

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

JULIANA TEIXEIRA PEDROSO

**EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM ÁCIDO 5-AMINOLEVULÍNICO E
METIL 5-AMINOLEVULINATO NO REJUVENESCIMENTO DA PELE UTILIZANDO
LED ÂMBAR E INFRAVERMELHO**

**EFFICACY OF PHOTODYNAMIC THERAPY WITH 5-AMINOLEVULINIC ACID AND
METHYL 5-AMINOLEVULINATE IN SKIN REJUVENATION USING AMBER AND
INFRARED LED**

São José dos Campos – SP
2024

JULIANA TEIXEIRA PEDROSO

**EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM ÁCIDO 5-AMINOLEVULÍNICO E
METIL 5-AMINOLEVULINATO NO REJUVENESCIMENTO DA PELE UTILIZANDO
LED ÂMBAR E INFRAVERMELHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Ferreira-Strixino
Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Guerra Pinto

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

Ficha catalográfica

Pedroso, Juliana Teixeira

Eficácia da terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico e metil 5-aminolevulinato no rejuvenescimento da pele utilizando Led âmbar e infravermelho / Juliana Teixeira Pedroso; orientadora, Profa. Dra. Juliana Ferreira-Strixino; co-orientadora Profa. Dra. Juliana Guerra Pinto. - São José dos Campos, SP, 2024.

1 CD-ROM, 60 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

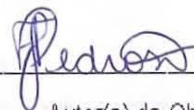
1. Engenharia Biomédica. 2. Fotoquimioterapia. 3. Pele. 4. Rejuvenescimento. I. Ferreira-Strixino, Profa. Dra. Juliana, orient. II. Pinto, Profa. Dra. Juliana Guerra, co-orient. III. Universidade do Vale do Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. IV. Título.

Eu, Juliana Teixeira Pedroso, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 11 de Novembro de 2024.



Autor(a) da Obra

JULIANA TEIXEIRA PEDROSO

“AÇÃO DA TERAPIA FOTODINAMICA NO REJUVESCIMENTO FACIAL”.

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Cristina P. Soares	<i>Cristina P. Soares</i>
Juliana F. Strixino	<i>Juliana F. Strixino</i>
Juliana G. Pinto	<i>Juliana G. Pinto</i>
Renata de A. Canevari	<i>Renata de A. Canevari</i>
Priscila F. C. de Menezes	<i>Priscila F. C. de Menezes</i>

Prof.^ª Dr.^ª Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 08 de maio de 2024.

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão a Deus por ter renovado as minhas forças, ser socorro bem presente em meio às dificuldades e me presentear com oportunidades maravilhosas e pessoas incríveis ao meu redor.

Agradeço aos meus pais, Marcos e Dulce, pelo amor constante, apoio incondicional, por me cobrirem espiritualmente com suas orações e me motivarem a alcançar o melhor de Deus.

Agradeço aos amigos e familiares queridos, que me inspiram. Em Romanos 12:15 está escrito: *Alegrai-vos com os que se alegram; e chorai com os que choram.* É um privilégio estar cercada de carinho, compreensão e companheirismo.

Agradeço à minha amiga, prima e parceira de tantos momentos da vida, Erika, por me ouvir e prontamente ter palavras de encorajamento, me fazer rir quando eu precisava e todos os dias estar presente de alguma forma.

Agradeço ao João, meu amor, que na fase final me amparou com muito carinho e paciência, tornou os dias difíceis mais amáveis, não me deixou perder a esperança, enxugou as minhas lágrimas e transbordou a minha vida de amor e afeto.

Agradeço às minhas orientadoras, Juliana Ferreira e Juliana Guerra, pelo acolhimento na área da pesquisa e pelos anos em que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional. Aos colegas de profissão e parceiros que encontrei no grupo Photobios e no laboratório de TFD, obrigada por me ensinarem e partilharem dessa trajetória comigo. Ao Bruno, grande colaborador e parceiro nos anos de mestrado, foi um privilégio receber seu suporte.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcuta

Resumo

A pele é a principal barreira de defesa do organismo humano, atua na homeostase corporal, proteção contra microrganismos, substâncias e radiações, prevenção de perda excessiva de água, produção de vitamina D e influencia fatores psicossociais. O envelhecimento intrínseco da pele, pode acarretar a perda ou redução de muitas dessas funções, podendo ser ainda mais acentuado na pele fotoenvelhecida. A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma técnica não invasiva usada no tratamento de câncer, infecções microbianas, lesões pré-cancerosas e para fins estéticos da pele. Pesquisas sobre a atividade da TFD tópica sugerem efeitos antibacterianos, anti-inflamatórios e imunomoduladores em queranócitos, fibroblastos, glândulas sebáceas e folículos pilosos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência da TFD na redução dos sinais de fotoenvelhecimento, com ácido 5-aminolevulínico (ALA) e metil 5-aminolevulinato (MAL) a 2% e luz de LED âmbar (590 +/- 10 nm) e laser infravermelho (808 nm +/- 10 nm) associados em mulheres entre 40 e 55 anos. Além disso, objetiva-se identificar o tempo ótimo de incubação dos fármacos e quantificar a produção de protoporfirina IX (PpIX) e avaliar alterações nos sinais de fotoenvelhecimento após a TFD. As participantes recrutadas foram submetidas ao protocolo clínico por quatro sessões com intervalo de aproximadamente um mês. A análise de produção de PpIX foi realizada pela conversão de imagens do evidenciador *Lince* em histogramas de cor e a documentação fotográfica foi analisada qualitativamente quanto aos sinais de fotoenvelhecimento. A TFD se mostrou eficiente no rejuvenescimento facial, demonstrando redução de linhas finas, suavização de rugas, maciez e firmeza da pele e melhora da flacidez. Dentre os fármacos, o efeito maior de rejuvenescimento foi atribuído ao ALA, a concentração de 2% e a interação com os comprimentos de onda âmbar e infravermelho associados permitiram que tais resultados fossem atingidos com efeitos colaterais mínimos.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica; ALA; MAL; pele; rejuvenescimento.

Abstract

The skin is the primary defense barrier of the human body. It acts in body homeostasis, protects against microorganisms, substances, and radiation, prevents excessive water loss, produces vitamin D, and influences psychosocial factors. Intrinsic skin aging can lead to the loss or reduction of many of these functions, which can be even more pronounced in photoaged skin. Photodynamic Therapy (PDT) is a non-invasive technique used to treat cancer, microbial infections, precancerous lesions, and skin aesthetic purposes. Research on the activity of topical PDT suggests antibacterial, anti-inflammatory, and immunomodulatory effects on keratinocytes, fibroblasts, sebaceous glands, and hair follicles. Therefore, the objective of this work was to compare the efficiency of PDT in reducing signs of photoaging with 5-aminolevulinic acid (ALA) and methyl 5-aminolevulinate (MAL) at 2%, and amber LED light (590 +/- 10 nm) and infrared laser (808 nm +/- 10 nm) associated in women between 40 and 55 years old. Furthermore, the objective is to identify the optimal incubation time for these drugs, quantify the production of protoporphyrin IX (PpIX), and evaluate changes in signs of photoaging after PDT. The recruited participants underwent the clinical protocol for four sessions with an interval of approximately one month. The analysis of PpIX production was carried out by converting images from the Lince highlighter into color histograms, and the photographic documentation was qualitatively analyzed for signs of photoaging. PDT proved efficient in facial rejuvenation, demonstrating a reduction in fine lines, smoothing of wrinkles, softness and firmness of the skin, and improvement in sagging. Among the drugs, the most significant rejuvenation effect was attributed to ALA 2%, and the interaction with the associated amber and infrared wavelengths allowed such results to be achieved with minimal side effects.

Keywords: Photodynamic therapy; ALA; MAL; skin; rejuvenation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espectro de absorção da Protoporfirina IX.....	14
Figura 2: Equipamento LINCE da MM Optics.....	22
Figura 3: Equipamento Elite-Olympus da DMC Equipamentos.....	23
Figura 4: Representação da manopla do equipamento Elite-Olympus.	23
Figura 5: Produção de Protoporfirina IX evidenciada pelo sistema de detecção Lince da MM Optics no estudo piloto. As imagens 1 e 2 marcam o tempo 0 (controle), de 3 a 14 representam a resposta do ALA e de 3' a 14', do MAL, sendo organizadas em ordem crescente de tempo de incubação: 30 minutos, 1 hora, 1 hora e 30 minutos, 2 horas, 2 horas e 30 minutos e 3 horas, respectivamente, com duas fotos para cada tempo descrito.....	25
Figura 6: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de controle e pré-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo ALA nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.....	26
Figura 7: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de pré-irradiação e pós-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo ALA nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.....	27
Figura 8: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de controle e pré-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo MAL nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.....	28
Figura 9: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de pré-irradiação e pós-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo MAL nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.....	29
Figura 10: Comparação qualitativa da fluorescência evidenciada pelo sistema de detecção Lince indicando a produção de PpIX nas quatro sessões de tratamento do grupo ALA.	30
Figura 11: Comparação qualitativa da fluorescência evidenciada pelo sistema de detecção Lince indicando a produção de PpIX nas quatro sessões de tratamento do grupo MAL.....	31

Figura 12: Documentação fotográfica das participantes do grupo ALA-TFD. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.	32
Figura 13: Documentação fotográfica das participantes do grupo MAL-TFD. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.	33
Figura 14: Cortes fotográficos da região dos olhos de participantes do grupo ALA-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.....	33
Figura 15: Cortes fotográficos da região do sulco nasolabial de participantes do grupo ALA-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.	34
Figura 16: Cortes fotográficos da região dos olhos de participantes do grupo MAL-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.....	34
Figura 17: Cortes fotográficos da região do sulco nasolabial de participantes do grupo MAL-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.	35
Figura 18: Percentual de hidratação da pele das participantes do grupo ALA-TFD durante os meses de tratamento.....	36
Figura 19: Percentual de hidratação da pele das participantes do grupo MAL-TFD durante os meses de tratamento.....	36
Figura 20: Percentual de oleosidade da pele das participantes do grupo ALA-TFD durante os meses de tratamento.....	37
Figura 21: Percentual de oleosidade da pele das participantes do grupo MAL-TFD durante os meses de tratamento.....	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	TERAPIA FOTODINÂMICA	11
2.2	FOTOSENSIBILIZADOR	12
2.3	FONTE DE LUZ	13
2.4	PELE E FOTOENVELHECIMENTO	14
3	OBJETIVOS	19
3.1	OBJETIVO GERAL.....	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
5	RESULTADOS	25
6	DISCUSSÃO.....	40
7	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	52
	ANEXO B: QUESTIONÁRIO DE AUTOAVALIAÇÃO	54
	ANEXO C: FICHA DE AUTOAVALIAÇÃO PÓS-TRATAMENTO	58
	ANEXO D: CARTILHA DE ORIENTAÇÃO	59
	ANEXO E: FLYER PARA RECRUTAMENTO DE PACIENTES	60

1 INTRODUÇÃO

A pele desempenha funções essenciais de equilíbrio entre os meios interno e externo, como proteção contra microrganismos, substâncias e radiações, manutenção da temperatura corporal, prevenção de perda excessiva de água, produção de vitamina D, além da influência em fatores psicossociais. Assim, destaca-se a importância da manutenção de uma pele saudável para exercer adequadamente suas funções (Agrawal; Bollag, 2023; Karimi, 2023).

As características metabólicas e imunológicas da pele são alvos de estudos científicos para melhor entender a influência de fatores intrínsecos, como genética, gênero, idade, e extrínsecos, como poluição, hábitos e estilo de vida, exposição solar. Em regiões onde a exposição solar é contínua e o índice de radiação ultravioleta (UV) é alto, os sinais precoces de fotoenvelhecimento são características comumente observadas na população, apresentando efeitos estéticos negativos (De Moura *et al.*, 2023).

O tratamento tópico para pele fotoenvelhecida conhecido como padrão ouro é o uso de ácido retinoico, entretanto, como efeito colateral pode causar vermelhidão e irritação em peles sensíveis e gerar desconforto estético para pacientes com rosácea (Mercurio, 2015). O laser ablativo de CO₂ é amplamente utilizado para o rejuvenescimento, mas pode apresentar dor durante o tratamento, risco de hipopigmentação e cicatrização prolongada (Hassan; Benedetto, 2013; Croix *et al.*, 2020).

A Terapia Fotodinâmica (TFD) tem sido utilizada devido à mínima invasividade, fácil repetibilidade e resultados estéticos favoráveis (Helbig; Simon; Paasch, 2011; Queirós *et al.*, 2020). Muitas são as combinações ajustáveis para o sucesso dos resultados, como escolha da fonte de luz e do fotossensibilizador (FS), tempo de incubação, densidade de energia a ser aplicada e número de sessões (Haddad, 2010).

Diante disso, a TFD com ALA e MAL foi testada, definindo a partir de um estudo piloto o tempo de incubação para cada fármaco, e irradiação combinada de LED âmbar e laser infravermelho. O presente trabalho justifica-se em proporcionar benefícios para a saúde integral da pele, assim como do aspecto estético, com o tratamento do fotoenvelhecimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TERAPIA FOTODINÂMICA

Há séculos a luz é utilizada no tratamento de doenças, como vitiligo e psoríase. Em 1895 o médico dinamarquês Niels Finsen aplicou fototerapia em pacientes com tuberculose cutânea, com reconhecimento pelo prêmio Nobel em 1903. Registros históricos da civilização Hindu relatam ainda o uso associado de fototerapia a plantas medicinais, como os psoralenos obtidos a partir das sementes de *Psoralea corylifoliu* (Daniell; Hill, 1991).

No início do século XX a interação entre luz e substâncias fotossensíveis foi introduzida na medicina ocidental por Oscar Raab e seus experimentos, que confirmaram que a ação conjunta desses elementos aumentava a toxicidade ao *Paramecium*. Segundo Daniell e Hill (1991), em 1904, von Tappeiner e Jodlbauer relataram que a presença de oxigênio era um requisito para a ação fotodinâmica e, em 1907, o termo “terapia fotodinâmica” foi nomeado para descrever a técnica.

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma técnica não invasiva atualmente usada no tratamento de câncer, infecções microbianas, alterações pré-cancerosas e para fins estéticos e de tratamento da pele, como ceratose actínica, acne, rejuvenescimento, cicatrizes e perda de cabelo. Baseia-se na interação de um fotossensibilizador (FS) ativado pela irradiação com luz em comprimento de onda adequado ao FS e da presença de oxigênio molecular, causando estresse oxidativo (Cieplik *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2020; Dey; Kesharwani; Dubey, 2023).

A interação de tais elementos produz espécies reativas de oxigênio (ERO) de meia vida curta no local, o que limita a ação da TFD a áreas onde a luz e o fotossensibilizador são aplicados. Isso permite evitar danos ao tecido saudável adjacente às lesões e reduzir os efeitos sistêmicos adversos (Leite *et al.*, 2018).

Pesquisas sobre a atividade da TFD tópica sugerem efeitos antibacterianos, anti-inflamatórios e imunomoduladores em queranócitos, fibroblastos, glândulas sebáceas e folículos pilosos. É possível que as ERO produzidas pelas reações fotodinâmicas causem danos à membrana e às mitocôndrias, ativando moléculas sinalizadoras como TNF- α e as interleucinas 1 e 6. Isso pode alterar a expressão de fatores de crescimento e citocinas na lesão, modulando a produção de colágeno e a organização da matriz extracelular (Tosa; Ogawa, 2020).

