

Métodos objetivos para análise de estudos em dermatologia cosmética

Objective methods for analyzing outcomes in research studies on cosmetic dermatology

Mônica Manela-Azulay¹
Joana Cunha Araújo Pinheiro³
Giuliana Bottino Rangel⁵

Tullia Cuzzi²
David Rubem Azulay⁴

Resumo: A Dermatologia Cosmética é uma área em constante crescimento, motivo pelo qual se faz necessária a utilização de métodos objetivos para validar os resultados dos estudos científicos. As técnicas mais empregadas na maioria desses trabalhos são: histopatologia, imunoistoquímica, morfometria, estereologia, fotografia digital, biometria, profilometria óptica e microscopia confocal. Esta revisão tem como objetivo trazer informações sobre os principais métodos utilizados como ferramenta de análise dos resultados obtidos, além de auxiliar o dermatologista a aguçar seu senso crítico em relação às publicações e apresentações que se utilizam de métodos subjetivos de avaliação.

Palavras-chave: Dermatologia; Eficácia; Métodos

Abstract: Cosmetic dermatology is a field of medicine that is in constant development; therefore, the use of objective methods for validating the findings of scientific studies is crucial. The most commonly used techniques in the majority of these studies include histopathology, immunohistochemistry, morphometry, stereology, digital photography, biometry, optical profilometry and confocal microscopy. The objective of this review was to provide an update on the principal methods used as tools for analyzing outcomes and also to provide the dermatologist with means of sharpening his/her critical judgement with respect to the publications and presentations that use subjective evaluation methods.

Keywords: Dermatology; Efficacy; Methods

INTRODUÇÃO

A Dermatologia Cosmética é um segmento da Dermatologia geral que tem evoluído de modo extraordinário nos últimos anos. O surgimento de novos procedimentos, de produtos cosméticos, cosmecêuticos e de aparelhos a *laser* requer métodos científicos para validar a real eficácia, as indicações e os efeitos adversos desses novos tratamentos. Muitos estudos apresentam apenas observações clínicas subjetivas e fotografias como forma de avaliação de resultados, faltando, portanto, metodologia objetiva.

Este trabalho visa a divulgar alguns métodos possíveis de utilizar na avaliação dos resultados obtidos nos tratamentos cosméticos e apurar o senso crítico dos profissionais interessados nesta área do conhecimento médico.

HISTOPATOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA

A histopatologia é um método tradicional de observação e análise das alterações morfológicas que ocorrem nos órgãos. Os procedimentos de análise microscópica estão amplamente incorporados na rotina diagnóstica, em especial, na pele. As colorações utilizadas variam da hematoxilina-eosina (coloração de rotina) a outras colorações especiais que podem ser realizadas com o objetivo de identificar estruturas específicas, como fibras elásticas (orceína, Verhoeff-van Gieson e resorcina-fuscina de Weigert), colágeno (vermelho picro-sirius, tricrômico de Gomori e tricrômico de Masson), mucopolissararídeos (*alcian blue* e ferro coloidal), melanina (Fontana-Masson), lipídeos (vermelho-escarlate, óleo vermelho e Sudão), hemos-

Recebido em 05.03.2009.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 04.11.09.

* Trabalho realizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Serviços de Dermatologia e Patologia e Instituto de Dermatologia Professor Azulay (IDPA).

