado esquerdo e clareamento menos evidente <sup>(51)</sup>.

O laser emite altas energias, concentradas em uma única freqüência. O cromóforo alvo absorve pontualmente a luz no comprimento de onda emitido e esta é transformada em calor, destruindo-o. No entanto, há saturação na capacidade de absorção desse comprimento de onda específico e transformação de luz em calor. A partir de um determinado ponto, o incremento na energia fornecida não aumentará a destruição específica do tecido alvo e, sim, os efeitos colaterais por dissipação do calor.

A LPAE apresenta algumas vantagens, como a possibilidade de se fazer a seleção dos parâmetros a serem utilizados, tornando-a versátil e permitindo o tratamento de diferentes tipos de lesões de pele e diferentes fototipos, com alta seletividade e maior segurança <sup>(64)</sup>. São possíveis a remoção de pêlos <sup>(68)</sup>, o tratamento de lesões vasculares <sup>(64)</sup> e de lesões melanocíticas superficiais e profundas <sup>(44)</sup> e o rejuvenescimento cutâneo <sup>(42,69)</sup>. No entanto, pela própria diversidade de parâmetros possíveis, é necessária grande experiência para a utilização dos equipamentos de LPAE com segurança e eficácia <sup>(67,70)</sup>.

Outra vantagem dos aparelhos que emitem LPAE, em comparação com o *laser*, é o fato de terem ponteiros grandes que permitem o tratamento de áreas maiores em tempo menor, além de haver maior penetração e menor dispersão da luz <sup>(42,64)</sup>. A distância entre a ponteira e a pele também influencia a profundidade de penetração da luz. Quanto maior a distância, menor a penetração da luz <sup>(37)</sup>. Além disso, a LPAE é uma alternativa viável em relação ao *laser*, pois pode ter um custo menor.

No presente estudo, os dados resultantes da avaliação clínica, através de fotografias pelos sete observadores, mostraram que os observadores 1, 6 e 7 apontaram para melhora em 83,3% dos casos; os observadores 2 e 3, em 75% e 58,3% respectivamente; os observadores 4 e 5, em 50% dos casos. A análise estatística dessas diferenças apresentou um resultado estatisticamente significativo (teste de Cochran) <sup>(60)</sup>, com  $p=0.024$ .

A melhora significa clareamento da região palpebral inferior e/ ou diminuição do raio de hiperchromia. Os casos que, segundo os observadores, não melhoraram foram classificados como "inalterados" e nenhum caso foi classificado como "piora".

Com o objetivo de se verificar a reprodutibilidade do método de avaliação fotográfica, com sete observadores especialistas, realizou-se um teste para avaliar a taxa de concordância entre os observadores. O índice Kappa é um coeficiente que exclui a casualidade ao calcular a concordância entre observações pareadas e possibilita a qualificação do grau de concordância e a comparação com coeficientes de outros estudos <sup>(71,72)</sup>. As

taxas gerais de concordância foram apresentadas apenas com objetivos descritivos, não tendo sido utilizadas para medir a concordância entre observadores (tabela 4 do item "resultados"). Com o objetivo de se obter uma idéia geral da concordância entre todos os observadores, adotou-se o princípio da média dos índices, instrumento aplicado por outros autores em estudos citados na literatura médica <sup>(73,74)</sup>. Neste estudo, a média dos coeficientes Kappa foi  $K_m=0.46$ , traduzindo um bom nível de reprodutibilidade <sup>(63)</sup>.

Em relação ao seguimento clínico um ano após o término do tratamento, dos 12 indivíduos participantes deste estudo, nove compareceram e três não compareceram à avaliação no período em questão. Todos os indivíduos que compareceram apresentavam ausência de recidiva da hiperpigmentação da região orbital. Em alguns deles, foi possível observar uma melhora mais evidente em comparação com o resultado de um mês após o final do tratamento. Isso foi observado na fotografia da extrema direita, apresentada nos painéis analisados pelos sete observadores. Parece, portanto, que alguns casos necessitam de um tempo maior de observação após o tratamento para que haja o clareamento da região orbital, ou mesmo para que a hiperpigmentação pós-inflamatória desapareça e, conseqüentemente, a melhora se torne mais visível.

A análise morfométrica, conhecida por sua reprodutibilidade e objetividade, mostrou-se útil neste estudo para a obtenção de dados precisos referentes à quantificação de melanina por área, nos campos selecionados, na derme e na epiderme, antes e após o tratamento e,

comparativamente, de pele palpebral inferior com pele pré-auricular, antes do tratamento <sup>(57,58,59,75)</sup>.

A análise morfométrica comparativa da quantidade de melanina por área, na pele da pálpebra inferior antes e após o tratamento, mostrou diminuição da mesma após o tratamento, tanto na epiderme quanto na derme. Essa diminuição foi estatisticamente significativa, apresentando  $p=0,025$  (menor que 0,05%), demonstrando a eficácia do tratamento para a redução do pigmento melânico. Tais dados concordam com os resultados da avaliação clínica através de fotografias, realizada neste estudo.

Apesar da redução observada da quantidade de melanina por área, tanto na epiderme quanto na derme, na pele da pálpebra inferior após o tratamento, clinicamente, segundo os observadores, nem todos os pacientes apresentaram, através da análise fotográfica, clareamento dessa região, e eles foram, então, classificados como “inalterados”. Talvez a discordância clínico-histológica, nesses casos, se explique pelo fato de que a diminuição de melanina provocada pela aplicação da LPAE não tenha sido suficiente para haver diferença clínica. Outra possibilidade é a de que, no local onde foi feita a biópsia pós-tratamento, tenha havido uma redução maior da quantidade de melanina em relação ao restante da pele da pálpebra inferior. Alternativamente, no momento da avaliação fotográfica, ainda havia hiperpigmentação pós-inflamatória, o que mascarou a melhora causada pelo tratamento. Talvez essa hiperpigmentação não tenha sido tão evidente no sítio da biópsia pós-tratamento, explicando a discordância clínico-q(sA6(893 38

maior que um ano pudesse tornar a melhora clínica mais evidente nestes casos também.