2.2 FOTOSSENSIBILIZADOR

Os fotossensibilizadores são divididos em três gerações, sendo que a primeira engloba os derivados de hematoporfirina, os quais são amplamente utilizados, mas apresentam como desvantagem uma ação mais superficial devido à região espectral de absorção da luz. Na segunda geração destacam-se as clorinas e ftalocianinas, que possuem melhor absorção em comprimentos de onda superiores a 650 nm. A terceira geração se apresenta pela combinação dos FS com biomoléculas ou transportadores, como estratégia para aumentar a seletividade e ação da terapia (Chilakamarthi; Giribabu, 2017; Correia *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2023).

O ácido 5-aminolevulínico (ALA) foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1999 associado à luz azul para tratamento de ceratose actínica não hipertrófica. Conforme descrito na literatura, o tempo de incubação no tecido alvo varia entre 1 e 20 horas, dependendo do protocolo clínico (Goldberg, 2008; Issa *et al.*, 2016). A principal limitação desse fármaco é a penetração na pele, devido às características hidrofílicas (Goldberg, 2008).

O metil 5-aminolevulinato (MAL) é um derivado esterificado do ALA, e mais lipofílico, aumentando a capacidade de penetração no estrato córneo e maior seletividade a células neoplásicas. Para o protocolo de rejuvenescimento, o tempo de incubação pode ser de 1 a 2 horas, com duas a quatro sessões com intervalo entre duas e quatro semanas (Goldberg, 2008; Issa *et al.*, 2016).

ALA e MAL não são fotossensibilizadores intrínsecos, são pró-fármacos que são convertidos no fotossensibilizador endógeno protoporfirina IX (PpIX), formada como parte da biossíntese do heme, ocorrendo por reações enzimáticas intramitocondriais e citoplasmáticas (Issa *et al.*, 2016; Sanclemente *et al.*, 2018; Tosa; Ogawa, 2020).

Na mitocôndria, a glicina e o succinil-CoA reagem para formar ALA, sendo este, o primeiro precursor do heme. O ALA é transportado para o citoplasma, onde duas moléculas se condensam para originar porfirinogênio IX, que posteriormente é descarboxilado para produzir PpIX. A aplicação exógena de seus precursores (ALA e MAL) tem a função de propiciar seu acúmulo intracelular para a realização da TFD (Kennedy; Marcus; Pottier, 1996; Perez, 2022).

2.3 FONTE DE LUZ

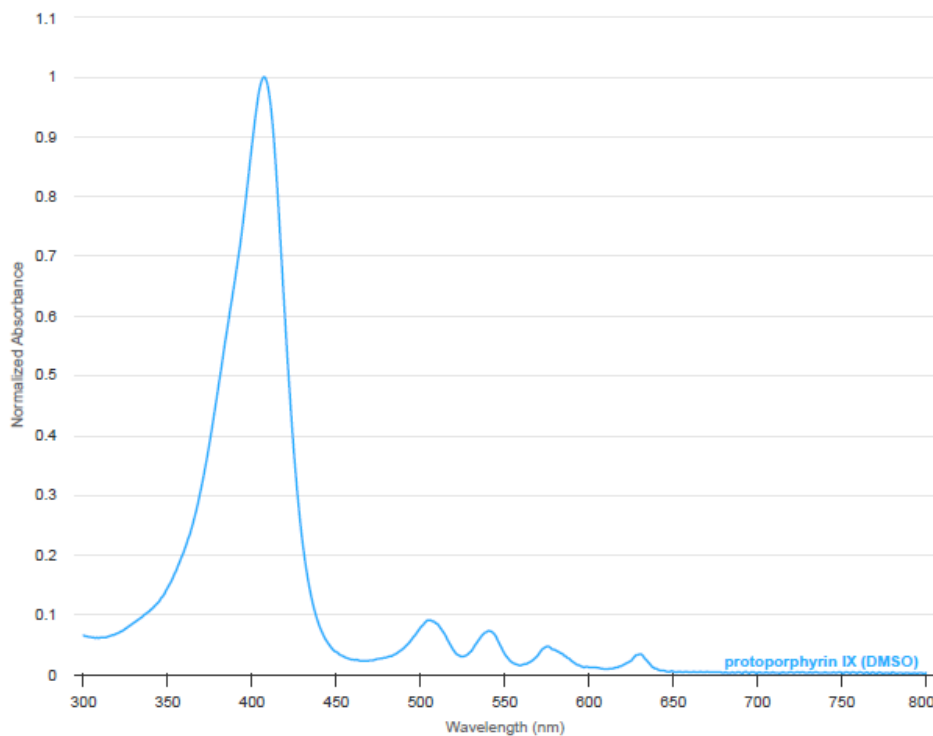
A ação da luz no tecido tem potencial para promover efeitos biomoduladores. Um dos aspectos mais importantes dos dispositivos de *Light Emitting Diode* (LED) é a segurança. Os LEDs são não ablativos e não térmicos, e quando usados sozinhos (ou seja, sem fotossensibilizadores tópicos em aplicações de TFD) não causam danos à epiderme ou ao tecido dérmico (Ablon, 2018). Os dispositivos de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Laser) podem gerar um aumento de temperatura, e em seu uso apropriado para fins dermatológicos também causam biomodulação (Kalil, 2011; Oliveira, 2015).

Na interação com o tecido biológico, a luz penetra o tecido e interage com cromóforos, como proteínas e lipídeos, assim, as mitocôndrias são estimuladas, aceleram o metabolismo celular e encadeiam processos bioquímicos que resultam em mais adenosina trifosfato (ATP). Esse evento pode estimular a proliferação de fibroblastos e colágeno (Manoel; Paolillo; Menezes, 2014; Oliveira, 2015).

Os comprimentos de onda podem atingir diferentes camadas da pele e promover certas ações terapêuticas, por exemplo, entre 495 e 570 nm as camadas córnea e basal são alcançadas, o que pode ocasionar redução de manchas na pele pela degradação de cromóforos. Já entre 750 e 1200 nm é possível atingir até a hipoderme e gerar efeitos biomoduladores com ação analgésica (Manoel; Paolillo; Menezes, 2014; Oliveira, 2015).

A luz violeta é considerada efetiva por ser muito absorvida pelo fotossensibilizador no tecido, uma vez que a PpIX tem absorção máxima da luz em 410 nm (banda Soret), conforme demonstrado na figura 1, entretanto, esse comprimento de onda penetra o tecido de forma superficial. Quando o objetivo é atingir camadas mais profundas da pele podem ser utilizados outros comprimentos de onda, como nas regiões de âmbar e vermelho (Helbig; Simon; Paasch, 2011; Issa *et al.*, 2016). O infravermelho tem sido utilizado para a fotobiomodulação, o que pode auxiliar para a redução local do edema e das citocinas pró-inflamatórias (Hamblin, 2017; Barolet *et al.*, 2023).

Figura 1: Espectro de absorção da Protoporfirina IX



Fonte: The International Photodynamic Association Community (2022).

2.4 PELE E FOTOENVELHECIMENTO

A pele é definida como o maior órgão do corpo humano, tendo como principal função a defesa contra patógenos e outros agentes externos, além de participar de processos importantes para homeostase corporal a partir da regulação de temperatura e para a comunicação sensorial (Junqueira; Carneiro, 2013).

O tecido cutâneo é dividido em epiderme, porção epitelial de origem ectodérmica, e derme, porção conjuntiva de origem mesodérmica. Sua integridade estrutural e função dependem principalmente da matriz extracelular, constituída por componentes celulares, além de proteínas (colágeno, elastina e fibrina), proteoglicanos (ácido hialurônico e condroitina), glicoproteínas (fibronectina, elaminina), água e eletrólitos (Junqueira; Carneiro, 2013; Gomes; Do Bomfim; Lopes Filho, 2020).

A epiderme é composta pelas camadas: estrato basal, espinhoso, granuloso, lúcido (não presente na pele fina) e córneo, sendo este o mais próximo da superfície

da pele. Três tipos de células se destacam, os queratinócitos, os melanócitos e as células de Langerhans (Nordlund, 2007; Arda; Göksügür; Tüzün, 2014).

As células de Langerhans são células apresentadoras de antígenos derivadas da medula óssea, são encontradas principalmente na camada espinhosa. Durante o processo de envelhecimento e com a exposição solar crônica, a quantidade dessas células diminui, o que pode contribuir para o desenvolvimento de carcinomas (Khavkin; Ellis, 2011).

Os melanócitos, derivados de células da crista neural, produzem a melanina na epiderme, que é armazenada nos melanossomas. Estes são transportados até os queratinócitos adjacentes onde formam uma cápsula sobre o núcleo dessas células para protegê-las contra os efeitos nocivos da radiação UV (Khavkin; Ellis, 2011).

Em 1963, Fitzpatrick e Breathnach propuseram que os melanócitos e os queratinócitos interagem em uma “unidade de melanina epidérmica” para produzir a cor da pele, tanto na pigmentação constitutiva (estado basal), quanto na pigmentação facultativa (bronzamento pela luz solar) (Nordlund, 2007).

Diante da miscigenação, a composição mundial é variada quanto as combinações de tipos de pele, assim é importante a avaliação do fototipo e do grau de fotoenvelhecimento em procedimentos estéticos, uma vez que certas aplicações podem ocasionar complicações como hiperpigmentação, hipopigmentação, cicatrizes e queloides (Roberts, 2009).

A escala de Fitzpatrick foi desenvolvida em 1975 com o intuito de estratificar a pele em fototipos, após sua alteração em 1988 encontra-se seis classificações, sendo o fototipo I mais claro e resistente ao bronzamento e o fototipo VI mais escuro. A escala é principalmente utilizada para avaliar a resposta da pele à radiação UV e a capacidade de se bronzear. Assim, a classificação é caracterizada: I - sempre queima, nunca bronzeia; II - sempre queima, bronzeado mínimo; III - queima minimamente, bronzeia moderada e gradualmente; IV - queima minimamente, bronzeia bem; V - raramente queima, bronzeia profundamente; VI - Pele morena/preta, nunca queima, bronzeia profundamente (Fitzpatrick, 1988; Roberts, 2009; Moreiras *et al.*, 2021).

A escala de Glogau por sua vez classifica o grau de fotoenvelhecimento, considerando a idade provável em relação aos sinais cutâneos e caracteriza também a quantidade de rugas na pele. A escala é dividida em quatro níveis de fotoenvelhecimento, sendo: I - sem rugas, fotoenvelhecimento precoce, entre 20 e 30 anos; II - rugas em movimento, fotoenvelhecimento precoce a moderado, entre 30 e

40 anos; III - rugas em repouso, fotoenvelhecimento avançado, a partir dos 50 anos; IV - apenas rugas, fotoenvelhecimento severo, após os 60 anos (Glogau, 1996; Roberts, 2009).

A derme é a camada que sustenta, nutre e liga a epiderme à hipoderme. É dividida em derme papilar, composta por feixes de colágeno, fibras elásticas, vasos sanguíneos e terminações nervosas, e derme reticular, com fibras colágenas compactas, fibras elásticas mais espessas, parte dos apêndices epidérmicos e redes vasculares e nervosas. A composição celular da derme se dá pelos mastócitos, dendrócitos e fibroblastos, sendo estes últimos que sintetizam as fibras dérmicas. Grande parte das fibras dérmicas são constituídas por colágeno intersticial, principalmente dos tipos I e III, o que propicia resistência mecânica ao tecido cutâneo (Khavkin; Ellis, 2011; Arda; Göksügür; Tüzün, 2014).

O metabolismo das células dérmicas sofre grande influência hormonal, como por exemplo o estrógeno que possui um importante papel no teor de elastina, secreções sebáceas, rugas e fluxo sanguíneo, fazendo com que promova a renovação celular, e estimule a síntese de fibras de colágeno e elastina da epiderme, otimizando a elasticidade da pele (Santos; Mello, 2023).

O envelhecimento é um processo complexo e multifatorial, sendo influenciado por fatores genéticos, hormonais e ambientais. O fotoenvelhecimento é decorrente da exposição a fatores ambientais, mais diretamente à radiação ultravioleta (UV), responsável pela produção de ERO e citocinas pró-inflamatórias que aumentam a expressão das metaloproteinases, enzimas que degradam proteínas na matriz extracelular, como o colágeno tipo I e III. Muitas das funções da pele são reduzidas com o envelhecimento, o que pode ser acentuado na pele fotoenvelhecida (Friedmann; Goldman, 2016; Issa *et al.*, 2016; Sanclemente *et al.*, 2018; Queirós *et al.*, 2020).

A radiação UV consiste em fótons UVA e UVB, um com comprimento de onda mais longo, que penetra camadas mais profundas da pele, produzindo radicais livres, e outro com comprimento de onda mais curto, atingindo a pele de maneira mais superficial. Como resultado à exposição aos raios UV, podem se formar dímeros de timina, que podem causar mortes celulares, como no caso de queimaduras solares, e até levar à transformação maligna das células, os danos significativos ao DNA contribuem para o câncer de pele (Sunder, 2019).

Histologicamente, com o envelhecimento há um achatamento da junção dermoepidérmica, aumentando a fragilidade da pele e reduzindo a troca de nutrientes. A renovação das células epidérmicas diminui, o que dificulta o processo de cicatrização, a derme sofre redução de fibroblastos, há diminuição de tecido adiposo subdérmico, a quantidade e o diâmetro das fibras colágenas diminuem e a proporção entre colágeno tipo III e tipo I aumenta. A pele fotoenvelhecida é caracterizada ainda pela elastose, no qual há acúmulo de elastina abaixo da junção dermoepidérmica (Khavkin; Ellis, 2011).

Clinicamente, esse processo apresenta alterações de textura e pigmentação, rugas, flacidez, cicatrização prejudicada, telangiectasias e, em certos casos, lesões de ceratoses actínicas e câncer de pele não melanoma (Issa *et al.*, 2016; Queirós *et al.*, 2020).

No cuidado da pele, é possível destacar alguns produtos e procedimentos que auxiliam no gerenciamento do envelhecimento. O protetor solar pode agir de forma a absorver, dispersar ou refletir os raios UV, evitando danos ao tecido cutâneo. Dessa forma, esse produto atua como uma importante forma de prevenção ao fotoenvelhecimento (Sunder, 2019).

Os retinoides são um grupo de substâncias que compreendem a vitamina A e seus derivados naturais e sintéticos. Estes se ligam aos receptores do ácido retinoico com domínios de ligação ao DNA, com esse mecanismo contribui para o aumento de fibroblastos e a formação de colágeno e inibem a formação de metaloproteinases. Alguns efeitos colaterais associados ao seu uso são irritação, eritema, descamação e ressecamento, principalmente no início do tratamento e dependendo da frequência de aplicação (Riahi; Bush; Cohen, 2016; Sunder, 2019).

Os alfa-hidroxiácidos (AHAs), com destaque para os ácidos glicólico e lático, são reconhecidos por aumentar a expressão genética do colágeno e do ácido hialurônico, melhorando a hidratação e elasticidade da pele. Sugere-se que o mecanismo de ação seja na adesão das células epidérmicas, de forma a promover esfoliação na pele e crescimento celular (Sunder, 2019).

O ácido ascórbico, mais conhecido como vitamina C, pode ser usado de maneira oral e tópica. É reconhecido por propriedade antioxidante, neutralizando radicais livres, e de síntese de colágeno, pelo estímulo de fibroblastos e de enzimas envolvidas no processo. Quando aplicado em combinação com vitamina E e ácido ferúlico, pode diminuir a formação dos dímeros de timina (Sunder, 2019).

Os fatores de crescimento, como os derivados de plaquetas, atuam estimulando os fibroblastos. Devido ao peso molecular, podem estar associados a tratamentos de laser ou microagulhamento para potencializar a penetração nas camadas da pele (Sunder, 2019).

Quanto a procedimentos estéticos, o ultrassom microfocado é designado para produzir com precisão e profundidade pequenas áreas térmicas de coagulação na camada reticular média a profunda da derme, ocasionando um processo de cicatrização, contração do tecido e produção de novo colágeno (Fabi *et al.*, 2013).

