

Neocolagenização induzida pelo *resurfacing* com *laser* erbium:YAG isolado e associado a *lifting* cutâneo: estudo morfométrico comparativo em ratos

Primeira submissão em 26/09/05
Última submissão em 18/09/05
Aceito para publicação em 20/09/05
Publicado em 20/10/05

Comparison of single erbium:YAG laser resurfacing to a combination with cutaneous lifting: a morphometric study of neocollagenization in rats

Lucia Noronha¹; Maria Cristina Figueroa²; Paloma Rincón Tamanini²; Ruth Graf³

unitermos	resumo
<p>Laser Erbium: YAG</p> <p>Resurfacing</p> <p>Lifting</p> <p>Fibroplasia</p>	<p>Introdução: Diferente do <i>lifting</i>, cuja tração mecânica é a responsável pelo efeito clínico de rejuvenescimento sobre rugas profundas, a fibroplasia (ou neocolagenização) é a responsável direta pelo resultado final da ação do <i>laser</i> sobre a pele com rugas superficiais, conferindo-lhe aparência mais jovem. O uso combinado dessas duas técnicas pode ser vantajoso, pois permite um resultado estético melhor com um único procedimento anestésico e cirúrgico em um curto período de recuperação. Objetivos: O presente estudo morfométrico se propõe a avaliar se ocorre alguma alteração na espessura da fibroplasia induzida pelo <i>resurfacing</i> a <i>laser</i> erbium:YAG quando este se associa ao <i>lifting</i> cutâneo. Método: Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, divididos em dois grupos de 25, sendo que o primeiro grupo foi submetido à aplicação exclusiva de <i>laser</i> erbium:YAG no dorso de cada animal e o outro sofreu a aplicação de <i>laser</i> Erbium: YAG combinada ao <i>lifting</i>, o qual foi representado, no animal de experimentação, por retalho cutâneo dorsal pediculado. A fibroplasia foi avaliada nos dois grupos com medidas morfométricas lineares realizadas após o sacrifício dos animais nos dias 14, 28, 56, 84 e 112 do pós-operatório. Resultado: Foi observado aumento da fibroplasia em ambos os grupos estudados, porém o crescimento do colágeno foi superior no grupo submetido à terapia isolada com <i>laser</i> Erbium: YAG. Conclusão: A espessura da fibroplasia induzida pelo <i>resurfacing</i> a <i>laser</i> Erbium: YAG foi influenciada pela associação de um segundo procedimento cirúrgico no mesmo tempo operatório, neste caso, o <i>lifting</i> cutâneo.</p>

abstract key words

Introduction: The fibroplasia is the responsible for the final aesthetic results induced by laser resurfacing upon skin with superficial wrinkles. On the other hand, the lifting is responsible for the deeper wrinkles removal, produced by mechanic results. The use of the combination of these two rejuvenation simultaneous techniques can cause surgical advantages and interesting esthetical results. Objectives: This morphometric study proposed to evaluate if there are any alteration of fibroplasia thickness during the accomplishment of the laser and lifting techniques joined. Method: There were used 50 Wistar rats divided in two groups. One of the groups was submitted to the exclusive application of laser Erbium: YAG, and the other group were submitted to the application of the laser Erbium: YAG combined with the lifting. The fibroplasia thickness was evaluated by the digital morphometrics techniques, after the sacrifice of animals on days 14, 28, 56, 84 and 112 after the surgery. Result: An increase in the fibroplasia was observed in both groups studied, although the collagen growth was superior in the group that was submitted to laser resurfacing isolated. Conclusion: The thickness of fibroplasia was modified by the use of simultaneous techniques: laser resurfacing and lifting.

Laser Erbium: YAG
Resurfacing
Lifting
Fibroplasia

1. Professora do curso de pós-graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR); doutora em Patologia.

2. Acadêmicas do curso de Medicina; estagiárias do Laboratório de Patologia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (LPE/PUC-PR).

3. Professora da Universidade Federal do Paraná (UFPR); doutora em Cirurgia Plástica.

Trabalho realizado no LPE/PUC-PR.

Introdução

A utilização da combinação de dois processos de rejuvenescimento simultâneos pode acarretar vantagens cirúrgicas e resultados estéticos interessantes. Assim sendo, o exemplo mais comum é a associação do *resurfacing a laser* com o *lifting*, uma vez que o *lifting*, por si só, não atua em rugas finas e delicadas como aquelas linhas finas em torno da boca. Já o *resurfacing a laser* não tem bons resultados em rugas profundas como as linhas que dividem o queixo. É pela combinação de ambos que o rosto apresentará um aspecto mais jovem⁽¹⁹⁾.