A comparação da quantidade de melanina por área, na pele pré-auricular (controle) em relação à pele da pálpebra inferior antes do tratamento, considerando-se tanto a epiderme como a derme, mostrou maior quantidade de melanina na pálpebra inferior antes do tratamento, com diferença estatisticamente significativa, com  $p$  menor que 0,05 (0,045 para epiderme e 0,007 para derme), confirmando a observação clínica de que a pele palpebral inferior apresenta mais pigmento melânico que a pele pré-auricular.

Em relação à análise estatística, foi utilizado o teste não-paramétrico dos postos assinalados de Wilcoxon para a análise da diferença de quantidade de melanina por área na pele da pálpebra inferior, antes e após o tratamento, bem como da pele pré-auricular em comparação com a da pálpebra inferior antes do tratamento, como pele de controle. Não foi utilizado um teste T pareado, pois a amostra ( $n=12$ ) é reduzida demais e não existe, dessa forma, um alto poder de discriminação para se fazer um teste de normalidade que verifique a suposição do teste T pareado. O teste de Wilcoxon já foi utilizado na literatura para análise estatística de avaliação de lesões melanocíticas benignas tratadas com LPAE <sup>(45)</sup>.

A análise histológica com Hematoxilina-Eosina mostrou apenas um discreto infiltrado inflamatório linfo-histiocitário perivascular dérmico, em alguns cortes de pálpebra inferior e região pré-auricular, sem outras alterações na epiderme ou derme. Os vasos dérmicos não foram



examinados, já que a anestesia da região foi associada ao uso de vasoconstritores, o que afeta a análise de possível dilatação vascular. Graziosi, em 2000, realizou um estudo histológico da HCIRO e concluiu que há congestão de vasos subdérmicos na pele palpebral inferior dos indivíduos afetados, podendo tal congestão ter participação na intensidade da HCIRO <sup>(1)</sup>. No entanto, não há na literatura, nenhum estudo que quantifique os vasos dérmicos em indivíduos portadores de HCIRO.

A coloração de Perls, para detecção de hemossiderina, foi negativa em todos os fragmentos de pele, tanto palpebral inferior como pré-auricular, antes e após o tratamento, com exceção de dois casos na região palpebral inferior antes do tratamento, nos quais foram encontrados raros macrófagos dérmicos contendo hemossiderina. Nesses casos, a quantidade de células contendo grânulos de hemossiderina em seu citoplasma (raras), não é suficiente para explicar a exuberância clínica de escurecimento dessa região antes do tratamento. Provavelmente, tal achado se deve a algum processo anterior ao início do estudo, podendo ter ocorrido extravasamento de hemácias dos vasos locais. Esse processo parece ter-se resolvido pois, após o tratamento, 100% dos fragmentos de pele analisados mostraram ausência de hemossiderina pela coloração de Perls. Trabalhos anteriores da literatura verificaram a ausência de hemossiderina na pele palpebral inferior em indivíduos portadores de HCIRO <sup>(1,9)</sup>.

A análise imunohistoquímica com marcação dos fragmentos de pele palpebral inferior esquerda, antes e após o tratamento, e pele pré-auricular esquerda com o anticorpo monoclonal antimacrófagos humanos tipo CD-68

mostrou positividade, na derme, em 100% dos casos, indicando a presença de macrófagos dérmicos. A presença de macrófagos dérmicos também na pele da região pré-auricular é devida, provavelmente, ao fato de se tratar de uma região exposta ao sol, pois se sabe que peles de regiões fotoexpostas contêm macrófagos na derme <sup>(76,77)</sup>.

A marcação dos fragmentos de pele palpebral inferior esquerda, antes e após o tratamento, e pele pré-auricular esquerda com o anticorpo monoclonal antimelanócitos humanos do tipo Melan-A mostrou negatividade em 100% dos casos, na derme, indicando a ausência destes. Tal fato nos permite concluir que a melanina presente na derme dos fragmentos de pele estudados está contida no interior de macrófagos, descartando-se a hipótese de que a HCIRO decorra da presença de melanócitos dérmicos.

Efeitos colaterais, como edema e eritema da pele palpebral inferior, observados imediatamente após a aplicação da LPAE, são devidos à reação inflamatória da pele, provocada pela interação da luz com o tecido, com liberação de calor <sup>(37)</sup>. Esses efeitos duraram de 24 a 72 horas e desapareceram completamente. Esses achados concordam com aqueles encontrados na literatura, onde a LPAE é usada para tratar lesões melanocíticas diversas, como lentigos, efélides, hiperpigmentação pós-inflamatória, nevos, poiquilodermia de Civatte <sup>(42,49,53,65)</sup>. É referida na literatura, além de edema e eritema, a possibilidade de vesiculação em 24 - 36 horas após a sessão, com posterior formação de crostas que desaparecem no período de 7 a 14 dias <sup>(37)</sup>. No presente estudo, alguns indivíduos apresentaram crostas nas pálpebras inferiores, as quais

apareceram 24 horas após a sessão e duraram aproximadamente uma semana. Como sua duração foi menor que o tempo de *turn over* da epiderme (quatro semanas), provavelmente foram produzidas por queimadura superficial<sup>(50)</sup>. É freqüente, na literatura, a referência à formação de crostas após a aplicação da LPAE<sup>(42,49)</sup>.