A toxina botulínica é um relaxante muscular injetado nos músculos faciais para suavizar as rugas dinâmicas e retardar o processo de marcação de linhas estáticas. Além disso, injeções de preenchimento com hidrogéis de ácido hialurônico são utilizados para criar contornos faciais desejados e preencher regiões marcadas pelo “derretimento” facial que ocorre no envelhecimento, como no sulco nasolabial (Steenen *et al.*, 2023).

O microagulhamento utiliza pequenas agulhas para criar lesões mecânicas na pele, estimulando a cascata de cicatrização e a formação de novo colágeno. Pode ser utilizado em associação a outras terapias para aumentar a absorção de medicamentos tópicos, fatores de crescimento ou fornecer radiofrequência diretamente na derme (Spataro; Dierks; Carniol, 2022).

A pele é foco de vários procedimentos estéticos, uma vez que compõe a identidade pessoal e pode afetar a autoestima e a imagem social de um indivíduo. As alterações causadas pelo envelhecimento intrínseco ou pelo fotoenvelhecimento, como rugas, flacidez, pigmentações, podem gerar desconforto e ainda comprometer a saúde integral da pele e as funções que desempenha, sendo importante que técnicas e tratamentos sejam estudados e aprimorados para o melhor gerenciamento do envelhecimento.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a eficiência da terapia fotodinâmica na redução dos sinais de fotoenvelhecimento, com ALA e MAL a 2% e luz de LED âmbar (590 +/- 10 nm) e laser infravermelho (808 nm +/- 10 nm) associados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o tempo de incubação dos fármacos a partir da produção de PpIX;
- Quantificar a produção de PpIX após converter as imagens do sistema de detecção *Lince* da *MM Optics* em histogramas;
- Avaliar alterações nos sinais de fotoenvelhecimento após a TFD pela documentação fotográfica.
- Analisar características de umidade e oleosidade da pele antes e após o tratamento;
- Analisar sensorialmente e por questionário de autopercepção características da pele antes e após a TFD;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa clínica realizada apresenta caráter unicêntrico, retrospectivo e comparativo (Comitê de Ética em Pesquisa – número do parecer: 5.942.007).

As participantes foram recrutadas seguindo como critérios de inclusão: participantes do gênero feminino, com 40 a 55 anos de idade (segundo a Classificação de Fotoenvelhecimento de Glogau (Glogau, 1996), entre essas idades geralmente encontram-se os tipos II a III de pele fotoenvelhecida), com fototipos de I a IV segundo a Classificação de Fitzpatrick (Fitzpatrick, 1988), com condições físicas de atender às sessões de avaliação e tratamento e que apresentem fotoenvelhecimento definido pelos critérios: presença de hiperpigmentação irregular, alterações texturais, rugas finas e profundas.

Os critérios de exclusão foram: histórico de porfiria, fotossensibilidade ou uso recente de drogas fotossensibilizantes, incluindo retinoides sistêmicos ou uso recente de ácido retinoico tópico; doença de pele recente, operação, trauma ou doença sistêmica que possa afetar o estado da pele; doenças sistêmicas sem controle clínico (diabetes, hipertensão arterial, doenças autoimunes); procedimentos estéticos, como toxina botulínica, preenchimento dérmico, *resurfacing* a laser, peelings químicos, dermoabrasão ou tratamentos de rejuvenescimento não ablativos realizados nos seis meses que precedem a inscrição ao estudo; grávidas; lactantes; distúrbio de cicatrização confirmado por exame clínico; ausência nas visitas de seguimento do estudo; não autorizar o uso de dados e imagens para a pesquisa.

Uma participante voluntária foi escolhida aleatoriamente para o estudo piloto realizado para determinar a diferença de tempo (ΔT) de incubação dos precursores da PpIX, no qual os procedimentos no protocolo clínico foram seguidos quanto à higiene da pele e aplicação do precursor da PpIX tópico (ALA na face lado direito e MAL no esquerdo), e então, a cada trinta minutos foi evidenciada a produção da PpIX para determinar o tempo ótimo de incubação.

Após o recrutamento de onze participantes, dois grupos foram divididos aleatoriamente por sorteio, sendo um grupo tratado com ALA-TFD, contendo seis participantes, e outro com MAL-TFD, com cinco participantes.

Para a avaliação foram mantidas as seguintes condições: iluminação fluorescente artificial, ausência de iluminação natural; pele sem maquiagem.

Com auxílio dos dispositivos *Skin Analyser* Digital SKN1501 e Analisador de Fototipo de Pele Digital SKN1802 da marca *SkinUp*, foi possível quantificar a umidade e a oleosidade em percentuais e indicar o fototipo da pele dentro da classificação de Fitzpatrick, respectivamente.

A documentação fotográfica foi padronizada utilizando em todo o estudo a câmera de um único dispositivo smartphone (Apple iPhone SE 2020 com câmera de 12 megapixels). As fichas e questionários aplicados na anamnese estão dispostos na ordem de entrega à participante na seção Anexos (Anexos B e C).

O protocolo clínico foi realizado conforme as seguintes etapas:

1. Higiene da pele na região a ser tratada: Foi utilizado um Kit com gel de limpeza, esfoliante e água micelar para peles mistas a oleosas para remover as impurezas e controlar a oleosidade, garantindo boa penetração do fotossensibilizador tópico. Como aplicar: 1 - Água micelar: Umedecer um algodão com a água micelar e aplicar sobre a pele. Não é necessário enxaguar. 2 - Gel de limpeza: Aplicar o gel sobre a pele úmida e massagear em movimentos circulares. Retirar completamente o produto com auxílio de algodão com água. 3 - Esfoliante: Aplicar o esfoliante sobre o rosto com movimentos circulares delicados. Retirar completamente o produto com auxílio de algodão com água. Após a limpeza da pele, foi feita a antissepsia com clorexidina 2%.
2. Evidenciador de PpIX: Antes da aplicação do precursor tópico, foi observada a fluorescência da pele com o sistema de detecção Lince da MM Optics e coletadas as imagens (com o mesmo dispositivo das fotos da avaliação), servindo assim de controle à produção de PpIX evidenciada após a incubação com o fármaco.
3. Aplicação do precursor tópico: O fármaco, adicionado em creme base, foi utilizado na concentração de 2% e aplicado utilizando um pincel espátula de silicone para *skincare*, formando uma camada fina e uniforme sobre a região a ser tratada. Para evitar a ativação do produto, a sala foi mantida na ausência de luz durante o procedimento. Após a incubação, a Protoporfirina IX foi evidenciada e as imagens pré-irradiação foram capturadas.
4. A seguir, foi realizada a irradiação com o equipamento *Elite-Olympus* da empresa DMC Equipamentos, no qual a manopla permite a emissão de 8 LEDs âmbar e 2 lasers infravermelho, com comprimento de onda em 590 +/- 10 nm e 808 +/- 10 nm, respectivamente, com potência máxima de 100 mW por emissor, por 5 fases de um

minuto, sendo a primeira com emissão contínua e as demais pulsadas, sendo o intervalo entre pulsos de 152 a 500 milissegundos.

5. No pós-irradiação, foi evidenciada a degradação da PpIX e realizada a coleta das imagens.
6. Foi feita a limpeza da pele com o gel utilizado no primeiro passo do protocolo e, em seguida, o protetor solar foi aplicado corretamente na região tratada.
7. Após a sessão de tratamento as participantes receberam as orientações pós-tratamento (Anexos – Anexo D).
8. Ao todo foram realizadas quatro sessões com intervalo de aproximadamente 30 dias. Após 30 dias da quarta sessão, as participantes retornaram para acompanhamento de resultados e realização da documentação fotográfica necessária.

A figura 2 apresenta o equipamento *LINCE (Light in cell)*, que é um dispositivo médico que utiliza a luz emitida por LEDs para auxiliar na terapia fotodinâmica, composto por duas peças, à direita, um sistema de diagnóstico, que emite a 405 +/- 10 nm e coleta a imagem da formação da protoporfirina IX induzida pela aplicação tópica de um precursor na pele.

Figura 2: Equipamento LINCE da MM Optics.



Fonte: MM Optics, 2017.

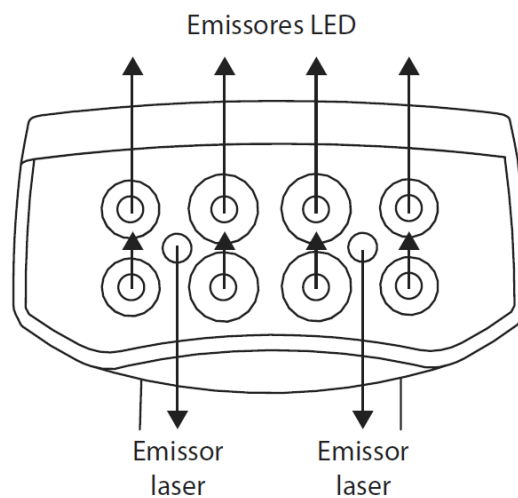
A figura 3 apresenta o equipamento *Elite-Olympus*, que possui duas peças de mão, uma emite luz laser vermelha, luz LED azul e luz LED violeta e a segunda peça de mão emite luz laser infravermelha e luz LED âmbar, que, como representada na figura 4, possui dois lasers infravermelhos e oito LEDs âmbar.

Figura 3: Equipamento Elite-Olympus da DMC Equipamentos.



Fonte: DMC Equipamentos, 2020.

Figura 4: Representação da manopla do equipamento Elite-Olympus.



Fonte: DMC Equipamentos (2020).

Tem-se como reações esperadas: dor e sensação de queimação durante a aplicação do fotossensibilizador ou do tratamento, fotossensibilidade, edema, eritema, descamação e alterações na pigmentação nos dias subsequentes ao tratamento. Compressas geladas e cremes calmantes podem ser utilizados para aliviar as reações.

As imagens vistas pelo evidenciador *Lince* foram capturadas em dez regiões da face, na seguinte ordem: centro da frente, porção esquerda da frente, orbicular do olho esquerdo, malar esquerdo, sulco nasolabial esquerdo, mento, sulco nasolabial direito, malar direito, orbicular do olho direito, porção direita da frente.

O método proposto neste estudo tem como objetivo a análise de imagens por meio da comparação de histogramas de cor. Este método é aplicável em estudos de documentação fotográfica, controle de qualidade de imagens e análises comparativas em pesquisas científicas.

Após a aquisição, as imagens foram convertidas em HSV (*Hue, Saturation, Value*) para melhor evidenciar a produção de PpIX pela fluorescência. A partir dos histogramas, as imagens processadas foram comparadas utilizando o coeficiente de Bhattacharyya. Os histogramas são uma maneira de representar as imagens como distribuições de probabilidade, nas quais o coeficiente de Bhattacharyya pode ser aplicado para medir a similaridade entre as fotos. Quanto maior o coeficiente, maior similaridade há entre as distribuições de probabilidade e, portanto, entre as imagens (Comaniciu; Meer, 2002). As análises quantitativas foram realizadas pela média dos dados das participantes de cada grupo obtidos em cada região, comparando as quatro sessões de tratamento, e os dados foram submetidos à análise ANOVA *Two-way* e aos testes de comparações múltiplas de Tukey.

As imagens da documentação fotográfica foram analisadas qualitativamente, comparando linhas de expressão, rugas finas, contorno e flacidez da face.

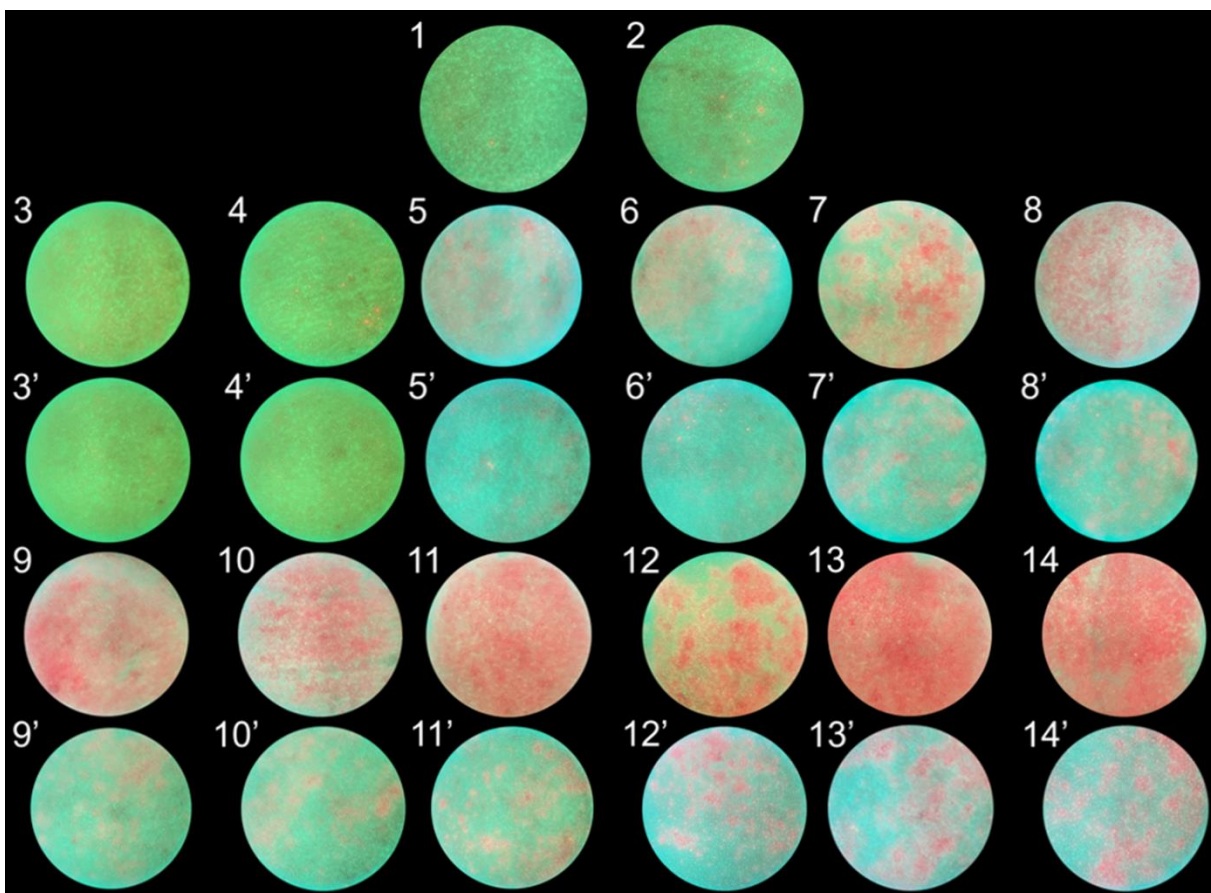
5 RESULTADOS

Com o auxílio do sistema de detecção Lince, foi possível coletar imagens que evidenciam a produção de PpIX após a aplicação dos fármacos para escolher entre 30 minutos e 3 horas qual o tempo adequado de incubação a ser utilizado no estudo.

Na figura 5, pode ser observada de maneira qualitativa a diferença entre o ALA e o MAL, uma vez que o ALA apresenta maior resposta de produção do fotossensibilizador endógeno desde a primeira hora de incubação.

Após evidenciar que a partir de 1 hora os registros do ALA na face indicam boa produção de PpIX e o MAL apresentou uma produção mais acentuada após 1 hora e 30 minutos, períodos superiores foram descartados e foi utilizado o tempo de 1 hora e 30 minutos em ambos os grupos.

Figura 5: Produção de Protoporfirina IX evidenciada pelo sistema de detecção Lince da MM Optics no estudo piloto. As imagens 1 e 2 marcam o tempo 0 (controle), de 3 a 14 representam a resposta do ALA e de 3' a 14', do MAL, sendo organizadas em ordem crescente de tempo de incubação: 30 minutos, 1 hora, 1 hora e 30 minutos, 2 horas, 2 horas e 30 minutos e 3 horas, respectivamente, com duas fotos para cada tempo descrito.