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest:* None

Suporte financeiro: Nenhum / *Financial funding:* None

¹ Professora adjunta de Dermatologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

² Professora adjunta do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³ Especialista em Clínica Médica e Dermatologia – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁴ Chefe do Instituto de Dermatologia Professor Azulay (IDPA). Professor assistente da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Professor titular da Pontifícia Universidade Católica (PUC) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵ Especialista em Clínica Médica e Dermatologia. Preceptora do Ambulatório de Cosmiatria do Instituto de Dermatologia Professor Azulay (IDPA). Mestranda da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

siderina (azul da Prússia) e outros.^{1,2}

Alguns estudos têm demonstrado que o envelhecimento cutâneo pode ocorrer com alterações na histopatologia em relação a uma pele jovem.^{3,4,5,6} Afinamento da epiderme com achatamento da junção dermoepidérmica e redução da celularidade na derme é observado, às vezes, na pele cronologicamente envelhecida.⁴ Não é raro acontecer de forma progressiva, no curso da vida,³ uma redução da sinuosidade do trajeto da epiderme ao longo do comprimento da superfície dérmica, associada ao aplanamento da derme papilar.

Na pele cronicamente exposta ao sol, a epiderme se encontra espessada, podendo atrofiar, no estágio final do fotoenvelhecimento; a acantose pode ser acompanhada de atipia celular, perda da polaridade dos núcleos e irregularidade no tamanho das células e das propriedades tintoriais.^{5,6} Os melanócitos estão aumentados em número e tamanho, enquanto as células de Langerhans estão diminuídas e com sua função comprometida; a derme, por sua vez, ao contrário da pele apenas cronologicamente envelhecida, apresenta maior número de fibroblastos, mastócitos e histiócitos, caracterizando o processo inflamatório denominado heliodermatite ou dermatoheliose.⁵ A característica histológica mais marcante do fotoenvelhecimento é a elastose solar, em que ocorre substituição das fibras colágenas maduras por colágeno de aspecto basofílico (degeneração basofílica do colágeno) na derme papilar e reticular.^{5,6}

Fragmentação das fibras elásticas e modificações na estrutura e composição das fibrilas de ancoragem, proteoglicanas e glicosaminoglicanas também têm sido descritas na pele fotoenvelhecida.

É interessante observar que as colorações mencionadas na histopatologia, em particular, o vermelho picrossírius para colágeno e resorcina-fuscina para fibras elásticas, em muito podem contribuir para uma análise objetiva de melhora ou não dos tratamentos cosméticos realizados. No caso da resorcina-fuscina, as fibras elásticas marcam-se em preto, o colágeno, em rosa a vermelho e os outros tecidos, em amarelo.¹ Na medida em que se utilizam estudos de morfometria, como se verá a seguir, pode-se quantificar colágeno e fibra elástica com a utilização de colorações específicas.^{7,8,9}

A imunoistoquímica tem por princípio uma reação antígeno anticorpo e, assim, o método é considerado bastante específico. Existe uma variedade de anticorpos capazes de identificar diferentes antígenos. Entre os mais empregados estão: colágeno tipos I e III;¹⁰ fibras elásticas através do anticorpo antielastina; tecido muscular pela vimentina e alfa-actina; melanócitos através do Melan A, HMB45, entre outros; os macrófagos têm como um dos marcadores o CD68.¹

No caso da hiperchromia cutânea idiopática da região periorbitária (olheiras), realizou-se um estudo

que identificou que o pigmento dessa condição é composto por melanina no interior de macrófagos, observados mediante o marcador CD68 e não pelo acúmulo de melanócitos, que seria identificado pelo Melan A.¹¹

MORFOMETRIA E ESTEREOLOGIA

A morfometria e a estereologia são técnicas semelhantes de medição de estruturas anatômicas, sendo que a primeira facilita a análise das imagens. A função é tornar mais objetiva e precisa a coleta, a apresentação e a análise dos resultados obtidos em pesquisas e na rotina de um laboratório, bem como relacionar diferentes estruturas anatômicas com suas funções.⁷

A estereologia interpreta o arranjo estrutural tridimensional interno pela análise de cortes da estrutura que mostra apenas uma informação bidimensional; ela trabalha com densidade. A morfometria é um método quantitativo bidimensional, determina comprimentos, áreas, perímetros e benefícios de imagem na análise de *software*. Segundo Aherme e Dunnill, apesar da discussão vigente sobre a nomenclatura, a morfometria e a estereologia deveriam ser consideradas um método único.¹²

A aplicação dessa metodologia melhora a capacidade do patologista para estabelecer o diagnóstico e, frequentemente, até mesmo o prognóstico de alguns processos patológicos estudados.¹³ Para tanto, utilizam-se equipamentos e acessórios para análise macroscópica e microscópica.