A variação nos graus de eritema e edema em um mesmo indivíduo, nas diferentes sessões a que foi submetido, provavelmente se deve à eventual superposição de disparos de LPAE em uma mesma região da pálpebra inferior, provocando uma maior reação inflamatória. Outra possibilidade é de que tenham ocorrido variações na quantidade de melanina da pele da pálpebra inferior, seja pelo clareamento ou por hiperpigmentação pós-inflamatória decorrentes de sessões anteriores.

Dois indivíduos apresentaram ruptura da integridade epidérmica com a aplicação da LPAE. Tal reação só ocorreu nos que apresentavam, no momento da aplicação da LPAE, intensa hiperpigmentação pós-inflamatória decorrente de sessões anteriores. Essa epidermólise ocorreu no local onde havia aparecido a hiperpigmentação pós-inflamatória, tendo havido, portanto, acúmulo de pigmento melânico na derme. O coeficiente de absorção de energia depende da concentração do cromóforo alvo e, maior quantidade de melanina promove maior absorção da luz gerando maior efeito térmico local<sup>(39,43,78)</sup>. Nessa região houve maior absorção de luz e, conseqüentemente, reação inflamatória mais intensa, a ponto de causar a epidermólise, que desapareceu sem deixar seqüelas<sup>(50)</sup>. Outros autores já relataram aparecimento de bolhas, eritema prolongado (48 horas) e

epidermólise após a aplicação da LPAE para lesões pigmentadas da pele, os quais desapareceram sem seqüelas permanentes <sup>(45,52)</sup>.

A alteração de cor da pele (acinzentada, arroxeadada) logo após a aplicação da LPAE decorreu da reação inflamatória pela absorção tecidual da luz e geração de calor (queimadura superficial). Durou apenas de três a quatro dias, retornando a pele, em seguida, à sua cor normal.

O aparecimento de um milium na pálpebra inferior esquerda de um dos indivíduos, foi devido, provavelmente, a um defeito na repitelização onde se realizou a biopsia final após o tratamento.

Os graus de desconforto durante a aplicação da LPAE, predominantemente referidos pelos indivíduos, foram leve e moderado. O desconforto caracterizou-se por uma sensação de queimação local durante os disparos e durou cerca de trinta minutos, cessando completamente depois desse tempo. A sensação de queimação é freqüentemente referida na literatura <sup>(46,47)</sup>. Neste estudo, tais efeitos foram considerados toleráveis pelos indivíduos participantes e não impediram a continuidade do tratamento. Também não houve queixas sobre a presença de cicatriz na pálpebra inferior esquerda, decorrente das biopsias que foram feitas com punch de 2 mm e, portanto, geraram cicatrizes muito reduzidas, em formato linear e quase imperceptíveis ao exame clínico.

Em concordância com a literatura, ocorreu hipopigmentação e hiperpigmentação nas pálpebras inferiores <sup>(13,14,33)</sup>.

A incidência de hipocromia nas pálpebras inferiores foi de 58,33%. Dos sete indivíduos, quatro (57.1%) apresentaram desaparecimento desse efeito ao longo do tempo de acompanhamento, e a mediana de sua duração foi de 7,11 meses (mínimo de 2,56 e máximo de 14,33 meses). Em três indivíduos, a hipocromia, apesar de ter-se atenuado, não havia desaparecido completamente até o último contato (com duração mediana de 11,2 meses). A hipocromia tende a se resolver com o passar do tempo, pois a face é rica em anexos e eles são reservatórios de melanócitos. A hipocromia coincidiu com os locais onde foram realizadas as biópsias palpebrais e, provavelmente, se deve à presença de fibrose no local. Como essas cicatrizes apresentaram tamanho muito reduzido, a hipocromia residual foi muito discreta, clinicamente. Weiss *et al.* utilizaram a LPAE para tratar poiquilodermia de Civatte no pescoço e houve, como efeito colateral, a hipocromia com duração de dois anos <sup>(42)</sup>. Spicer e Goldberg, em 1996 <sup>(37)</sup>, ao tratarem lesões melanocíticas benignas com *laser* de ruby, referem como possível efeito colateral a hipocromia transitória com duração de dois a seis meses.

A mediana da duração da hiperpigmentação pós-inflamatória (que ocorreu em 100% dos casos, em algum momento do tratamento) foi de 6,7 meses. Em um dos 12 indivíduos (8,3%), cujo fototipo é 4, apesar da importante atenuação ocorrida, a hiperpigmentação pós-inflamatória não havia desaparecido completamente até o último contato, 6,13 meses após o término do tratamento.

Doses subletais de luz podem estimular a melanogênese <sup>(79,80)</sup>. Doses excessivas de luz também podem gerar hiperpigmentação mas, neste caso, por injúria tissular e hiperpigmentação pós- inflamatória <sup>(67)</sup>. Comprimentos de onda mais longos penetram mais profundamente na derme e podem estimular os melanócitos foliculares a repopularem e repigmentarem a epiderme após a irradiação. Provavelmente, a energia emitida chegue em doses subletais aos folículos após ser atenuada por camadas mais superficiais da pele <sup>(79)</sup>.

Neste estudo, os indivíduos com fototipos mais altos foram irradiados com comprimentos de onda maiores para se proteger mais a epiderme. É possível que isso tenha estimulado mais os melanócitos foliculares e causado a hiperpigmentação pós-inflamatória mais persistente. Esse fenômeno também ocorreu no estudo de Lupton e Alster em 2002<sup>(15)</sup>.

A irradiação causa incontinência pigmentar com passagem de melanossomas extracelulares da epiderme para a derme <sup>(80)</sup>. Sabe-se que a preparação prévia da pele com agentes despigmentantes, como hidroquinona associada ou não ao ácido retinóico ou glicólico, pode diminuir o risco de hiperpigmentação pós-inflamatória <sup>(19,34,81)</sup>. Neste estudo, não se solicitou aos participantes que utilizassem nenhum produto tópico antes do início do tratamento, o que talvez minimizasse esse efeito colateral.