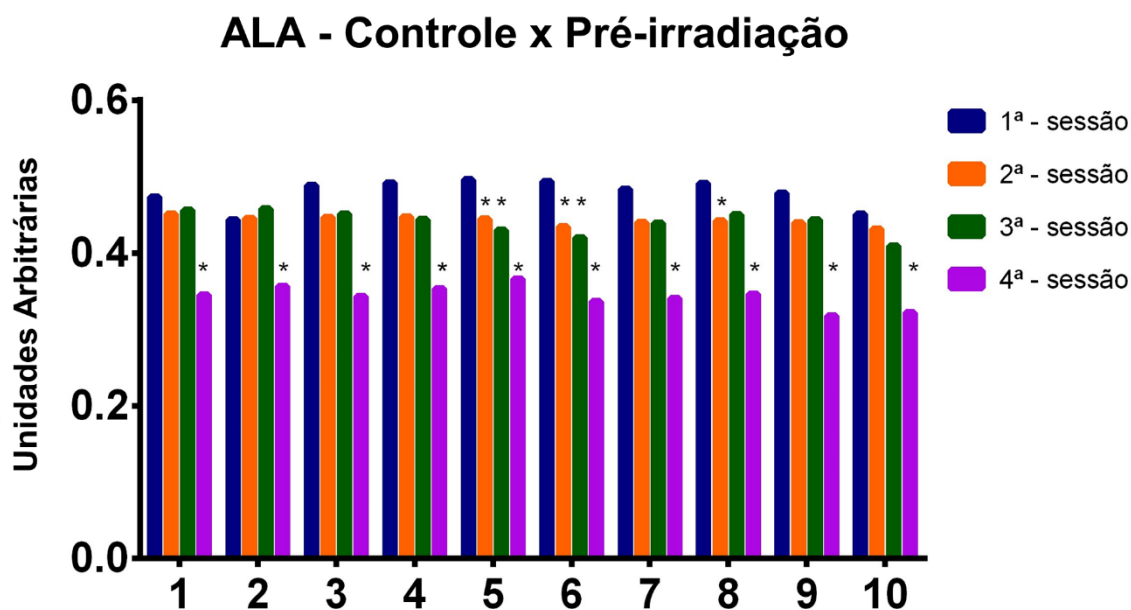


Fonte: Autora.

Após converter as imagens da produção de PpIX em histogramas, foi possível compará-las aplicando o coeficiente de Bhattacharyya. As figuras 6, 7, 8 e 9 representam as análises quantitativas.

Como supracitado, quanto maior o coeficiente, maior similaridade há entre as distribuições de probabilidade e, portanto, entre as imagens. Nos resultados das comparações do grupo ALA entre as sessões nas imagens de controle e pré-irradiação (figura 6) é possível avaliar que em todas as regiões há uma diferença de mais de 50%, com destaque para a 4ª sessão, em que o coeficiente tem valor próximo a 0,3, ou seja, o período de 1 hora e 30 minutos de incubação foi capaz de produzir fluorescência, indicando uma boa produção de PpIX. Como a 1ª sessão é a mais similar, pode-se sugerir que ao longo dos meses de tratamento a diferença evidenciada na fluorescência foi maior. A análise ANOVA two-way e os testes de comparações múltiplas de Tukey sugerem uma diferença significativa entre a 4ª sessão e as demais.

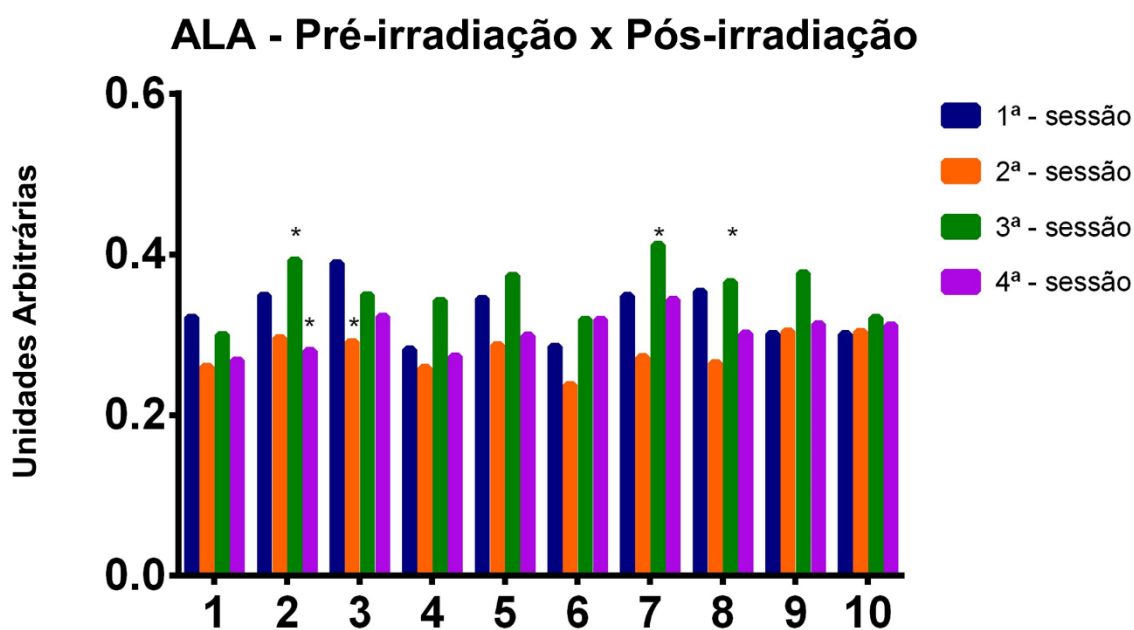
Figura 6: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de controle e pré-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo ALA nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.



Fonte: Autora.

Já entre as imagens de pré-irradiação e pós-irradiação (figura 7), é possível avaliar que as médias entre as sessões variaram e a maior parte das comparações entre as sessões não foram estatisticamente significativas, mas em todas as regiões há uma diferença de mais de 60%, o que indica que a fluorescência evidenciada sofreu alterações após a irradiação com LED e laser. Destaca-se as comparações entre 2ª e 3ª sessão nas regiões 2, 7 e 8 em que o teste de Tukey identificou diferenças com significância estatística, casos marcados com "*".

Figura 7: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de pré-irradiação e pós-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo ALA nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.

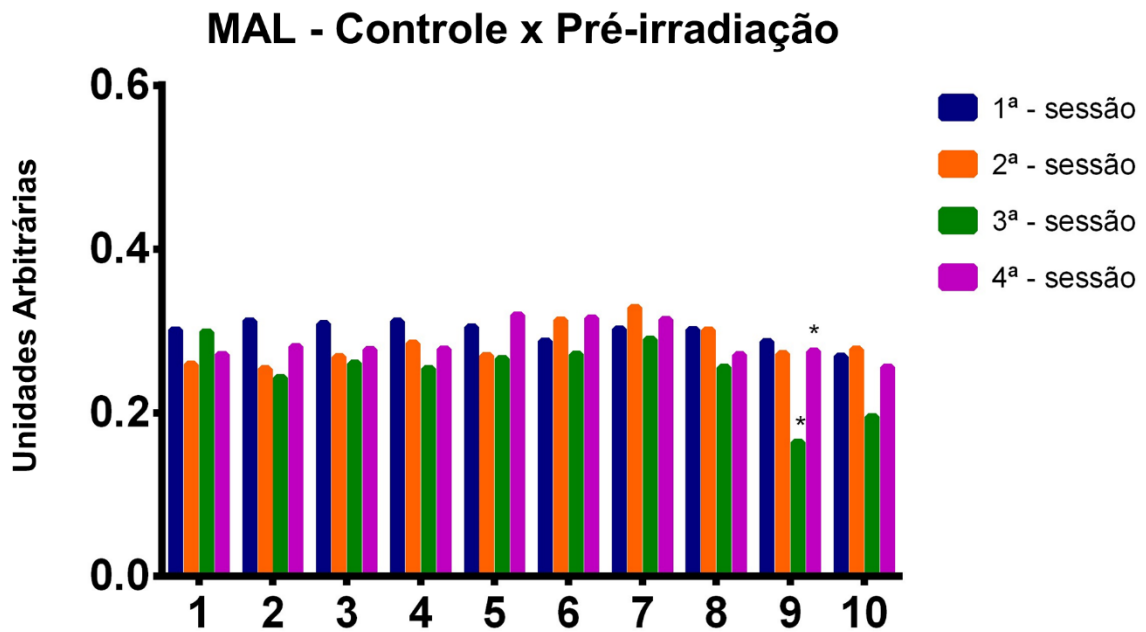


Fonte: Autora.

Nos resultados das comparações do grupo MAL entre as sessões nas imagens de controle e pré-irradiação (figura 8), é possível avaliar que em todas as regiões há uma diferença de aproximadamente 70%, com destaque para a 3ª sessão nas regiões 9 e 10, com mais de 80% de diferença. A ANOVA mostra um fator de linha e um fator de coluna com significâncias estatísticas de $p=0,0226$ e $p=0,0005$, respectivamente, sugerindo que tanto as diferentes regiões de medição (linha) quanto as sessões (coluna) tiveram impactos significativos nos resultados. No teste de comparações

múltiplas de Tukey, a região 9 apresentou diferenças significativas na 3ª sessão de tratamento.

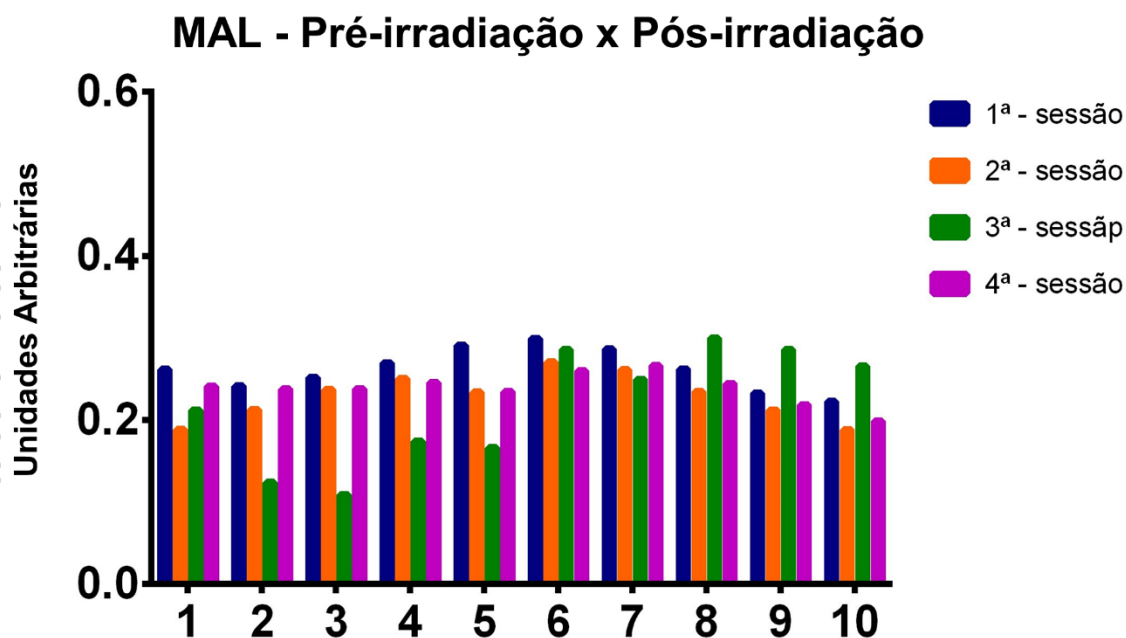
Figura 8: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de controle e pré-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo MAL nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.



Fonte: Autora.

Já entre as imagens de pré-irradiação e pós-irradiação do grupo MAL (figura 9), é possível avaliar que as médias entre as sessões variaram, principalmente ao comparar a 3ª sessão com as demais nas regiões 2, 3, 4 e 5. Em todas as regiões há uma diferença de mais de 70%, o que indica que a fluorescência evidenciada sofreu alterações após a irradiação com LED e laser. A análise ANOVA two-way e os testes de comparações múltiplas de Tukey não indicam uma variação significativa entre as sessões.

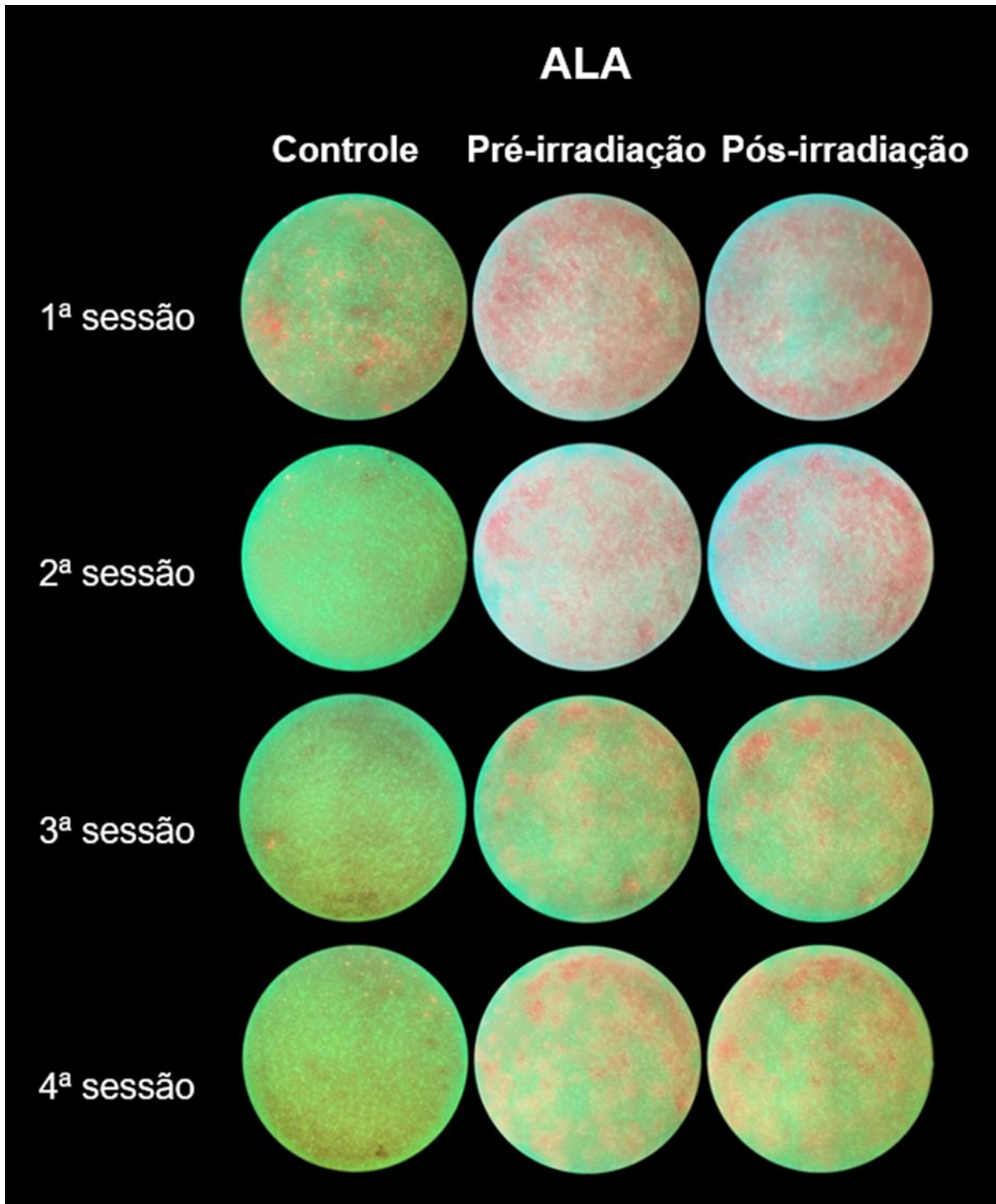
Figura 9: Comparação do coeficiente de Bhattacharyya aplicado aos histogramas de pré-irradiação e pós-irradiação das quatro sessões de tratamento do grupo MAL nas dez regiões de análise da face, sendo 1: centro da frente; 2: porção esquerda da frente; 3: orbicular do olho esquerdo; 4: malar esquerdo; 5: sulco nasolabial esquerdo; 6: mento; 7: sulco nasolabial direito; 8: malar direito; 9: orbicular do olho direito; 10: porção direita da frente.