O *lifting* (ou técnica de retalho cutâneo) promove o estiramento de rugas profundas de expressão através do princípio simples de tração cirúrgica com posterior cicatrização. Já o *laser* produz atenuação de rugas superficiais, eliminando o colágeno lesado por vaporização e necrose térmica e propiciando, assim, reação inflamatória com conseqüente fibroplasia ou neocolagenização. Esse processo de neocolagenização é responsável em última instância pela contração de um colágeno dérmico mais novo e com melhor elasticidade, conferindo um aspecto clínico mais jovem à pele⁽¹⁰⁾.

Ao longo dos anos tornou-se um preceito que o *resurfacing* e o *lifting* não poderiam ser feitos no mesmo ato cirúrgico. Acreditava-se que o uso do *laser*, ou de outros abrasivos, poderia acarretar maior risco de perda dos retalhos por necrose. Isto devido à lesão de vasos cutâneos superficiais, ocasionada pelo *laser* ou *peelings* químicos. Essa opinião foi confirmada por alguns estudos que relataram casos de pacientes submetidos a *peelings* químicos associados ao *lifting* que evoluíram posteriormente com necrose do retalho. Esses estudos comprometeram alguns conceitos e retardaram a popularização da técnica combinada. Mesmo o *lifting* facial e o *resurfacing* promovendo um rejuvenescimento exuberante, sua utilização simultânea demorou a ser popularizada. Contudo, com o desenvolvimento de novos métodos, tanto de *lifting* quanto de *resurfacing*, a técnica combinada começou a ser utilizada, demonstrando grandes benefícios com um risco desprezível de perda do retalho por necrose.

Quer por evitar mais de um ato cirúrgico com todos os seus riscos anestésicos, quer por propiciar uma recuperação mais rápida, essa técnica se tornou popular quando alguns estudos evidenciaram que o uso do *laser* na superfície da pele não lesa vasos da profundidade, responsáveis pelo suprimento de oxigênio do retalho^(1, 2, 4, 6, 13). Porém, ainda não se sabe qual a influência que um segundo procedimento

cirúrgico pode ter na produção de colágeno induzida pelo *resurfacing a laser*, uma vez que esse é o efeito desejado.

Este estudo pretende medir a espessura de fibroplasia desencadeada pela lesão induzida por procedimento de *resurfacing a laser*, isolado ou combinado com a técnica de *lifting*, comparando os resultados a fim de avaliar a interferência da confecção de um retalho cirúrgico nos resultados de neocolagenização induzidos pela aplicação do *laser* erbium:YAG (ítrio-alumínio-granada).

Material e método

Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar (*Ratus norvegicus albinus*), machos, adultos, entre 110 e 130 dias de vida, com peso variando entre 250 e 300g no início do experimento e sem doenças prévias.

Os animais foram separados em dois grupos experimentais (EI e EII) e cada grupo foi dividido em cinco subgrupos (G1 a G5), que agrupavam cinco animais. Cada gaiola foi identificada e habitada por um único subgrupo.

A anestesia foi do tipo inalatória com ventilação espontânea. Após a anestesia, cada animal foi posicionado em decúbito ventral para a realização da tricotomia. Foram marcadas figuras de 22 x 22mm na região tricotomizada.

O aparelho de *laser* erbium:YAG (DERMA K) foi programado nos seguintes parâmetros: energia de 1,5J e potência de 1,7W, fluência de 21,4J/cm², tamanho do ponto do *laser* de 3mm, sendo utilizado um gerador de padrões computadorizados (CPG), com as regulagens: formato quadrado, tamanho 10, frequência de repetição de 20 pulsos/segundo, ângulo 0 e sobreposição de 30%.

Nos ratos do grupo EI foram aplicadas três passadas de erbium:YAG antes do sacrifício dos animais. Já no grupo EII foi confeccionado o retalho de McFarlane modificado por Khouri, de base caudal⁽⁵⁾, em todos os animais, sucedido, imediatamente, de aplicação de três passadas de *laser* de erbium:YAG sobre o retalho. Todos os animais foram submetidos à avaliação clínica diária.