Após a realização da biópsia, um mês após o término do tratamento, para os indivíduos que apresentaram hiperpigmentação pós-inflamatória, prescreveu-se solução contendo hidroquinona 2 a 4%, ácido retinóico 0,015 a 0,02%, hidrocortisona 0,5 a 1% para uso nas pálpebras inferiores e uso

contínuo de fotoprotetores, já que a exposição solar pode aumentar o risco de hiperpigmentação (47,67).

Na literatura, lesões pigmentadas, como melasma e hiperpigmentação pós inflamatória, não costumam responder bem ao tratamento com *laser* ou LPAE (41,47,81). Em relação ao melasma, a escassa resposta talvez seja devida à persistência dos mecanismos básicos que o originaram, como sol, hormônios e fatores genéticos. Taylor e Anderson, em 1994 (81), trataram oito pacientes (fototipos II-IV de Fitzpatrick) com Q-switched ruby *laser*, quatro com hiperpigmentação pós-inflamatória e quatro com melasma refratário a outras terapêuticas. Observaram piora em três dos quatro pacientes portadores de hiperpigmentação pós-inflamatória, e não alteração em um deles. Dos pacientes com melasma, dois não tiveram alteração com o tratamento, um apresentou hipopigmentação em confete, que durou um ano, e um apresentou piora do melasma. O exame histopatológico, realizado após dois meses do término do tratamento, mostrou aumento de macrófagos dérmicos, sem alteração da melanina epidérmica. Parte do pigmento parece ser liberado dos macrófagos dérmicos, que contêm melanina em seu interior e que são destruídos pelo *laser*. No entanto, macrófagos dérmicos podem também atravessar a lâmina basal, através de *gaps*, fagocitar melanina epidérmica e retornar à derme (evento não observado histologicamente, no presente estudo, após tratamento com LPAE). Outro mecanismo é a incontinência pigmentar com passagem de melanossomas extracelulares da epiderme para a derme. Clinicamente, os pacientes do referido estudo apresentavam uma diátese

que induziria à pigmentação pós-inflamatória e melasma, já que suas enfermidades se mostraram resistentes a múltiplos tratamentos anteriores ao *laser*. Essa diátese é pouco compreendida até o momento. Parece que qualquer intervenção provoca reação inflamatória que leva à hiperpigmentação pós-inflamatória.

Ao contrário, não foi o que se observou no presente estudo. Apesar de o pigmento se encontrar no interior dos macrófagos dérmicos, houve uma boa resposta ao tratamento com LPAE e tais resultados se mantiveram por pelo menos um ano após o tratamento, quando se deu o último contato com a maioria dos indivíduos participantes. Porém, alguns deles apresentaram hiperpigmentação pós-inflamatória mais duradoura; talvez esses sejam portadores da diátese pigmentar já citada e tenham uma tendência genética maior à pigmentação.

A observação de que na maioria dos indivíduos, após um ano de seguimento, não houve recidiva da HCIRO sugere que talvez ela não seja uma enfermidade com tendência à recidiva, diferentemente do melasma. Entretanto, mais estudos se fazem necessários para consolidar tal observação.

Com este trabalho, propõe-se uma tentativa terapêutica para uma afecção em que são poucas as opções terapêuticas eficientes. Um maior número de casos e um seguimento mais longo possibilitarão avaliar se a LPAE é capaz de promover um clareamento definitivo da HCIRO ou se as aplicações devem ser repetidas após certo intervalo de tempo.



## **6. CONCLUSÕES**

---

- 1- Clinicamente houve clareamento da pele palpebral inferior após o tratamento com LPAE e o seguimento clínico após um ano do tratamento mostrou que o clareamento se manteve, não havendo recidiva da HCIRO. No entanto, um seguimento mais longo é necessário para a avaliação de possível recidiva tardia da pigmentação palpebral.
- 2- Histologicamente, a quantidade de melanina na epiderme e na derme diminuíram após o tratamento com LPAE na pálpebra inferior, com significância estatística.
- 3- A quantidade de melanina na epiderme e na derme é maior na pálpebra inferior (afetada) em relação à pele pré-auricular (controle), com diferença estatisticamente significativa
- 4- As células que contêm melanina na derme palpebral inferior dos indivíduos portadores de HCIRO são macrófagos (e não melanócitos).
- 5- Nos espécimes examinados neste estudo, não houve presença de hemossiderina na derme da pálpebra inferior.

## **7. ANEXOS**

---

**Anexo 1 -** Reatividade da pele humana à radiação solar baseada nos fototipos 1 a 5

Tipos de pele e sensibilidade e reação ao ultra-violeta	CLASSIFICAÇÃO DE FITZPATRICK		
	Tipo	Cor	Sensibilidade
<b>I</b>	Branca clara	Muito sensível	Sempre queima, nunca pigmenta
<b>II</b>	Branca	Muito sensível	Sempre queima, pigmenta pouco
<b>III</b>	Morena clara	Sensível	Queima, pigmenta moderadamente
<b>IV</b>	Morena escura	Pouco sensível	Queima pouco, sempre pigmenta
<b>V</b>	Parda	Pouquíssimo sensível	Nunca queima, sempre pigmenta
<b>VI</b>	Negra	Insensível	Nunca queima, sempre pigmenta

Fitzpatrick TB, 1999<sup>(54)</sup>. p.1606.

**Anexo 2 -****AVALIAÇÃO FOTOGRÁFICA****ORIENTAÇÕES GERAIS:**

Todas as fotografias foram obtidas sob as mesmas condições de luz , no mesmo local, com a mesma câmera fotográfica. No entanto, existem diferenças de luminosidade em algumas fotografias, o que provavelmente se deve a diferenças de marca do filme utilizado. A fim de minimizar este ocorrido, disponibilizamos um número maior de fotografias a serem analisadas, em alguns casos.