Fonte: Autora.

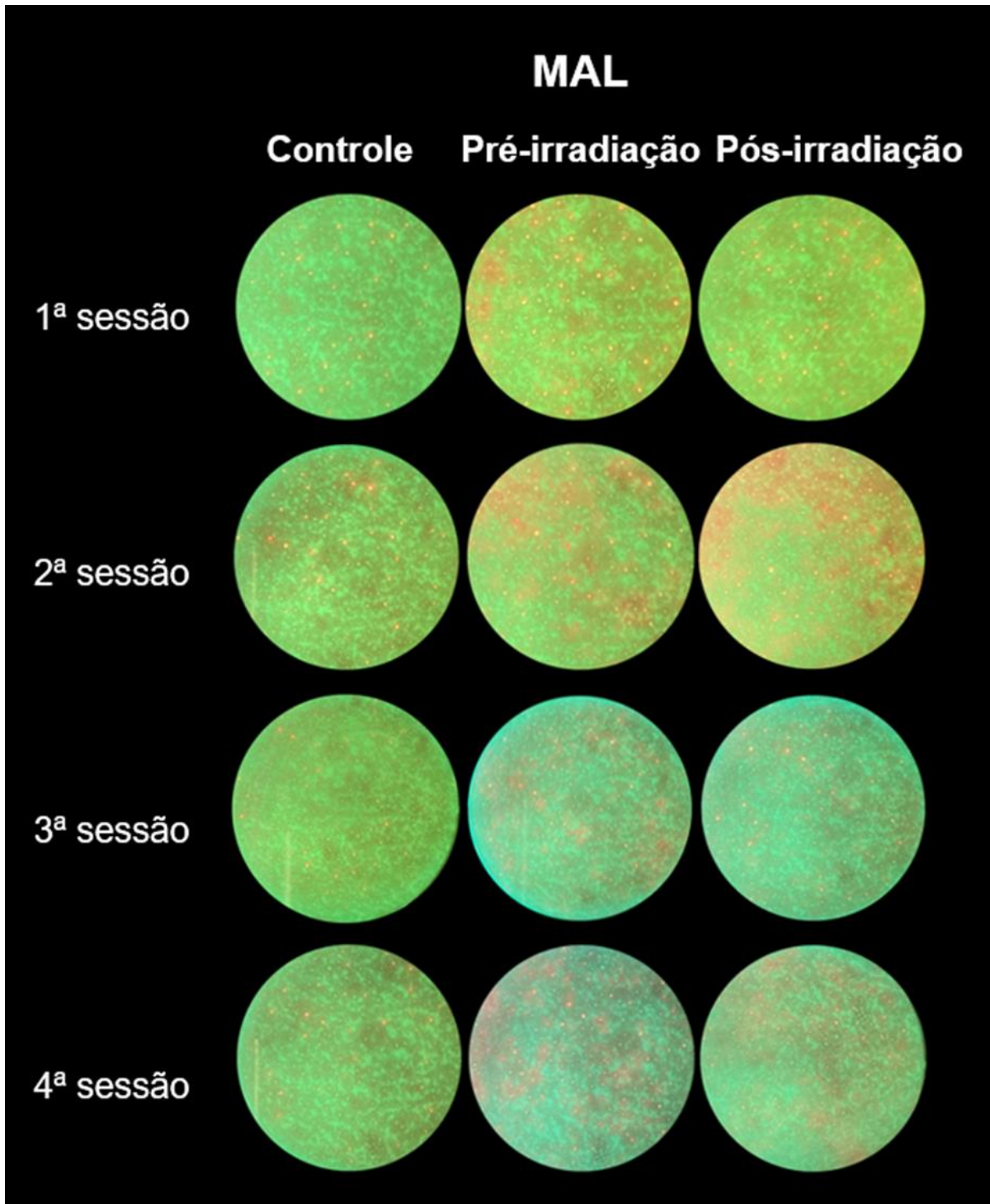
Para demonstrar as variações da evidência da PpIX, as figuras 10 e 11 dispõem o comportamento dos fármacos na região do malar. Na análise qualitativa, visualmente o ALA parece ter gerado maior alteração após a incubação devido à cor, entretanto, quando observamos os pontos de fluorescência é possível relacionar com as análises quantitativas, por exemplo na figura 10 a imagem da 4ª sessão (pré-irradiação) fluoresce mais que a da 1ª sessão. Entre controle e pré-irradiação há diferença notável de fluorescência, indicando a atividade do ALA e do MAL enquanto precursores da PpIX.

Figura 10: Comparação qualitativa da fluorescência evidenciada pelo sistema de detecção Lince indicando a produção de PpIX nas quatro sessões de tratamento do grupo ALA.



Fonte: Autora.

Figura 11: Comparação qualitativa da fluorescência evidenciada pelo sistema de detecção Lince indicando a produção de PpIX nas quatro sessões de tratamento do grupo MAL.



Fonte: Autora.

As figuras 12 e 13 apresentam a documentação fotográfica dos grupos ALA-TFD e MAL-TFD respectivamente. As fotos foram capturadas antes das sessões de tratamento, revelando assim o resultado da sessão anterior, então estão dispostas

respectivamente como controle e resultados da 1ª, 2ª, 3ª e 4ª sessão, com aproximadamente 30 dias entre cada.

Figura 12: Documentação fotográfica das participantes do grupo ALA-TFD. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



Fonte: Autora.

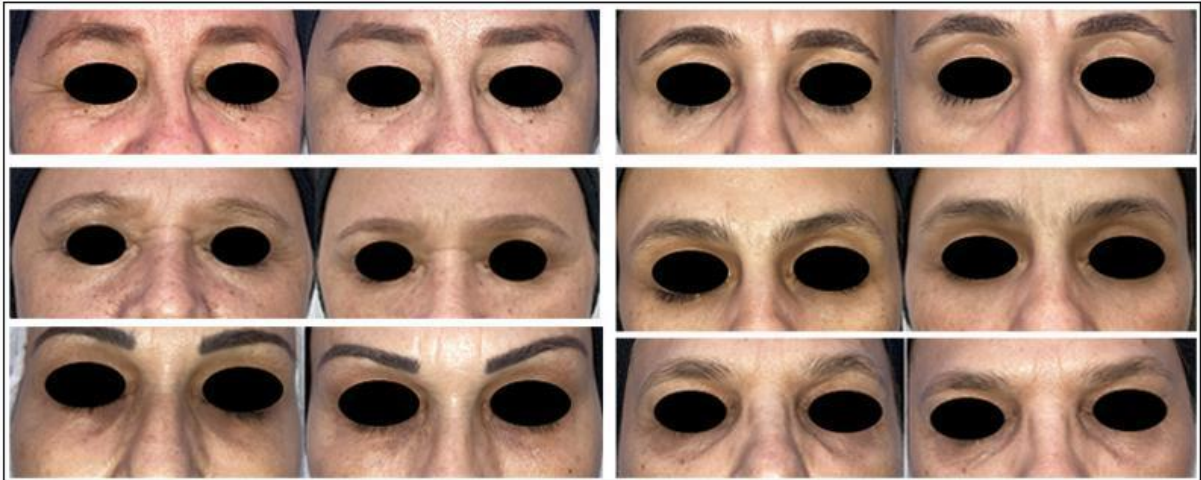
Figura 13: Documentação fotográfica das participantes do grupo MAL-TFD. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



Fonte: Autora.

Ambos os grupos obtiveram resposta favorável ao tratamento, as alterações mais evidentes são redução de linhas finas, principalmente na região dos olhos, contorno da face e suavização da marcação do sulco nasolabial. Para melhor observação dessas regiões, as figuras 14 a 17 foram preparadas a partir de cortes das fotografias das participantes de cada grupo.

Figura 14: Cortes fotográficos da região dos olhos de participantes do grupo ALA-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



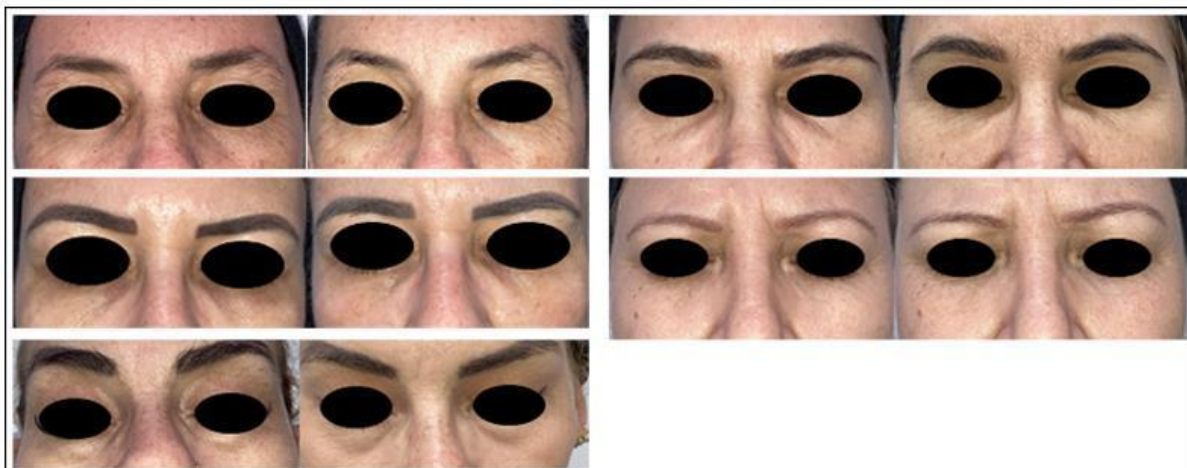
Fonte: Autora.

Figura 15: Cortes fotográficos da região do sulco nasolabial de participantes do grupo ALA-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



Fonte: Autora.

Figura 16: Cortes fotográficos da região dos olhos de participantes do grupo MAL-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



Fonte: Autora.

Figura 17: Cortes fotográficos da região do sulco nasolabial de participantes do grupo MAL-TFD para evidenciar a redução de linhas finas nessa área da face. As imagens apresentam respectivamente controle e aproximadamente 30 dias após a 4ª sessão de tratamento.



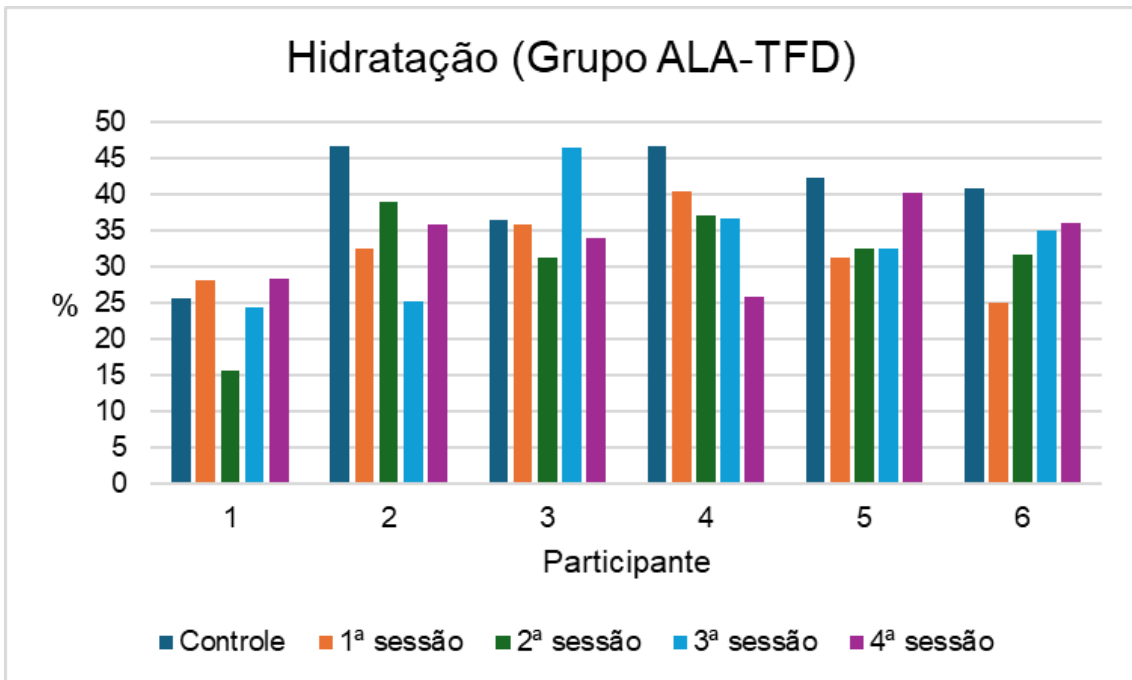
Fonte: Autora.

Na figura 17, vale ressaltar que a primeira participante da segunda coluna obteve perda de peso significativa durante os meses de tratamento, não relacionado ao estudo, a redução do tecido adiposo provocou marcação superior ao início do tratamento no sulco nasolabial.

Com o Analisador de Fototipo de Pele Digital SKN1802 foi possível observar que todas as participantes apresentam fototipo IV. Nos mesmos momentos em que a documentação fotográfica foi feita, realizou-se a medição dos níveis em porcentagem de umidade e oleosidade da pele com o dispositivo *Skin Analyser* Digital SKN1501.

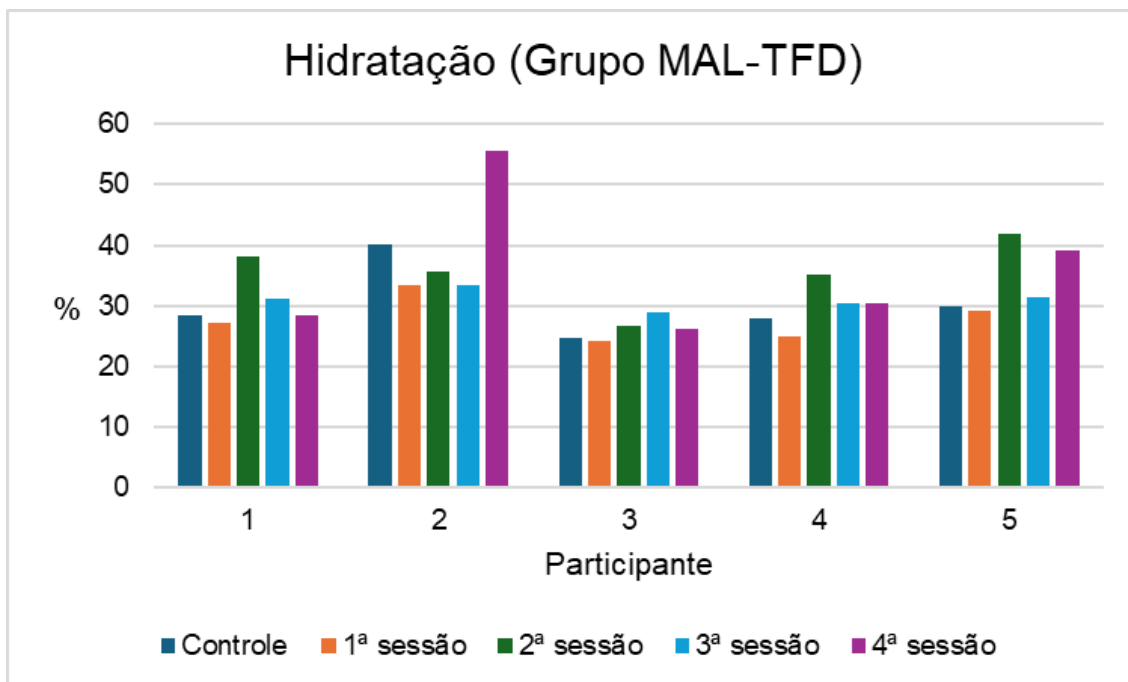
As figuras 18 e 19 representam a hidratação da pele dos grupos ALA-TFD e MAL-TFD, respectivamente, e as figuras 20 e 21 a oleosidade da pele, dispostas na mesma ordem. Os resultados foram analisados pela média dos valores obtidos em quatro regiões: fronte, malar direito e esquerdo e mento.