Os animais dos grupos EI e EII foram sacrificados com dose inalatória letal de éter, como segue: cinco animais do subgrupo G1 no dia 14, G2 no dia 28, G3 no dia 56, G4 no dia 84 e G5 no dia 112. Após o sacrifício, foram obtidas peças cirúrgicas para estudo histológico, ressecando-se, de cada animal, duas amostras de pele da área experimental, sendo então identificadas e processadas conforme métodos convencionais. Em seguida, foram montadas em blocos de parafina, cortadas em micrótomo American Optical a

4 micrômetros (μm) e coradas em hematoxilina-eosina e tricrômico de Mallory⁽³⁾.

Para a morfometria digital utilizou-se um microscópio binocular American Optical, modelo BX50, ocular de 10 aumentos e objetiva de 40x, acoplado à videocâmara CCD101 Sony, que enviou imagens a um microcomputador Pentium, utilizando o *software* OPTIMAS®. Nesse processo foi medida a fibroplasia, usando-se o aplicativo morfometria de linhas do *software* já mencionado.

A fibroplasia foi medida traçando-se uma linha a partir da membrana basal da epiderme até o final da área neocolagenizada. Foram tomadas 20 medidas de cada animal, sendo então analisadas as médias dessas medidas.

Para esses testes, que envolveram observações pareadas, adotou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon e Mann-Whitney⁽¹⁸⁾. Em todos os testes adotou-se o nível de significância de 5%.

Resultados

Resultados clínicos e histológicos

No grupo EI, após a aplicação do *laser*, ocorreu a formação de crosta sero-hemática, que se destacou em torno do sétimo dia do pós-operatório, dando lugar a uma área com reepitelização completa em torno do décimo dia.

No grupo EII observou-se, clinicamente, a formação de uma crosta na porção distal do retalho sobre uma área necrótica. No 21º dia, nenhum dos animais apresentava a área de necrose distal, que se destacou, dando lugar a um tecido de granulação em contato com a porção proximal de retalho, viável com hiperemia, e que desapareceu a partir do 28º dia, quando a epitelização de toda a área do retalho já estava completa. Não houve hematoma, infecção ou deiscência de sutura nesse grupo durante todo o período do experimento.

Em ambos os grupos experimentais, no 14º dia havia na derme superficial uma camada larga de deposição de

colágeno ainda jovem, ocorrendo espessamento ainda maior no 28º dia, com conseqüente maturação desse colágeno a partir do 56º dia, onde este se torna bem menos celular e vascularizado. A camada de colágeno se espessa mais e continua seu processo de maturação no 84º dia, e, por fim, no 112º dia tem-se na derme superficial uma camada ampla de deposição de colágeno maduro. Observa-se que o tecido conjuntivo maduro é pouco celular e vascularizado, além de conter grande quantidade de matriz colágena (**Tabela**).

Resultados morfológicos

A Tabela demonstra a média das medidas da fibroplasia nos diferentes períodos do pós-operatório avaliados nos grupos EI e EII com valores em micrômetros.

A **Figura 1** pretende comparar e demonstrar a diferença estatística da espessura da fibroplasia ($p < 0,05$), em ambos os grupos experimentais, em cada dia do sacrifício.

A análise logarítmica da suposta tendência de crescimento das curvas de espessura da fibroplasia nos grupos EI e EII, quando se extrapola o tempo de pós-operatório para 12.000 dias, demonstrou que no primeiro experimento a curva teve um crescimento significativo até o 112º dia e continuou ascendente com valores tendendo ao infinito. Já no segundo experimento, a curva teve caráter crescente, porém alcança estabilidade mais precocemente. Podemos observar ainda que as duas curvas parecem nunca se encontrar (**Figura 2**).

Na Tabela observou-se que o grupo EI atinge um pico de fibroplasia muito acentuado no dia 28, sofrendo um leve decréscimo em seguida, para depois continuar crescendo até o dia 112. Já no grupo EII, observa-se que a curva apresenta um aumento de fibroplasia mais leve, atingindo um platô no dia 84 com menor tendência ao crescimento a partir daí, quando comparado ao grupo EI (Tabela e Figura 1). Além disso, todas as taxas de crescimento do grupo EII, quando comparadas ao EI, são numericamente menores (Tabela e Figura 1).