- 1- Cada fotografia deverá ser observada por aproximadamente 15 segundos - portanto 30 segundos para cada par de fotos e 45 segundos para cada trio de fotos.
- 2- As fotografias da esquerda são sempre prévias ao tratamento.
- 3- As fotografias da direita, são sempre imediatamente após a última sessão de tratamento.
- 4- Uma terceira fotografia foi colocada na extrema direita (1 ano após o término do tratamento), em alguns casos, onde houve melhora somente após decorrido um tempo maior da última sessão, pois logo após esta, nestes casos, houve hiperpigmentação pós- inflamatória, mascarando o resultado final (que é mostrado na fotografia da extrema direita).
- 5- Observar somente as olheiras, mais nenhuma outra característica da pele do paciente.
- 6- Analisar as fotos quanto ao clareamento (da cor) da região palpebral e periorbital.
- 7- Analisar a mudança de tamanho do raio de área escurecida.
- 8- Após analisar todas as fotos mostradas de cada paciente, assinale um **X** em :
  - "**Melhor**" - se você achou que houve QUALQUER grau de melhora da cor (clareamento), **ou** diminuição do raio da área escurecida após o tratamento (mesmo que pouca melhora), não importando se a melhora se deu logo após a última sessão ou decorrido um tempo maior desta.
  - "**Inalterado**"- se você achou que em NENHUM tempo houve clareamento **ou** diminuição do raio da área escurecida após o tratamento.
  - "**Pior**"- se você achou que a área em questão escureceu mais **ou** que o raio da área escurecida aumentou, após o tratamento. Lembre-se que a fotografia da extrema direita prevalece sobre a intermediária, nos casos em que ela existir, pois se trata do resultado final.
- 9- Se você achou que apenas o lado direito ou apenas o lado esquerdo melhorou, **prevalece, na avaliação global, o lado que melhorou**, pois indica que o tratamento é capaz de proporcionar melhora

(clareamento ou diminuição do raio da área escurecida). Neste caso assinale “**Melhor**”.  
Evite escrever nos painéis com fotografias, ou fazer comentários a respeito das mesmas.

Obrigada pela sua valiosa colaboração,

Natalia

CASO 1 -                    (    )    MELHOR  
                                  (    )    INALTERADO  
                                  (    )    PIOR

---

CASO 2 -                    (    )    MELHOR  
                                  (    )    INALTERADO  
                                  (    )    PIOR

---

CASO 3 -                    (    )    MELHOR  
                                  (    )    INALTERADO  
                                  (    )    PIOR

---

CASO 4 -                    (    )    MELHOR  
                                  (    )    INALTERADO  
                                  (    )    PIOR

---

CASO 5 -                    (     )     MELHOR  
                                  (     )     INALTERADO  
                                  (     )     PIOR

---

CASO 6 -                    (     )     MELHOR  
                                  (     )     INALTERADO  
                                  (     )     PIOR

---

CASO 7 -                    (     )     MELHOR  
                                  (     )     INALTERADO  
                                  (     )     PIOR

---

CASO 8 -                    (     )     MELHOR  
                                  (     )     INALTERADO  
                                  (     )     PIOR

---

CASO 9 -                    (     )     MELHOR  
                                  (     )     INALTERADO  
                                  (     )     PIOR

---





**Anexo 3**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(Instruções para preenchimento no verso)

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE: .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO: M [ ] F [ ]

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE .....

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL .....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :..... SEXO: M [ ] F [ ]

DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

## 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

“HIPERPIGMENTAÇÃO PALPEBRAL E PERIORBITAL- AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA ANTES E APÓS APLICAÇÃO DE LUZ PÚLSADA DE ALTA ENERGIA”

## 2. PESQUISADOR:

CARGO/FUNÇÃO : PROFESSORA ASSISTENTE INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL: 30.190  
UNIDADE DO HCFMUSP: DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA

## 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO [ ] RISCO MÍNIMO [ ] RISCO MÉDIO [ ]  
RISCO BAIXO [ X ] RISCO MAIOR [ ]

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

## 4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 ANOS

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### **III. 1- Justificativa e Objetivos**

A olheira caracteriza-se por um excesso de pigmentos escuros na pele da região da pálpebra, que além de comprometer a aparência da pessoa do ponto de vista estético, também traz inconvenientes psicológicos.

A senhora foi convidada a participar deste projeto de pesquisa porque nos procurou para tratar as olheiras. Neste projeto utilizaremos um tipo de luz de alta energia que se comprovou eficiente para clarear a pele de outras regiões do corpo, onde já foi testada.

O nosso objetivo é estudar o grau de clareamento da pálpebra quando tratada com este tipo de luz. Não podemos, porém, garantir a melhora completa de seu problema.

### **III. 2- Procedimentos**

Participarão do projeto 14 mulheres entre 20 e 50 anos. Antes do início do tratamento, será realizada uma biópsia da pele da região da pálpebra inferior e também da região vizinha à orelha. A biópsia é a retirada de um pedacinho de pele de 2 milímetros, após anestesia local com xilocaína. Será dado um ponto, em seguida, no local para que não fique nenhuma marca ou cicatriz. O ponto será retirado em aproximadamente 4 dias. A biópsia é necessária para que possamos saber qual a alteração que a pálpebra apresenta.

Um mês após as aplicações da luz, será repetida a biópsia apenas na região da pálpebra para que possamos saber qual foi o efeito da luz aplicada na pele.

A aplicação da luz pulsada de alta energia será feita no consultório médico, de 1 a 4 vezes, com no mínimo 1 mês de intervalo. Para evitar danos à visão, serão colocados óculos protetores para bloquear a entrada da luz nos olhos.