Figura 18: Percentual de hidratação da pele das participantes do grupo ALA-TFD durante os meses de tratamento.



Fonte: Autora.

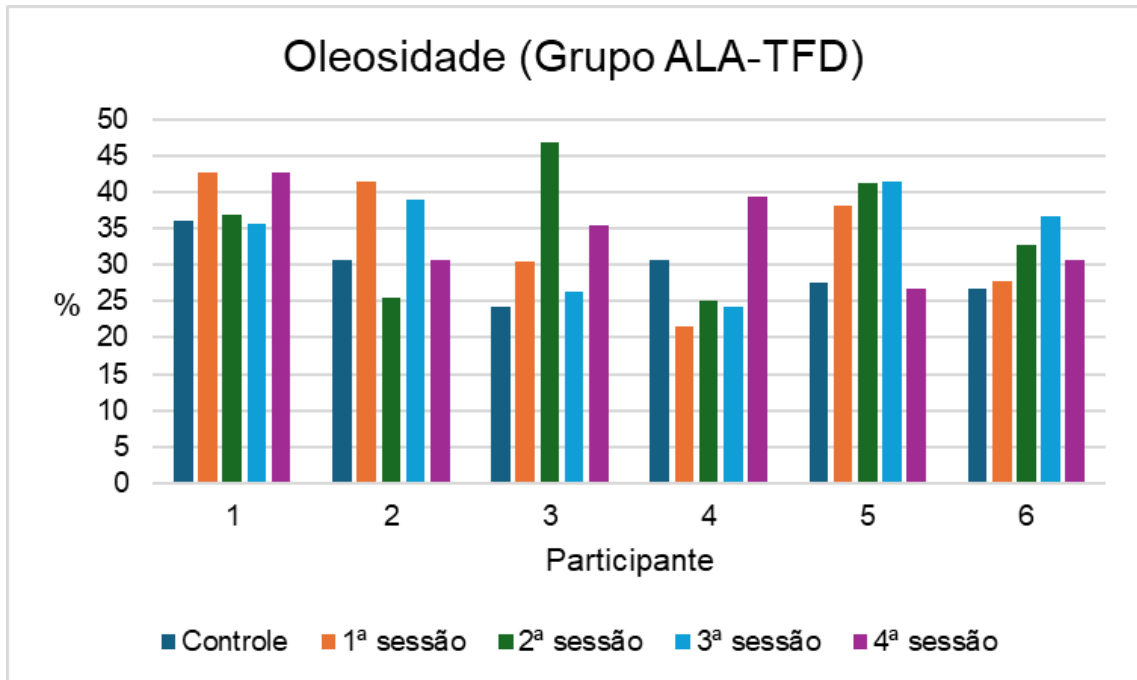
Figura 19: Percentual de hidratação da pele das participantes do grupo MAL-TFD durante os meses de tratamento.



Fonte: Autora.

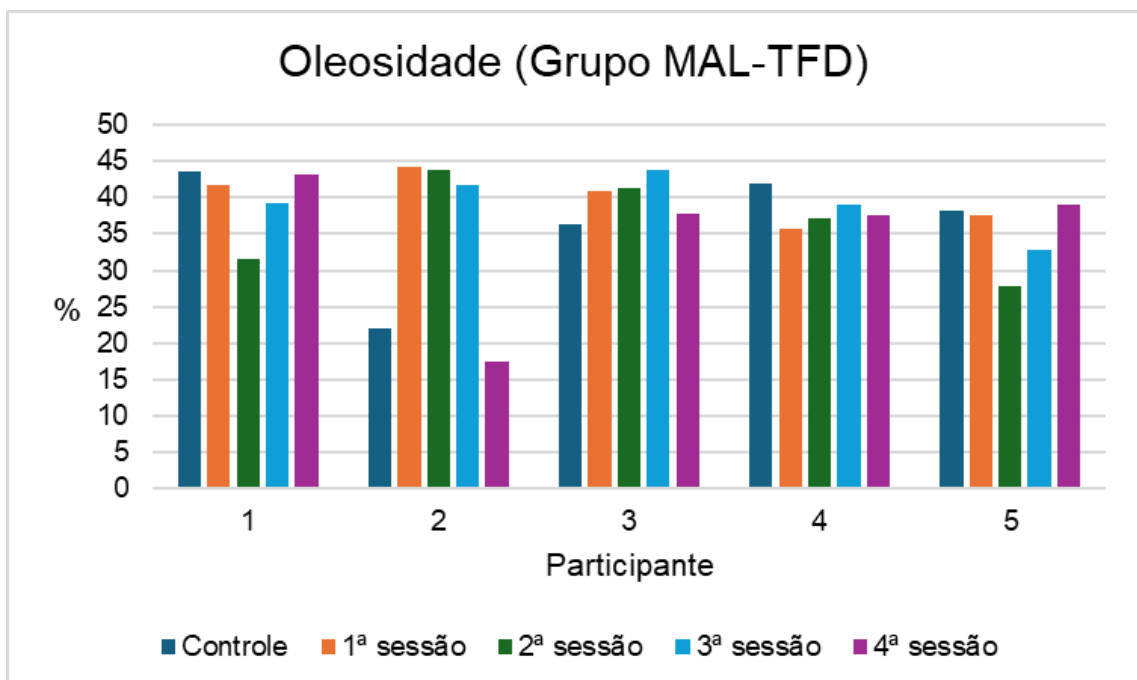
No grupo ALA-TFD, quando comparado o controle com a última medição é possível observar que em cinco participantes o nível de hidratação da pele foi menor após aproximadamente 30 dias da última sessão de tratamento. Já no grupo MAL-TFD, o oposto foi observado, em quatro participantes o nível de hidratação foi maior após a 4ª sessão, entretanto os dados analisados são bem heterogêneos.

Figura 20: Percentual de oleosidade da pele das participantes do grupo ALA-TFD durante os meses de tratamento.



Fonte: Autora.

Figura 21: Percentual de oleosidade da pele das participantes do grupo MAL-TFD durante os meses de tratamento.



Fonte: Autora.

No grupo ALA-TFD, quando comparado o controle com a última medição é possível observar que em cinco participantes o nível de oleosidade da pele foi maior

após aproximadamente 30 dias da última sessão de tratamento. Já no grupo MAL-TFD, o oposto foi observado, em três participantes o nível de oleosidade foi menor após a 4ª sessão e em duas participantes os maiores níveis foram após as três primeiras sessões, entretanto os dados analisados são bem heterogêneos.

Quanto ao questionário de autoavaliação (ANEXO B) aplicado antes de iniciar o tratamento, as alterações na pele apontadas como maiores incômodos entre as participantes foram: ressecamento, rugas finas, rugas profundas, manchas escuras, flacidez e bolsas e olheiras. Nos cuidados à pele facial, seis participantes já faziam uso de protetor solar diariamente, quatro de hidratante e uma delas de vitamina C. Os procedimentos estéticos já realizados previamente ao início do estudo foram: microagulhamento, peelings e laser (no mínimo seis meses antes) e botox, fios de sustentação e bioestimuladores de colágeno (cerca de dois anos antes).

Nas perguntas gerais, apenas uma participante relatou ser fumante, dez não fazem uso de método anticoncepcional, seis delas já na fase de menopausa. Quanto à ingestão hídrica diária, apenas duas participantes relataram ingerir mais de 10 copos de água, quatro bebem de 7 a 9 e cinco bebem 6 copos ou menos. Nas participantes que se hidratam menos, como as duas participantes que ingerem de 1 a 3 copos de água por dia, é possível notar ressecamento da pele e os níveis de hidratação menores (participante 1 da figura 18 e participante 3 da figura 19).

Quanto à exposição e proteção solar atual, nove participantes se expõem menos de 1 hora por dia, 1 entre 1 e 3 horas por dia e 1 entre 3 e 6 horas por dia, para todas o motivo da exposição é apenas para deslocamento entre um local e outro. Apenas seis participantes utilizam protetor solar todos os dias (mesmo em dias nublados), mas apenas 3 delas reaplicam o produto.

Quanto à exposição e proteção solar até os 15 anos de idade, cinco participantes se expunham entre 1 e 3 horas por dia, quatro entre 3 e 6 horas por dia e duas menos de 1 hora por dia, e nunca (quatro participantes) ou raramente (seis) utilizavam protetor solar. Entre 26 e 35 anos, a maioria se expunha ao sol menos de 1 hora por dia (oito), mas apenas duas sempre utilizavam protetor solar, a maioria (cinco) raramente utilizava.

Aproximadamente 30 dias após a última sessão as participantes preencheram a ficha de autoavaliação pós-tratamento (ANEXO C). A maioria (nove participantes) classificou o desconforto durante as sessões como mínimo e nenhuma classificou como máximo. Apenas uma participante (grupo MAL) não percebeu algum tipo de

melhora em sua pele e não recomendaria o tratamento para alguém, todas as demais participantes o recomendariam e citaram como aspectos de melhora: rugas finas (cinco participantes o apontaram, sendo o mais notado), viço (três participantes), oleosidade, redução de manchas e ressecamento. Em uma escala de 0 a 10, a média de satisfação das participantes foi de 8,36, sendo o grupo ALA o que apresentou as melhores notas.

Quando questionadas sobre mudança de hábitos nos meses de tratamento, dez participantes relataram ter utilizado o protetor solar com mais frequência, cinco aumentaram a ingestão diária de água e duas reduziram o peso corporal.

6 DISCUSSÃO

De acordo com o descrito na literatura, a TFD pode apresentar como resultados o aumento do colágeno tipo I e a redução de material elastótico na derme, reduzindo e até revertendo sinais de fotoenvelhecimento (Morton *et al.*, 2020).

O FS é um componente primordial para o sucesso da terapia, por isso a escolha e o tempo de incubação são pontos importantes a serem considerados. O tempo de incubação é um dos parâmetros que varia nos protocolos de tratamento com ALA-TFD e MAL-TFD descritos na literatura, podendo estar entre 1 e 20 horas (Goldberg, 2008; Issa *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2016). Diante disso, o estudo piloto fez-se necessário para a determinação do período de 1 hora e 30 minutos utilizado em todo o estudo, levando em conta tanto a produção de PpIX, essencial para as reações fotoquímicas da terapia, quanto o conforto e a disponibilidade de tempo das participantes.

A composição química e a concentração do fármaco influenciam a produção do FS endógeno, como afirmado por Juzeniene e colaboradores (2006), que em seu estudo uma concentração de 2% de MAL induziu produção de PpIX, mas significativamente menor em comparação com ALA na mesma concentração, corroborando com os achados do presente estudo. O MAL é um derivado esterificado do ALA, e mais lipofílico (Goldberg, 2008), o que pode aumentar a capacidade de penetração no estrato córneo, sendo assim, é possível que a diferença de fluorescência observada entre os grupos ALA-TFD e MAL-TFD esteja relacionada à ação mais superficial do ALA.

Outro fator a ser considerado diz respeito à produção de PpIX, que necessita de um processo biossintético no qual há descarboxilação e oxidação do ALA ($C_5H_9NO_3$). Sugere-se que a presença do metil na fórmula química do MAL ($C_6H_{11}NO_3$) retarde o processo de síntese da PpIX, pela presença de um radical a mais na estrutura da molécula, o que corrobora com as análises de fluorescência realizadas, em que o ALA produziu maior quantidade de PpIX quando comparado ao MAL em tempos iguais. Os resultados de Fujita e colaboradores (2016) sugerem que uma mistura de 50% de ALA e MAL no tratamento aumentam a produção de PpIX em quantidade, homogeneidade e tempo quando comparado com ALA e MAL isolados, com impacto positivo no dano fotodinâmico, otimizando a TFD.

No mesmo estudo de Juzeniene e colaboradores (2006), notou-se que a fluorescência de PpIX induzida por ALA e MAL mostra grande variabilidade entre diferentes participantes, o que pode estar relacionado ao espessamento do estrato

córneo e da epiderme após a exposição solar, uma vez que a pele humana exposta frequentemente à radiação solar produz menos PpIX do que a pele exposta mais raramente.

Para o presente estudo com foco em rejuvenescimento, a população amostral selecionada apresentava diferentes graus de fotoenvelhecimento, além disso, o range etário tem uma variação de mais de uma década, entre 40 e 55 anos de idade, o que pelo processo de envelhecimento intrínseco já mostra alterações de espessura e composição da pele madura. As imagens das regiões mais oleosas, como a da fronte e do mento, evidenciam de forma mais acentuada a ação dos fármacos por serem áreas com produção significativa de sebo, o que melhora sua absorção (Gold, 2008; Haddad, 2010).

É possível observar pelos dados quantitativos e qualitativos que entre controle e pré-irradiação há grande diferença de fluorescência, indicando a biodistribuição do ALA e do MAL no período de 1 hora e 30 minutos e sua atividade enquanto precursores da PpIX. Entre os momentos pré e pós-irradiação é possível analisar maiores diferenças pelos dados quantitativos, que indicam que a fluorescência evidenciada sofreu alterações após reagir com a irradiação com LED e laser.

Embora a TFD em altas fluências de luz e/ou de concentração de fármaco tenha boa eficácia, os efeitos colaterais como eritema, edema, dor e hiperpigmentação pós-inflamatória podem reduzir significativamente a tolerância e a adesão dos pacientes. Ao utilizar baixa fluência de luz e/ou concentração de fármacos, há uma redução desses efeitos adversos (Zhang; Liu; Wang, 2023). Huang e colaboradores (2020) atribuem a diminuição de dor sentida pelas participantes em seus estudos à concentração de 2% de ALA utilizada.

A dor sentida durante a terapia é imprevisível diante da complexidade de cada organismo humano, mas parece estar mais associada ao ALA do que ao MAL (Ang *et al.*, 2017). Uma vez que o ALA atinge camadas mais superficiais, é possível que as pacientes sintam maior sensação de dor e queimação durante o tratamento, o que pode ser causa das participantes que apontaram desconforto médio no presente protocolo serem do grupo ALA-TFD. Além do desconforto, as participantes (2) que apresentaram descamação mais acentuada da pele como reação nos dias seguintes às sessões de tratamento também foram do grupo ALA, entretanto é válido ressaltar que o nível de descamação depende da espessura da pele.

Zhang e colaboradores (2014) também sugerem que a alta concentração de

ALA e a longa incubação resultam frequentemente em aumento da gravidade dos efeitos adversos, tais como eritema e edema, avaliam ainda que a concentração mais baixa e o tempo de contato mais curto, por exemplo ALA a 5% por 2 horas, pode ser um protocolo de fotorejuvenescimento melhor. Menezes e colaboradores (2020) sugerem que a TFD na área estética e dermatológica, pode ser aplicada com segurança utilizando 2% de ALA, apresentando resposta inflamatória mais leve.