Medidas da espessura da fibroplasia nos dias 14, 28, 56, 84 e 112 do pós-operatório nos grupos EI (aplicação isolada do *laser*) e EII (aplicação do *laser* associada à cirurgia de *lifting*). Os valores médios especificados estão em micrômetros (μm), $p < 0,05$

Tabela 4

	Dia 14	Dia 28	Dia 56	Dia 84	Dia 112
EI	80,03	209,49	203,01	226,63	238,76
EII	131,03	134,67	159,89	173,05	182,01

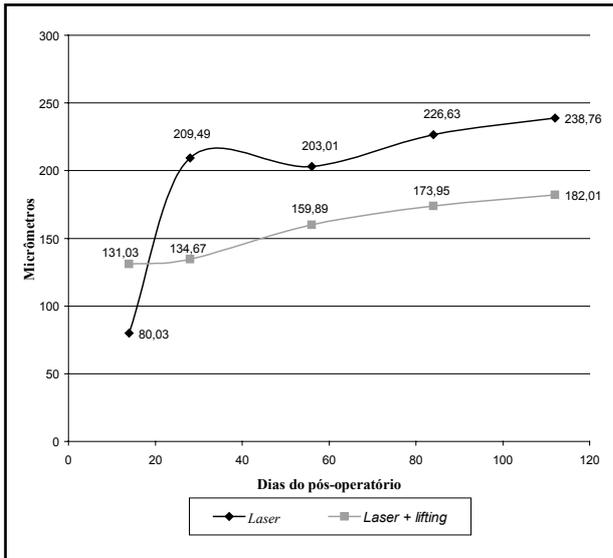


Figura 1 – Compara a espessura da fibroplasia em micrômetros (eixo Y) nos grupos EI (laser) e EII (laser + lifting) nos dias 14, 28, 56, 84 e 112 do pós-operatório (eixo X)

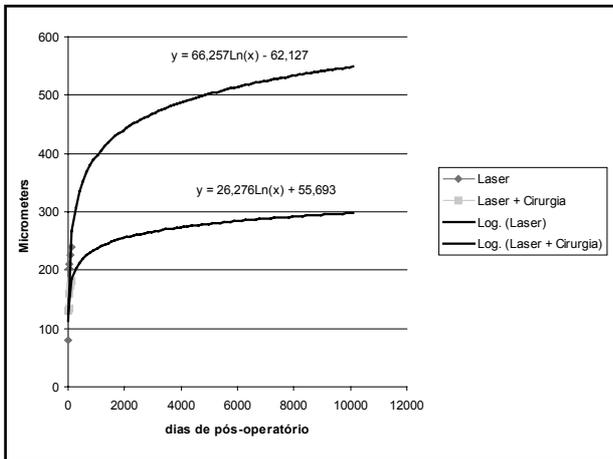


Figura 2 – Análise logarítmica da suposta tendência de crescimento das curvas de espessura da fibroplasia (no eixo Y) nos grupos EI (laser) e EII (laser e cirurgia de lifting) quando se extrapola o tempo de pós-operatório para 12.000 dias (eixo X)

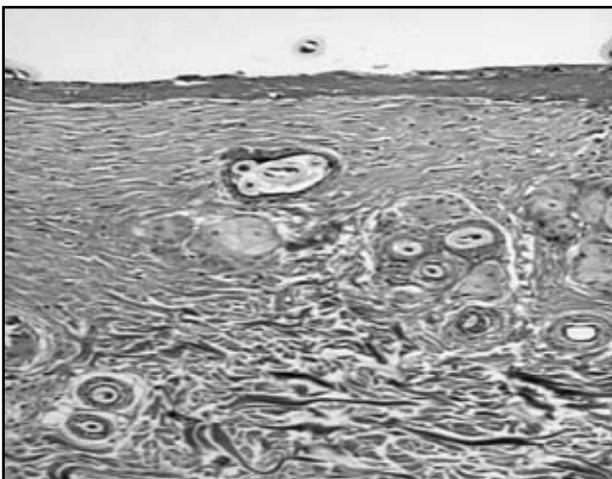


Figura 3 – Corte corado em tricrômico de Mallory de rato do grupo EI, objetiva de 10x, onde se observa fibroplasia com 14 dias, localizada nas dermes superficial e profunda, com atrofia de anexos

Discussão

As linhas de expressão da face podem ser tratadas por vários métodos, incluindo injeção de substâncias com ou sem reabsorção, *peelings*, dermoabrasão mecânica e *laser resurfacing* com CO₂ ou erbium:YAG. Atualmente tem sido aplicado com eficácia o uso do *laser*, tanto pelo poder do CO₂ de eliminar rugas e cicatrizes devido a sua capacidade de induzir vaporização tecidual, quanto pela peculiaridade do Erbium: YAG de remover cicatrizes delicadas^(7, 9, 14, 16, 17).