Após a aplicação, a senhora deverá evitar coçar a região tratada, usar protetor solar fator 60 e dois cremes que serão fornecidos pelo médico (antibiótico e corticóide), durante 7 dias.

Serão realizadas fotografias apenas da região dos olhos, antes e após cada sessão e após 6 meses do final do tratamento.

### **III. 3. Desconforto e Riscos Esperados**

a- DOR : todos sentem um desconforto durante o tratamento, que em geral é parecido com uma sensação de queimação leve e dura pouco tempo.

Logo após a aplicação a área tratada fica bem inchada e vermelha, devendo ser protegida do sol. Pode acontecer de a área ficar roxa, o que melhora em média em 7 a 10 dias.

b-CASQUINHAS: a Luz Pulsada pode provocar uma queimadura superficial da pele. Algumas pessoas podem ficar com casquinhas escuras no local, que duram em média 7 a 10 dias. Após o desaparecimento das casquinhas, a pele fica rosada e mais sensível, devendo ser protegida do sol por pelo menos 1 mês.

- 
- c-ALTERAÇÕES DA COR DA PELE: o local tratado pode ficar temporariamente mais escuro ou mais claro que a cor da pele ao redor. Esta reação tende a desaparecer aos poucos em 4 a 6 semanas e mais raramente demorar alguns meses para desaparecer. Algumas pessoas, principalmente as de pele mais escura têm mais tendência às alterações da cor da pele após a aplicação. Recomenda-se proteger bem do sol a área tratada para diminuir as chances de que isto ocorra. Alguns pacientes, mesmo com proteção adequada apresentam alteração da cor da pele, geralmente transitória.
- d-NÃO MELHORA OU VOLTA DAS OLHEIRAS: algumas pessoas podem não ter um bom resultado ou até ter retorno da olheira após uns meses. Este trabalho serve para estudar todas essas possibilidades também.
- e- A biópsia é um procedimento seguro e raramente pode levar a algum tipo de infecção ou complicação
- e- CICATRIZES: Sendo a pálpebra uma área de pele muito fina, a chance de se formar uma cicatriz muito visível é baixa, mas pode haver formação de uma pequena cicatriz (2 mm).
- g- A aplicação da luz vai provocar uma sensação de ardor que desaparece em 1 dia. Também leva ao inch

- 4- Para qualquer problema de saúde que possa ocorrer por causa desta pesquisa, a senhora terá atendimento médico garantido pelos pesquisadores.

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

DRA. NATALIA CYMROT CYMBALISTA

CONS: RUA COTOXÓ, 611, CJ 104, - PERDIZES- CEP- 05021-000 / TEL- 38735782,

RES: RUA TUCUNA 1001, AP 142 – TEL 3672-4235 PERDIZES CEP- 05021-010

CELULAR- 91678118

**VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo,                      de                      de                      .

\_\_\_\_\_  
assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

\_\_\_\_\_  
assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome Legível)

Anexo 4 -



DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa



## **8. REFERÊNCIAS**

---

1. Graziozi AC. *Estudo clínico e histopatológico da hiperpigmentação cutânea idiopática da região orbital* [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 2000.
2. Adlerkreutz E. Periocular hyperpigmentation ("masque biliare") and its relation to biliary and genitourinary tract diseases. *Acta Med Scand.* 1949;135:63-8.
3. Hunziker N. A propos de l'hyperpigmentation familiale des paupières. *J Génét Hum.* 1962;11:6-21.
4. Winkelmann RK. Dark circles under the eyes. *JAMA.* 1965;93:61.
5. Marks M B. Allergic shiners dark circles under the eyes in children. *Clin Pediatr.* 1996;5(11):655-8.
6. Maruri CA, Diaz LA. Dark circles around the eyes. *Cutis.* 1969;5:979-82.
7. Boxrud C, Shorr N, Steisapir K. Management of dark circles around the eyes. In: *American Society of Ophthalmologic Plastic and Reconstructive Surgeons.* Chicago; 1993. (Abstracts).
8. Avelar JM. Nova técnica cirúrgica para corrigir hiperpigmentação das pálpebras -("olheiras"). *Rev Bras Cir.* 1996;8(5)229-37.
9. Goodman RM, Belcher RW. Periorbital hyperpigmentation. *Arch Derm.* 1969;100:169-74.
10. Elson ML, Nacht S. Treatment of periorbital hyperpigmentation with topical vitamin K/ vitamin A. *Cosm Dermatol.* 1999;32-4.

11. Ing EB, Buncic JR, Weiser BA, Nanassy JD, Boxall L. Periorbital hyperpigmentation and erythema dyschromicum perstans. *Can J Ophthalmol.* 1992;27(7):353-5.
12. Diaz LA. Patologia y genética de las hiperpigmentaciones bi-palpebrales. *Actas Dermo-Sifiliogr.* 1971;397-410.
13. Lowe NJ, Wieder JM, Shorr N, Boxrud C, Saucen D, Chalet M. Infraorbital pigmented skin - preliminary observations of laser therapy. *Dermatol Surg.* 1995;2:767-70.
14. West TB, Alster TS. Improvement of infraorbital hyperpigmentation following carbon dioxide laser resurfacing. *Dermatol Surg.* 1998;24:615-16.
15. Lupton JR, Alster TS. Evaluation of one-pass CO2 laser resurfacing for infraorbital hyperpigmentation. *Lasers Surg Med.* 2002;14:21.
16. Epstein JS. Management of infraorbital dark circles, a significant cosmetic concern. *Arch Facial Plast Surg.* 1999;1:303-7.
17. Kovak ST, Alster TS, Rosenbach A. Comparison of the Q-Switched alexandrite (755 nm) and the Q-Switched Nd:Yag (1064 nm) lasers in the treatment of infraorbital dark circles. *Dermatol Surg.* 1998. *apud* West TB, Alster TS. 1998, p. 616.
18. Bingel A. Erblichkeit, Rassenhygiene und Bevölkerungspolitik. *Münch Med Wschr.* 1937;84(2):1531-2.
19. Garcia A, Fulton JE. The combination of glycolic acid and hydroquinone or kojic acid for the treatment of melasma and related conditions. *Dermatol Surg.* 1996;22:443-47.
20. Duke- Elder, Stewart. The ocular adnexae. In: *Text of ophthalmology.* St Louis: Mosby; 1952. p.5007-12.