Outro ponto primordial para a eficácia da terapia é a escolha da luz que irá reagir com o fotossensibilizador. No presente estudo foi utilizada a associação entre a luz de LED âmbar, que atua no reparo tecidual e modula a resposta inflamatória e vascularização da pele, e o laser infravermelho, que promove efeito analgésico, hidratação nas diferentes camadas da pele e melhora o tônus muscular (Menezes *et al.*, 2020). Segundo Menezes e colaboradores (2020), a associação dos dois comprimentos de onda citados diminui a flacidez e promove o efeito *lifting* da face.

A utilização do modo de irradiação associando LED e laser que proporciona o primeiro minuto de emissão contínua e os outros quatro de emissão pulsada teve o objetivo de fornecer a luz de maneira eficiente e confortável, uma vez que períodos longos de irradiação contínua podem ocasionar aquecimento do tecido. Yuzhakova e colaboradores (2021) sugerem que regimes contínuos e pulsados podem induzir diferentes mecanismos no tecido, como: produção de oxigênio singleto menor no modo pulsado, dependendo da relação entre a duração de pulsos e a de repouso, induzindo assim apoptose celular em tecidos tumorais, e não necrose; o modo contínuo pode proporcionar um efeito térmico positivo, que é a recuperação tecidual devido à vasodilatação e ao aumento do fluxo sanguíneo, já o modo pulsado permite a reoxigenação nos períodos escuros, importante para a produção de ERO, e ainda fornece penetração mais profunda devido às transições na entrega e absorção da luz; quanto à fotobiomodulação, os dois modos de irradiação podem estimular as mitocôndrias na produção de adenosina trifosfato (ATP), entretanto a modulação da entrega de luz pode potencializar a recuperação celular (Damrongrungruang *et al.*, 2021; Yuzhakova *et al.*, 2021).

O efeito maior de rejuvenescimento foi avaliado pela maior nota de satisfação das participantes entre os grupos. Diante das diferenças entre ALA e MAL apresentadas, é pertinente que os resultados relatados pelas participantes sejam a favor do ALA, em que todas as participantes alegaram notar alterações positivas como resposta ao tratamento.

No grupo MAL-TFD, uma participante não percebeu algum tipo de melhora em sua pele e não recomendaria o tratamento para alguém, a mesma foi a única a alegar na anamnese ser fumante. A fumaça do cigarro causa alterações desfavoráveis na pele, como a perda de elasticidade, e acelera o seu processo natural de envelhecimento, o que pode dificultar que terapias de rejuvenescimento apresentem resultados favoráveis (Urbańska; Nowak; Florek, 2012; Chaudhary, Khan, Gupta, 2020).

Existem no mercado dermatológico alguns procedimentos para promover o rejuvenescimento, mas acredita-se que a TFD pode ser fortemente recomendada como tratamento (Zhang; Liu; Wang, 2023). É possível realizar uso de toxina botulínica para rugas em movimento, bioestimuladores de colágeno, preenchimentos com ácido hialurônico (Chaudhary, Khan, Gupta, 2020), além de retinoides como cuidado diário (Riahi; Bush; Cohen, 2016), a TFD se destaca por apresentar vantagens como período de durabilidade, não ser uma técnica invasiva e apresentar um efeito *lifting* com um baixo custo associado. Além disso, é possível que a terapia seja utilizada em associação com outras técnicas para gerenciar o fotoenvelhecimento, como por exemplo, associar ao microagulhamento para que o fármaco a ser utilizado na TFD tenha melhor penetração, ou intercalar sessões de tratamento com cuidados diários e produtos tópicos, como retinoides, ácido glicólico, ácido ascórbico.

A recomendação da TFD isolada ou associada a outras técnicas se dá pelos resultados obtidos com efeitos colaterais minimizados. A análise qualitativa realizada na pesquisa e a autopercepção das participantes indicam respostas da terapia condizentes com o descrito na literatura. Um estudo utilizando a combinação de ALA a 5%, incubação de 30 minutos e luz de 633 nm por 20 minutos mostrou uma resposta significativa em relação à redução de linhas finas na avaliação clínica da região periorbital em quatro dos seis participantes e a suavidade da pele foi melhorada em todos os indivíduos na área tratada (Lowe; Lowe, 2005 *pud* Ablon, 2018). Ruiz-Rodriguez e colaboradores (2008) mostraram que a combinação de MAL e luz vermelha poderia induzir uma melhora moderada nas linhas finas, rugosidade tátil e rigidez da pele (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2008).

A rotina de cuidados com a pele e os hábitos de exposição solar, ingestão hídrica, alimentação, as alterações hormonais e a idade influenciam diretamente a saúde da pele e o processo de envelhecimento.

Com a menopausa, diminuição das fibras de colágeno e elastina na derme,

passa-se a ter um “derretimento” facial, que gera rugas e linhas de expressões (Santos; Mello, 2023). As consequências da baixa concentração de estrógenos incluem atrofia, perda de elasticidade, ressecamento e cicatrização deficiente (Junqueira; Carneiro, 2013). Das 11 participantes do estudo, 6 já se encontram na fase da menopausa, o que pode acentuar os sinais de envelhecimento, essa condição foi observada em ambos os grupos, não acentuando diferenças entre os mesmos.

Quanto ao histórico de exposição solar, é possível observar que as participantes não apresentaram hábito de proteger a pele em fases anteriores da vida, e mesmo atualmente, em que apresentam maior adesão ao uso de filtro solar, a minoria utiliza corretamente, reaplicando durante o dia e a exposição aos raios solares. Além disso, uma fotoproteção eficaz contra o fotoenvelhecimento e a hiperpigmentação só é proporcionada por um filtro solar de amplo espectro, com proteção tanto às radiações UVB como às UVA (Battie *et al.*, 2014).

Além da heterogeneidade da população amostral quando se fala em pesquisa clínica, há a limitação da padronização para aquisição de imagens, uma vez que a distância e o posicionamento em que a foto foi capturada e a luminosidade do ambiente podem apresentar variação nos dados coletados. Issa e Manela-Azulay (2010) fornecem um exemplo de como a documentação por imagem e a padronização de protocolos podem melhorar a compreensão e otimização dos tratamentos com TFD.

Nos parâmetros testados e nas condições analíticas aplicadas, a TFD com ALA e MAL e irradiação com LED âmbar e laser infravermelho associados se mostrou eficaz no rejuvenescimento da pele fotoenvelhecida.

7 CONCLUSÃO

A Terapia Fotodinâmica com ALA e MAL se mostrou eficiente contra os sinais de fotoenvelhecimento, demonstrando redução de linhas finas, suavização de rugas, maciez e firmeza da pele e melhora da flacidez. Dentre os fármacos, o efeito maior de rejuvenescimento foi atribuído ao ALA devido à maior nota de satisfação entre as participantes, a concentração de 2% utilizada permitiu que tais resultados fossem atingidos com efeitos colaterais mínimos. Além disso, a interação da PpIX produzida a partir de 1 hora e 30 minutos de incubação com a associação dos comprimentos de onda âmbar e infravermelho contribuiu para com o rejuvenescimento propiciado pelo tratamento.

A análise dos resultados em conjunto com o descrito na literatura sobre a TFD destaca a importância da personalização do tratamento. O potencial para otimizar a produção de PpIX e, conseqüentemente, os resultados da terapia, emerge como um campo de interesse notório, indicando a necessidade de estudos futuros focados na customização da terapia para melhorar os desfechos terapêuticos e o conforto do paciente.

REFERÊNCIAS

- ABLON, G. Phototherapy with light emitting diodes: Treating a broad range of medical and aesthetic conditions in dermatology. **Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v. 11, n. 2, p. 21–27, 2018.
- AGRAWAL, R.; HU, A.; BOLLAG, W.B. The Skin and Inflamm-Aging. **Biology**, v. 12, n. 11, p. 1396, 2023.
- ANG, J.M. *et al.* Photodynamic therapy and pain: A systematic review. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 19, p. 308-344, 2017.
- ARDA, O.; GÖKSÜGÜR, N.; TÜZÜN, Y. Basic histological structure and functions of facial skin. **Clinics in dermatology**, v. 32, n. 1, p. 3-13, 2014.
- BAROLET, A.C. *et al.* Low-Intensity Visible and Near-Infrared Light-Induced Cell Signaling Pathways in the Skin: A Comprehensive Review. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 41, n. 4, p. 147-166, 2023.
- BATTIE, C. *et al.* New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. **Experimental dermatology**, v. 23, p. 7-12, 2014.
- CHAUDHARY, M.; KHAN, A.; GUPTA, M. Skin ageing: pathophysiology and current market treatment approaches. **Current aging science**, v. 13, n. 1, p. 22-30, 2020.
- CHILAKAMARTHI, U.; GIRIBABU, L. Photodynamic therapy: past, present and future. **The Chemical Record**, v. 17, n. 8, p. 775-802, 2017.
- CIEPLIK, F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 571–589, 2018.
- COMANICIU, D.; MEER, P. Mean shift: A robust approach toward feature space analysis. **IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence**, v. 24, n. 5, p. 603-619, 2002.
- CORREIA, J.H. *et al.* Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 2021.
- CROIX, J. *et al.* Split-Sided Chest Study of Skin Rejuvenation Comparing Low-Energy, 1,927-nm Thulium Fractional Laser Treatment Prior to Photodynamic Therapy Versus Photodynamic Therapy Alone. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 52, n. 1, p. 53–60, 2020.
- DAMRONGRUNGRUANG, T. *et al.* Effect of Different Irradiation Modes of Azulene-mediated Photodynamic Therapy on Singlet Oxygen and PGE2 Formation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 97, n. 2, p. 427-434, 2021.
- DANIELL, M.D.; HILL, J.S. A History of Photodynamic Therapy. **ANZ Journal of Surgery**, v. 61, n. 5, p. 340–348, 1991.
- DE MOURA, J.P. *et al.* Targets Involved in Skin Aging and Photoaging and their

Possible Inhibitors: A Mini-review. **Current Drug Targets**, v. 24, n. 10, p. 797-815, 2023.

DEY, A.; KESHARWANI, P.; DUBEY, S.K. Photodynamic therapy in cosmetics. In: **Nanomaterials for Photodynamic Therapy**. Woodhead Publishing, p. 441-458, 2023.

FABI, S.G. *et al.* Evaluation of microfocused ultrasound with visualization for lifting, tightening, and wrinkle reduction of the décolletage. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, n. 6, p. 965-971, 2013.

FEROLLA, A.C.; TAMURA, B.M.; CUCÉ, L.C. Rejuvenescimento com terapia fotodinâmica: melhora clínica e análise do colágeno e das fibras elásticas. **Surgical and Cosmetic Dermatology**, v. 2, n. 2, p. 87-92, 2010.

FITZPATRICK, T.B. The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI. **Archives of Dermatology**, v. 124, n. 6, p. 869, 1 jun. 1988.

FRIEDMANN, D.P.; GOLDMAN, M.P. Photodynamic therapy for cutaneous photoaging: A combination approach. **Dermatologic Surgery**, v. 42, p. S157-S160, 2016.

FUJITA, A.K.L. *et al.* Fluorescence evaluations for porphyrin formation during topical PDT using ALA and methyl-ALA mixtures in pig skin models. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 15, p. 236-244, 2016.

GLOGAU, R.G. Aesthetic and anatomic analysis of the aging skin. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 15, n. 3, p. 134-138, 1996.

GOLD, M.H. Therapeutic and aesthetic uses of photodynamic therapy part one of a five-part series: the use of photodynamic therapy in the treatment of actinic keratoses and in photorejuvenation. **The Journal of clinical and aesthetic dermatology**, v. 1, n. 2, p. 32-7, 2008.

GOLDBERG, D.J. Photodynamic therapy in skin rejuvenation. **Clinics in Dermatology**, v. 26, n. 6, p. 608-613, 2008.

GOMES, B.S.; DO BOMFIM, F.R.C.; LOPES FILHO, G.J. A fotobiomodulação no processo cicatricial da pele-revisão da literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 66814-66826, 2020.

HADDAD, A. **Luz intensa pulsada e ácido 5 aminolevulínico no tratamento de queratoses actínicas e fotoenvelhecimento facial**. [s.l.] Universidade Federal de São Paulo, 2010.

HAMBLIN, M.R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. **AIMS biophysics**, v. 4, n. 3, p. 337, 2017.

HASSAN, K.M.; BENEDETTO, A.V. Facial skin rejuvenation: Ablative laser resurfacing, chemical peels, or photodynamic therapy? Facts and controversies. **Clinics in Dermatology**, v. 31, n. 6, p. 737-740, 2013.

HELBIG, D.; SIMON, J.C.; PAASCH, U. Photodynamic therapy and the role of heat shock protein 70. **International Journal of Hyperthermia**, v. 27, n. 8, p. 802–810, dez. 2011.

HUANG, A. *et al.* Facial rejuvenation using photodynamic therapy with a novel preparation of ALA and hyaluronic acid in young adults. **Archives of Dermatological Research**, v. 312, p. 567-573, 2020.

INTERNATIONAL PHOTODYNAMIC ASSOCIATION (IPA) – **Interactive Photosensitizer Spectra-Viewer**. Disponível em: <https://www.internationalphotodynamic.com/interactive-photosensitizer-spectraviewer>. Acesso em 11 de novembro de 2023.

ISSA, M.C.A.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, p. 501-511, 2010.

ISSA, M.C.A. *et al.* Photodynamic therapy in photoaging: literature review. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 8, n. 4, 2016.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2013.

JUZENIENE, A. *et al.* Topical application of 5-aminolaevulinic acid, methyl 5-aminolaevulinate and hexyl 5-aminolaevulinate on normal human skin. **British Journal of Dermatology**, v. 155, n. 4, p. 791-799, 2006.

KALIL, C. **Laser e outras fontes de luz em dermatologia**. São Paulo: Elsevier Brasil, 2011.

KARIMI, N. Approaches in line with human physiology to prevent skin aging. **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 1279371, 2023.

KENNEDY, J.C.; MARCUS, S.L.; POTTIER, R.H. Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5-aminolevulinic acid (ALA): mechanisms and clinical results. **Journal of clinical laser medicine & surgery**, v. 14, n. 5, p. 289-304, 1996.

KHAN, K. *et al.* Fractionated illumination improves the treatment outcomes of photodynamic therapy for high grade cutaneous leishmaniasis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 29, n. December 2019, p. 101622, 2020.

KHAVKIN, J.; ELLIS, D.AF. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 19, n. 2, p. 229-234, 2011.

LEITE, I.S. *et al.* Near-infrared photodynamic inactivation of *S. pneumoniae* and its interaction with RAW 264.7 macrophages. **Journal of Biophotonics**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2018.

LIMA, C.A. *et al.* Optimization and therapeutic effects of PDT mediated by ALA and MAL in the treatment of cutaneous malignant lesions: A comparative study. **Journal of Biophotonics**, v. 9, n. 11-12, p. 1355-1361, 2016.

MANOEL, C.A.; PAOLILLO, F.R.; MENEZES, P.F.C. **Conceitos fundamentais e práticos da fotoestética**. São Carlos: Compacta, 2014.

MENEZES, P.F.C. *et al.* Photobiomodulation Using Amber Led and Infrared Laser to Controlling the Pigmentation and Flaccidity from Skin. **Journal of Aesthetic Reconstructive Surgery**, v. 6, n. 2, p. 8, 2020.

MENEZES, P.F.C. *et al.* Topical photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid (ALA) for cosmetic purposes on aesthetic procedures. **Clinical Dermatology: research and therapy**, v. 3, n. 1, p. 130-1, 2020.

MERCURIO, D.G. **Caracterização da pele fotoenvelhecida , desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas por técnicas de biofísica e análise de imagem**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2015.