O rejuvenescimento com o uso de *laser* ocorre devido à remoção da epiderme e da derme superficial, produzindo a formação de uma nova epiderme com colagenização e remodelamento da pele. A deposição inicial desorganizada do colágeno é importante no processo de cicatrização. À medida que o processo de cicatrização evolui, fibras são constantemente formadas a fim de preencher o local lesado. A matriz recém-formada sofrerá processo de maturação lenta ao longo de meses, mas nesse período a densa rede de capilares e o número de fibroblastos diminuem até que só retem relativamente poucos capilares e fibroblastos imersos em densa matriz colágena madura, mais resistente à tração^(8, 11, 15, 20).

Recentemente, estudos demonstraram a existência de fortes evidências de que a célula responsável pela contração cutânea é o miofibroblasto – fibroblasto modificado presente no processo de neocolagenização –, embora não haja dúvidas quanto à participação de componentes da matriz colágena nesse processo. A contração dinâmica do miofibroblasto pode produzir a força que reorienta o colágeno que o circunda^(4, 20).

Os retalhos cutâneos são definidos como aqueles formados por pele e planos subcutâneos dependentes de um pedículo vascular, sendo que o caudal baseado na técnica de McFarlane *et al.*, modificado por Khouri *et al.*, apresenta duas artérias ao invés de uma encontrada nos retalhos com pedículo cranial. O nosso estudo realizou retalho caudal, tendo assim facilidade para controlar o percentual de necrose da porção distal, uma vez que nas primeiras 24 horas, período suscetível à necrose, o suprimento vascular do retalho é responsabilidade única e exclusiva do pedículo^(5, 13).

Atualmente, vários autores sugerem a escolha do *laser* de erbium:YAG para a aplicação sobre retalhos cutâneos faciais, pois esse aparelho apresenta menor dano térmico residual, com maior precisão da ablação, facilitando assim o controle de profundidade de ação e conseqüentemente da manutenção da integridade dos vasos sanguíneos subdérmicos, responsáveis, junto com o pedículo, pela nutrição da pele do retalho após as primeiras 24 horas^(8, 12-14, 16).

No estudo de Fulton, em que se realizou a combinação das duas técnicas (*lifting* e *resurfacing*), os resultados foram favoráveis. Não foi necessário maior tempo de convalescença e não foram encontradas complicações com a técnica combinada. O hematoma, o edema e a resposta inflamatória não foram mais intensos que o ocorrido na técnica de *lifting* isolada. Quatro pacientes, num total de 25, tiveram significante equimose e dois dos 25 tiveram uma pequena área de necrose parcial⁽⁶⁾.

Neste estudo, não se pode descartar a possibilidade de utilizar as duas técnicas conjugadas, considerando as vantagens do procedimento anestésico único e o tempo de recuperação mais rápido e sem intervalos, uma vez que os resultados obtidos nesse experimento revelam que, apesar de ser menor a taxa de fibroplasia no grupo EII, esta é crescente.

Alguns elementos deste estudo sugerem que o processo de fibroplasia sofreu retardo no grupo EII. Esse retardo pode ser temporal, já que as duas curvas tendem ao infinito, ou ainda quantitativo, já que mesmo com as duas curvas de fibroplasia tendendo ao infinito, a curva do grupo EII atinge um platô mais precocemente e tem menor tendência ao crescimento que a curva do grupo EI. Parece paradoxal pensar que dois procedimentos possam produzir menos neocolagenização do que um procedimento isolado, porém esses dois procedimentos atingem compartimentos

separados e seus processos de cicatrização não se fundem. O retalho produz fibroplasia na hipoderme e o *laser* na derme superficial.

Em vista dos resultados obtidos, observamos que o processo cicatricial que ocorre na hipoderme pode ter influência sobre aquele da derme superficial. Podemos supor, ainda, que dois processos inflamatórios simultâneos tão próximos possam retardar a cicatrização, explicando assim por que a curva do experimento EII sempre apresenta valores mais baixos, porém crescentes. Contudo, isso não explica por que a análise logarítmica das curvas demonstra que elas nunca se encontrarão, isto é, o grupo EII provavelmente nunca atingirá a espessura de fibroplasia que o EI atingiu. Talvez uma explicação razoável seja a influência da oxigenação deficiente produzida pelo levantamento do retalho sobre a neocolagenização induzida pelo *laser*.