- 
21. Touraine A. Dematoses symptomatiques de lésions viscérales. *Encyclopedie Médico Chirurgicale, Dermatologie*. 1937;2(12058-1):14.
  22. Elson M.L. *Evaluation and treatment of the aging face*. New York: Springer-Verlag; 1994. p.1-8.
  23. Marañón G. *Diagnóstico etiológico*. Madrid: Espasa-Calpe; S.A; 1961. p 810.
  24. Van Den Berg WHHW, Starink Th.M. Macular amiloidosis presenting as periocular hyperpigmentation. *Clin Exp Dermatol*. 1983;8:195-7.
  25. Miescher G, Stork H. Demonstration: pigmentikontinenz bei xanthoma palpebrarum. *Dermatologica*. 1951;102:366.
  26. Jadassohn W, Franceschetti A, Golay M. Quelques observations cliniques concernant la pigmentation du derme.
  - 27.
  - 28.
  - 29.
  - 30.

31. Coleman WP, Brody HJ. Advances in chemical peeling. *Dermatol Clin.* 1997;15:19-26.
32. Zarem HA, Resnick JI. Expanded applications for transconjunctival lower lid blepharoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 1991;88:215-20.
33. Cisneros JL. Resurfacing y despigmentación subpalpebral com laser Nd:Yag Q-Switched poliderm. *Med Cutan Iber Lat Am.* 1996;24:111-16.
34. Cisneros JL, Del Río R, Palou J. The Q-switched neodymium (Nd): Yag laser with quadruple frequency-clinical, histological evaluation of facial resurfacing using different wavelengths. *Dermatol Surg.* 1998;24:345-50.
35. Anderson RR, Parrish JA. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed irradiation. *Science.* 1983;220:524-27.
36. Goldman MP, Fitzpatrick RE. *Cutaneous laser surgery - the art of selective photothermolysis.* Boston: Mosby; 1994. p.1-18.
37. Spicer MS, Goldberg DJ. Lasers in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34(1):1-25.
38. Murphy GF, Shepard RS, Paul BS, Menkes A, Anderson RR, Parrish JA. Organelle-specific injury to melanin containing cells in human skin by pulsed laser irradiation. *Lab Invest.* 1983;49:680-5.
39. Anderson RR, Parrish JA. The optics of human skin. *J Invest Dermatol.* 1981;77:13.
40. Anderson RR, Margolis RJ, Watanabe S. Photothermolysis of cutaneous pigmentation by Q-Switched Nd: Yag laser pulses at 1064, 532 and 355 nm. *Investig Dermatol.* 1989; 93:28-32.

41. Osório N, Torezan LAR. *Laser em dermatologia - conceitos básicos e aplicações*. São Paulo: Roca, 2002.
42. Weiss RA, Goldman MP, Weiss MA. Treatment of poikiloderma of civatte with an intense pulsed light source. *Dermatol Surg*. 2000;26(9):823-8.
43. Sherwood KA, Murray S, Kurban AK, Tan OT. Effect of wavelenght on cutaneous pigment using pulsed irradiation. *J Invest Dermatol*. 1989; 92:717-20.
44. Gold MH, Foster TD, Bell MW. Nevus spilus successfully treated with an intense pulsed light source. *Dermatol Surg*. 1999;25(3):254-5.
45. Bjerring P, Christiansen K. Intense pulsed light source for the treatment of small melanocytic nevi and solar lentigines. *J Cutan Laser Ther*. 2000;2:177-81.
46. Moreno-Arias GA, Ferrando J. Noncoherent intense pulsed light for the treatment of relapsing hairy intradermal melanocytic nevus after shave excision. *Lasers Surg Med*. 2001;29(2):142-4.
47. Arias GAM, Ferrando J. Intense pulsed light for melanocytic lesions. *Dermatol Surg*. 2001;27:4.
48. Remington BK, Remington TK. Treatment of facial lentigines in Peutz-Jeghers syndrome with an intense pulsed light source. *Dermatol Surg*. 2002;28:1079-81.
49. Huang YL, Liao YL, Lee SH, Hong HS. Intense pulsed light for the treatment of facial freckles in Asian skin. *Dermatol Surg*. 2002;28:1007-12.
50. Kawada A, Shiraishi H, Asai M, Kameyama H, Sangen Y, Aragane Y, Tezuka T. Clinical improvement of solar lentigines and ephelides with an intense pulsed light source. *Dermatol Surg*. 2002;28:504-8.