MOREIRAS, Hugo *et al.* Visible light and human skin pigmentation: The importance of skin phototype. **Experimental Dermatology**, v. 30, n. 9, p. 1324-1331, 2021.

MORTON, C.A. *et al.* European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 2: emerging indications—field cancerization, photorejuvenation and inflammatory/infective dermatoses. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 34, n. 1, p. 17-29, 2020.

NORDLUND, J.J. The melanocyte and the epidermal melanin unit: an expanded concept. **Dermatologic clinics**, v. 25, n. 3, p. 271-281, 2007.

OLIVEIRA, A.C.B. **Derme reconstituída (equivalente) *in vitro***. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2015.

PEREZ, Harelline Belotti. **Avaliação da fluorescência da protoporfirina IX em modelo tumoral de pele em camundongo na aplicação de terapia fotodinâmica utilizando sistema portátil com baixa irradiação**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Física) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/16034>.

PERUSSI, J.R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 988–994, ago. 2007.

QUEIRÓS, C. *et al.* Photodynamic therapy in dermatology: Beyond current indications. **Dermatologic Therapy**, v. 33, n. 6, p. e13997, 2020.

RIahi, R.R.; BUSH, A.E.; COHEN, P.R. Topical retinoids: therapeutic mechanisms in the treatment of photodamaged skin. **American journal of clinical dermatology**, v. 17, p. 265-276, 2016.

ROBERTS, W.E. Skin type classification systems old and new. **Dermatologic clinics**, v. 27, n. 4, p. 529-33, viii, 2009.

RUIZ-RODRÍGUEZ, R. *et al.* Photorejuvenation using topical 5-methyl aminolevulinic acid and red light. **Journal of Drugs in Dermatology: JDD**, v. 7, n. 7, p.

633-637, 2008.

SANCLEMENTE, G. *et al.* Photodynamic Therapy Interventions in Facial Photodamage: A Systematic Review. **Actas Dermo-Sifiliograficas**, v. 109, n. 3, p. 218–229, 2018.

SANTOS, Y.S.; MELLO, P.L. Alterações cutâneas causadas pela menopausa: Revisão de literatura. **Revista Saúde-UNG-Ser**, v. 16, n. 4, p. 27-33, 2023.

SHI, J. *et al.* A novel chlorin e6 derivative-mediated photodynamic therapy STBF-PDT reverses photoaging via the TGF- β pathway. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 41, p. 103321, 2023.

SPATARO, E.A.; DIERKS, K.; CARNIOL, P.J. Microneedling-associated procedures to enhance facial rejuvenation. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 30, n. 3, p. 389-397, 2022.

STEENEN, S.A. *et al.* What is 'botox', what are fillers, and how safe are these cosmetic injectables? **Nederlands Tijdschrift Voor Tandheelkunde**, v. 130, n. 12, p. 515-519, 2023.

SUNDER, S. Relevant topical skin care products for prevention and treatment of aging skin. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 27, n. 3, p. 413-418, 2019.

TOSA, M.; OGAWA, R. Photodynamic therapy for keloids and hypertrophic scars: a review. **Scars, Burns & Healing**, v. 6, p. 205951312093205, 2020.

URBAŃSKA, M.; NOWAK, G.; FLOREK, E. Cigarette smoking and its influence on skin aging. **Przegląd lekarski**, v. 69, n. 10, p. 1111-1114, 2012.

ZHANG, H. *et al.* Evaluation of 5-aminolevulinic acid-mediated photorejuvenation of neck skin. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 11, n. 4, p. 498-509, 2014.

ZHANG, Y.; LIU, W.; WANG, Q. Positive effects of low-dose photodynamic therapy with aminolevulinic acid or its methyl ester in skin rejuvenation and wound healing: An update. **Journal of Biophotonics**, v. 16, n. 4, p. e202200293, 2023.

YUZHAKOVA, D.V. *et al.* PDT with genetically encoded photosensitizer miniSOG on a tumor spheroid model: A comparative study of continuous-wave and pulsed irradiation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1865, n. 12, p. 129978, 2021.

ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Dados de identificação

Título do Projeto: Rejuvenescimento Fotodinâmico em Pele Fotoenvelhecida

Pesquisador Responsável: Juliana Guerra Pinto

Equipe executora: Juliana Ferreira-Strixino, Juliana Teixeira Pedroso

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Universidade do Vale do Paraíba

Telefones / E-mails para contato: (12) 98867-2003 - (12) 98288-2267

Nome do participante: _____ R.G.: _____

Idade: _____ anos Telef. ou e-mail de contato: _____

CÓDIGO: _____

A Sra. está sendo convidada a participar do projeto de pesquisa que tem como tema o Rejuvenescimento Fotodinâmico em Pele Fotoenvelhecida, de responsabilidade da pesquisadora Juliana Guerra Pinto. Este estudo tem por objetivo avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica no tratamento do fotoenvelhecimento facial e do dorso das mãos, uma vez que muitas das funções da pele são reduzidas com o envelhecimento, o que pode ser acentuado na pele fotoenvelhecida. Esperamos, com esta pesquisa, proporcionar benefício para a saúde integral da pele, assim como do aspecto estético.

Sua participação consistirá em atender à sessão de avaliação que precede o tratamento, às quatro sessões de tratamento e às quatro sessões de avaliação pós-tratamento no Centro de Práticas Supervisionadas – CPS, localizado no bloco 7 da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade do Vale do Paraíba, avenida Shishima Hifumi, 2911- Urbanova, São José dos Campos – SP, CEP: 12244-390. As avaliações consistem em anamnese, questionários, avaliação da pele e documentação fotográfica. Os testes de avaliação da pele, assim como todo o tratamento, são gratuitos. As sessões de tratamento consistem na preparação da pele, oclusão com fármaco para fotossensibilizar as áreas a serem tratadas, irradiação com LED e laser e instruções de cuidado à pele pós-tratamento.

Solicitamos sua autorização para, durante a realização da pesquisa, tirar fotos com o auxílio de uma câmera de smartphone, sendo que você pode não autorizar este registro e pode, a qualquer momento, retirar a autorização dada. Estas imagens serão utilizadas apenas nesta pesquisa e serão tratadas com tarja preta na região dos olhos, para preservar a identificação da participante. Caso você não autorize tirar fotos, você não poderá participar desta pesquisa. Ao assinar este termo, você autoriza o uso da sua imagem nas fotos que serão realizadas no referido estudo com o intuito de avaliar a evolução do resultado obtido. A presente autorização é concedida a título gratuito, abrangendo o uso da imagem mencionada exclusivamente para o estudo em questão.

Durante sua participação, podem ocorrer reações esperadas, como dor e sensação de queimação durante a aplicação do fotossensibilizador ou do tratamento, fotossensibilidade, edema, eritema, descamação e alterações na pigmentação nos dias subsequentes ao tratamento. Compressas geladas podem ser utilizadas e, se necessário, será fornecido gratuitamente creme calmante para aliviar as reações. Para evitar quebra de sigilo e constrangimento, o estudo faz uso de ambiente reservado e contando apenas com a equipe executora presente, a qual é a única a ter acesso aos dados e fotografias da pesquisa sem censura.

Garantimos o sigilo e a confidencialidade das informações que você fornecer e a

privacidade da participante da pesquisa. A qualquer momento, você pode se recusar a participar e se retirar da pesquisa, sem constrangimentos, penalidades ou qualquer prejuízo (caso esteja em acompanhamento ou tratamento, este permanece como está, nada muda). As informações e materiais obtidos nesta pesquisa não poderão ser utilizados para outras finalidades que não sejam a desta pesquisa científica.

Sempre que desejar, você poderá entrar em contato para obter informações sobre este projeto de pesquisa, sobre sua participação ou outros assuntos relacionados à pesquisa, com a pesquisadora responsável ou equipe executora pelos telefones (12) 98867-2003 e (12)98288-2267 e e-mail juliana.teixeira.pedroso@hotmail.com. Você também pode entrar em contato com o CEP – Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), corresponsável por garantir e zelar pelos direitos do participante da pesquisa, pelo telefone (12) 3947-1111, pelo e-mail cep@univap.br ou pessoalmente na Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova – Bloco 11 – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento II, sala 13, de segunda a sexta-feira, das 08h às 12h. Este projeto foi aprovado pelo CEP-Univap sob o número

Este termo está elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pela participante da pesquisa e pela pesquisadora, sendo uma das vias entregue à participante.

Eu, _____, fui informada e concordo em participar, voluntariamente, do projeto de pesquisa acima descrito.

São José dos Campos, ____ de _____ de 2023.

Nome e assinatura da participante

Nome e assinatura da pesquisadora

Testemunha

Testemunha

ANEXO B: QUESTIONÁRIO DE AUTOAVALIAÇÃO

(MERCURIO, 2015)

Características da pele

1) Você está descontente com a aparência da pele do seu rosto?

Sim Não.

2) Qual alteração na pele do seu rosto que te incomoda?

Ressecamento

Rugas finas

Rugas profundas

Manchas claras

Manchas escuras

Flacidez (pele não está firme)

Aspereza da pele

Sardas

Vermelhidão

Poros abertos

Oleosidade

Acne

Bolsas e olheiras

Pintas.

Outros: _____

3) Já procurou tratamento para essa(s) alteração(ões)?

Sim Não. Se sim, qual(is)?

.....

Perguntas gerais

4) Você utiliza cosméticos para cuidar da região do(a):

Rosto Olhos Colo Mãos Corpo Outros: _____ Nenhum

5) Quais cosméticos você usa:

No rosto: _____

Nas mãos: _____

6) Já fez ou faz algum tipo de tratamento estético?

Sim Não. Qual? _____

Laser Peeling Luz Pulsada. Quando? _____

7) Quantidade de água ingerida diariamente, em copos:

1 a 3, 4 a 6, 7 a 9, mais de 10 copos.

8) Você é/já foi fumante?

Sim Não.

9) Método anticoncepcional:

Não Pílula DIU Outros: _____

10) Está na menopausa:

Sim Não. Faz reposição Hormonal? Sim Não.

11) Reações alérgicas a cosméticos:

Sim Não. Quais? _____

12) Possui algum caso de câncer de pele na família?

Sim Não.

Exposição e proteção solar atual

13) Quanto tempo você se expõe ao sol diariamente?

- Menos de 1 hora por dia.
- Entre 1 hora e 3 horas por dia.
- Entre 3 horas e 6 horas por dia.
- Mais de 6 horas por dia.

14) Qual o motivo da sua exposição solar?

- Bronzeamento.
- Lazer.
- Forma ocupacional (trabalho).
- Prática de exercícios físicos/esportes.
- Apenas para me deslocar de um lugar para outro.
- Outros: _____

15) Já fez bronzeamento artificial?

Sim Não.

16) Com que frequência você se bronzeia (banhos de sol):

- Nunca.
- Raramente (0-1 vez ao mês).
- Esporadicamente (1 - 3 vezes ao mês).
- Frequentemente (mais de 3 vezes ao mês).

17) Utiliza protetor solar?

- Todos os dias (mesmo em dias nublados).
- Apenas quando está sol.
- Quando irá se expor ao sol por muito tempo.
- Quando lembro (raramente).
- Apenas quando vou a praia/piscina.
- Apenas quando pratico exercícios físicos/esportes.
- Quando sinto o sol queimando.
- Apenas durante o verão.
- Nunca.

18) Com que frequência aplica durante o dia?

- Nenhuma.
- Uma vez.
- Duas vezes.
- Três vezes ou mais.

19) Qual o Fator de Proteção Solar do filtro solar que você usa no rosto?

- 15 20 30 50 60 Outro _____

20) Qual o Fator de Proteção Solar do filtro solar que você usa nas outras partes do corpo?

- 15 20 30 50 60 Outro _____

Histórico de exposição e proteção solar

21) Já sofreu queimaduras solares (vermelhidão, bolhas)?

- Sim Não. Se sim, em qual região do corpo? _____

Em relação aos seus hábitos de exposição solar e proteção solar até 15 anos de idade:

22) Em média, quanto tempo você se expunha ao sol diariamente?

- Menos de 1 hora por dia.
- Entre 1 hora e 3 horas por dia.
- Entre 3 horas e 6 horas por dia.
- Mais de 6 horas por dia.

23) Com que frequência você se bronzeava (banhos de sol):

- Nunca.
- Raramente (0-1 vez ao mês) .
- Esporadicamente (1 - 3 vezes ao mês).
- Frequentemente (mais de 3 vezes ao mês).

24) Você usava protetor solar?

- Nunca Raramente Frequentemente Sempre.

Em relação aos seus hábitos de exposição solar entre 16 a 25 anos:

25) Em média, quanto tempo você se expunha ao sol diariamente?

- Menos de 1 hora por dia.
- Entre 1 hora e 3 horas por dia.
- Entre 3 horas e 6 horas por dia.
- Mais de 6 horas por dia.

26) Com que frequência você se bronzeava (banhos de sol):

- Nunca.
- Raramente (0-1 vez ao mês).
- Esporadicamente (1 - 3 vezes ao mês) .
- Frequentemente (mais de 3 vezes ao mês).

27) Você usava protetor solar?

Nunca Raramente Frequentemente Sempre.

Em relação aos seus hábitos de exposição solar entre 26 a 35 anos:

28) Em média, quanto tempo você se expunha ao sol diariamente?

- Menos de 1 hora por dia.
 Entre 1 hora e 3 horas por dia.
 Entre 3 horas e 6 horas por dia.
 Mais de 6 horas por dia.

29) Com que frequência você se bronzeava (banhos de sol):

- Nunca.
 Raramente (0-1 vez ao mês).
 Esporadicamente (1 - 3 vezes ao mês).
 Frequentemente (mais de 3 vezes ao mês).

30) Você usava protetor solar?

Nunca Raramente Frequentemente Sempre.

ANEXO C: FICHA DE AUTOAVALIAÇÃO PÓS-TRATAMENTO

Como você classificaria o desconforto durante as sessões?

Mínimo Médio Máximo

Se a resposta foi máximo, numa escala de 0 a 10 como você classificaria?

Você percebeu algum tipo de melhora em sua pele?

Sim Não

Se sua resposta foi sim, em qual aspecto sentiu tal melhora?

Você recomendaria esse tratamento para alguém?

Sim Não

Caso sua resposta for não, por que não indicaria?

Numa escala de 0 a 10, quão satisfeito você ficou com o tratamento?

ANEXO D: CARTILHA DE ORIENTAÇÃO

PESQUISA CLÍNICA

REJUVENESCIMENTO FOTODINÂMICO EM PELE
FOTOENVELHECIDA**Antes e durante os meses de tratamento**

Não realizar tratamentos estéticos nas áreas tratadas no estudo.

Preencher um diário sobre hábitos de proteção e exposição solar, uso de cosméticos e autoavaliação das características da pele.

Depois de cada sessão

Evitar exposição ao sol pelas próximas 72 horas.

Aplicar protetor solar com reaplicação a cada duas horas.

Evitar produtos químicos que possam deixar a pele mais sensível e irritada.

Em caso de reações, entrar em contato com a equipe de pesquisa.

Em caso de descamação da pele, não remover a pele e não interferir com unhas ou objetos no local para não causar manchas ou lesões.

Compressas geladas e cremes calmantes podem ser utilizados para aliviar as reações.

Retornar em _____.

OBRIGADA!

ANEXO E: FLYER PARA RECRUTAMENTO DE PACIENTES

PESQUISA CLÍNICA

**REJUVENESCIMENTO
FOTODINÂMICO EM PELE
FOTOENVELHECIDA**

**Estamos selecionando pacientes do sexo
feminino, de 40 a 55 anos, com sinais de
fotoenvelhecimento na face e no dorso das mãos.**

Maiores informações:
WhatsApp: (12)98867-2003
E-mail: juliana.teixeira.pedroso@hotmail.com

OBRIGADA!