Conclusão

Neste trabalho observou-se que a quantidade de colágeno nos grupos do *laser* isolado e associado a *lifting* aumentou, sendo que no segundo grupo (EII) os valores foram sempre menores, com exceção do dia 14. No grupo do *laser* associado ao *lifting* a curva que mede a quantidade de colágeno teve caráter crescente, porém com menor ascendência em relação ao grupo do *laser* isolado.

Referências

1. ALSTER, T. S. Combination surgical lifting with ablative laser skin resurfacing of facial skin: a retrospective analysis. *Dermatol Surg*, v. 30, p. 1191, 2004.
2. BAKER, T. J. Chemical face peeling and rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg*, v. 29, p. 199, 1962.
3. BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. *Theory and practice of histological techniques*. London: C. Livingstone, 1982.
4. BECKER, F. F. Circumoral chemical peel combined with cervicofacial rhytidectomy. *Arch Otolaryngol*, v. 109, p. 172, 1983.
5. CORSI, R. C. C. et al. Wound healing: a review. *Rev bras Cir*, v. 84, n. 1, p. 17-24, 1994.
6. FULTON, J. Simultaneous face lifting and skin resurfacing. *Plast Reconstr Surg*, v. 102, p. 2480-9, 1998.
7. GRAF, R. *Estudo da contração cutânea após o uso do laser de Erbium:YAG em ratos*. Curitiba, 2000. Dissertação – Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná, Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.
8. GRAF, R. *Efeito do laser Erbium:Yttrium Aluminum Garnet (Er:YAG) na viabilidade, contração e fibroplasia de retalho cutâneo dorsal em ratos*. Curitiba, 2001. Tese – Universidade Federal do Paraná.
9. GRAF, R. et al. Facial rejuvenation with CO2 laser: a study of 200 patients. *Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica*, v. 13, n. 2, p. 13-24, 1998.
10. LEVY, J. et al. Treatment of wrinkles with the nonablative 1,320-nm Nd:YAG Laser. *Ann Plast Surg*, v. 47, p. 482-8, 2001.
11. NORONHA, L. et al. Estudo morfométrico e morfológico da cicatrização após uso do laser Erbium:YAG em tecidos cutâneos de ratos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 1, p. 41-8, 2004.
12. NORONHA, L. et al. Histopathologic and morphometric evaluation of the skin abnormalities induced by Erbium:YAG and carbon dioxide lasers in 10 patients. *Plast Reconstr Surg*, v. 108 supl., p. 1380-8, 2001.
13. NORONHA, L. et al. Estudo histológico quantitativo da proliferação vascular após o uso de laser Erbium:YAG em retalhos cutâneos de ratos. *Patologia – Revista Latino Americana*, v. 40, n. 4, p. 211-8, 2002.

14. NORONHA, L. et al. Análise morfométrica e morfológica das alterações cutâneas após uso de laser Nd-YAG em tecido palpebrais humanos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 3, p. 193-9, 2004.
15. NORONHA, L. et al. Alterações histopatológicas causadas pela aplicação de Laser CO2 em pele humana para fins de rejuvenescimento. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, v. 4, p. 179-83, 2000.
16. NORONHA, L. et al. Estudo comparativo das extensões das lesões causadas por duas e quatro passadas de laser Erbium em ratos wistar com 0% de sobreposição dos spots. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 16, n. 2, p. 97-102, 2001.
17. NORONHA, L. et al. Estudo comparativo das alterações histológicas imediatas causadas pelo uso de laser de CO2 e do laser de Erbium na pele de ratos wistar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 37, n. 4, p. 273-8, 2001.
18. SIEGEL, S. *Nonparametric statistics*, N.Y.: McGraw-Hill, 1956.
19. WEINSTEIN, C. et al. Combined Erbium:YAG laser resurfacing and lifting. *Plast Reconstr Surg*, v. 107, p. 593-4, 2000.
20. WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*, v. 77, n. 3, p. 509-28, 1997.

Endereço para correspondência

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR)
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)
Laboratório de Patologia Experimental (LPE)
Rua Imaculada Conceição, 115 – Prado Velho
CEP 80215-901 – Curitiba – PR
Tel.: (41) 3271-2264