51. Cymbalista, NC, Osorio NEGS, Torezan LAR, Mattos RA. Treatment of hyper pigmentation peripalpebral with Q-switched ruby laser x intense pulsed light. *Lasers Surg Med.* 2002;30(514):58-87 (Abstract).
52. Ho WS, Chan HH, Ying SY, Chan PC, Burd A, King WWK. Prospective study on the treatment of postburn hyperpigmentation by intense pulsed light. *Lasers Surg Med.* 2003; 32:42-5.
53. Kontoes PP, Vlachos SP, Marayiannis KV. Intense pulsed light for the treatment of lentigines in LEOPARD syndrome. *Br J Plast Surg.* 2003;56(6):607-10.
54. Fitzpatrick TB. Fitzpatrick's reactivity of human skin to solar radiation based on skin phototypes I to V : table 138-5. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB. *Dermatology in general medicine.* 15th. ed. New York: Mc Graw- Hill; 1999. p.1606.
55. Gomori G. Microchemical demonstration of iron. *Am J Pathol.* 1936;12:655.
56. Masson P. Carcinoids and nerve hyperplasia of the appendicular mucosa. *Am J Pathol.* 1928;4:181.
57. Allen AC, Kellar NM, Southern SO, Dizon AE. An improved technique of computer-assisted image analysis to quantify molecular stress in cetaceans. In: 14th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Vancouver. Canada. Nov 28- Dec 3, 2001. p.1-4.
58. Acker SM, Nicholson JH, Rust PF, Maize JC. Morphometric discrimination of melanoma in situ of sun-damaged skin from chronically sun-damaged skin. *J Am Acad Dermatol.* 1998;29(2):239-45.
59. Woodley DT, Zelickson AS, Briggaman RA, Hamilton TA, Weiss JS, Ellis CN, Voorhees JJ. Treatment of photoaged skin with topical

- tretinoin increases epidermal-dermal anchoring fibrils. A preliminary report. *JAMA*. 1990;263(22) 3057-9.
60. Armitage P, Berry G. Further analysis of categorical data. In: Armitage P, Berry G. eds. *Statistical methods in medical research*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1994. p.402-47.
  61. Agresti A. *Categorical data analysis*. New York: John Wiley & Sons; 1990.
  62. Beiguelman B. *Curso prático de bioestatística*. 2a ed. Ribeirão Preto: Editora da Revista Brasileira de Genética; 1991. 231p.
  63. Rosner BA . *Fundamentals of biostatistics*. 4th ed. Belmont: Duxbury-Press; 1995. p.426.
  64. Schroeter CA, Newmann HA. An intense light source. The Photoderm VL-flashlamp as a new treatment possibility for vascular skin lesions. *Dermatol Surg*. 1998;24:743-8.
  65. Raulin C, Schroeter C. Treatment possibilities with an intense, pulsed light source (PhotoDerm VL). *Hautarzt*. 1997;48:886-93.
  66. Miyake RK, Miyake H, Kauffman P. Skin temperature measurements during intense pulsed light emission. *Dermatol Surg*. 2001;27:549-54.
  67. Raulin C, Weiss R, Schnönermark MP. Treatment of essencial telangiectasias with an intense pulsed light source (PhotoDerm-VL). *Dermatol Surg*. 1997;23:941-46.
  68. Raulin C, Werner S, Hartschuh W, Schonermark MP. Effective treatment of hypertrichosis with pulsed light: a report of two cases. *Ann Plast Surg*. 1997;39:69-73.

69. Laury D. Intense pulsed light technology and its improvement on skin aging from patients`perspective using photorejuvenation parameters. *Dermatol Online J.* 2003;9(1):5.
70. Raulin C, Greve B, Grema B. IPL technology: a review. *Lasers Surg Med.* 2003;32:78-87.
71. Pereira MG. Aferição dos eventos. In: Pereira MG. *Epidemiologia – teoria e prática.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1995. p.358-76.
72. Altman DG. Some common problems in medical research. In: Altman DG, ed. *Practical statistical for medical research.* London: Chapman & Hall; 1995. p.396-439.
73. Derouen TA, Murray JA, Owen W. Variability in the analysis of coronary angiograms. *Circulation.* 1977;55:324-8.
74. Holder DA, Johnson AL, Stolberg Ho, Campbell M, Gunstensen J, Joyal M, Roberts R, Biagioni EM, Vaughan W, Romeo M. Inability of caliper measument to enhance observer agreement in the interpretation of coronary cineangiograms. *Can J Cardiol.* 1985;1(1):24-9.
75. Vera-Sempere FJ, Rubio L, Massmanian A. Counts and areas of S-100-positive epidermal dendritic cells in atypical molluscum contagiosum affecting HIV+ patients. *Histol Histopathol.* 2001;16:45-51.
76. Bosset S, Bonnet-Duquennoy M, Barre P, Chalon A, Kurfurst R, Bonte F, Schnebert S, Le Varlet B, Nicolas JF. Photoageing shows histological features of chronic skin inflammation without clinical and molecular abnormalities. *Br J Dermatol.* 2003;149(4):826-35.
77. Meunier L, Bata-Csorgo Z, Cooper KD. In human dermis, ultraviolet radiation induces expansion of a CD36+ CD11b+ CD1- macrophage subset by infiltration and proliferation; CD1+ Langerhans-like dendritic antigen-presenting cells are concomitantly depleted. *J Invest Dermatol.* 1995;105(6):782-8.

- 
78. Polla LL, Margolis RJ, Dover JS, Whitaker D, Murphy GF, Jacques SL, Anderson RR. Melanosomes are a primary target of Q-switched ruby laser irradiation in guinea pig skin. *J Invest Dermatol.* 1987; 89(3):281-6.
  79. Margolis RJ, Dover JS, Polla L, Watanabe S, Shea CR, Hruza GJ, Parrish JA, Anderson RR. Visible action spectrum for melanin-specific selective photothermolysis. *Lasers Surg Med.* 1989;9:389-97.
  80. Dover JS, Margolis RJ, Polla LL, Watanabe S, Hruza GJ, Parrish JA, Anderson R. Pigmented guinea pig skin irradiated with Q-switched ruby laser pulses. *Arch Dermatol.* 1989;125: 43-9.
  81. Taylor CR, Anderson RR. Ineffective treatment of refractory melasma and post-inflammatory hyperpigmentation by Q-Switched ruby laser. *J Dermatol Surg Oncol.* 1994 20:592-7.