Na macroscopia, podem-se usar acessórios sofisticados associados à computação gráfica, ou métodos simples, como régua e fita métrica.^{3,7}

No caso da microscopia, os recursos mais empregados são a ocular integradora, cujo princípio de utilização é a identificação da sobreposição dos pontos ou linhas da ocular com determinadas estruturas, e a câmara clara, que, ao ser acoplada ao microscópio de luz ou lupa, permite o desenho do campo observado em uma folha de papel ou mesa digitalizadora. Também podem ser empregadas a ocular de tambor, para medir diâmetros de estruturas, e a ocular quadriculada, para avaliação de áreas.⁷

Embora esses recursos ainda estejam em uso, eles eram mais frequentemente utilizados antes do advento da morfometria computadorizada, a qual pode ser interativa ou automática. A interativa exige que as medidas sejam feitas com a participação direta do pesquisador, enquanto a automática, disponível a partir da década de 80, permite a medição automática, mais rápida e com menor interação do pesquisador.^{7,14} Os resultados são numéricos, de modo que não há subjetividade, e podem ser reproduzidos e verificados em outro momento por outro laboratório especializado.

Manela-Azulay, em sua tese de doutorado, mensu-

rou de forma objetiva, por meio de estudos de morfometria, o aumento do colágeno após o tratamento com vitamina C tópica 5% na pele fotoenvelhecida. Os resultados foram altamente significativos.⁸

FOTOGRAFIA DIGITAL

A ferramenta da fotografia digital é de grande valor na dermatologia prática e na área de pesquisa. Estudos científicos na dermatologia cosmética utilizam esse recurso com grande frequência, com a finalidade de demonstrar resultados de tratamentos. Muitas vezes, esse é o único método de aferição dos resultados, carregando um caráter de extrema subjetividade na interpretação dos resultados. Como se isso não bastasse, é preciso considerar, ainda, que parâmetros como luminosidade, distância e ângulo das fotos estão longe de serem adequados. A contratação de fotógrafos profissionais ou a realização das fotos com equipamento apropriado atenuam essa falta de metodologia.

Vale salientar que revistas científicas de maior credibilidade exigem, para a publicação de trabalhos, uma auditoria da autenticidade da foto, o que, em última análise, visa a verificar se a foto em questão foi submetida a edição prévia.¹⁵

Os *pixels* formam a imagem digital e são os pontos luminosos da imagem captados por um sensor eletrônico. Cada *pixel* registrado é codificado por uma localização topográfica na imagem fotográfica e tem uma intensidade de cor. Dessa forma, permite que os pesquisadores realizem mensurações como cálculos de distâncias, áreas, intensidades de cor e reconhecimento de padrões nas imagens digitais.^{15,16}

Como exemplo de aplicação, por meio da morfometria da imagem digital, é possível fazer uma quantificação de melanina por área antes e depois do tratamento da hiperpigmentação cutânea idiopática da região periorbitária com luz intensa pulsada. Assim, a associação desses dois métodos melhora a análise do estudo em questão.¹⁷

LUZ DE WOOD (LW) E FOTOGRAFIA ULTRAVIOLETA

A lâmpada de Wood foi inventada em 1903 por Robert Wood.¹⁸ A emissão da radiação ultravioleta de onda longa que ela faz é gerada por um arco de mercúrio de alta pressão através de um filtro feito de silicato de bário, com 9% de óxido de níquel, denominado filtro de Wood.¹⁹ Esse filtro é opaco a todas as luzes, exceto às que se situam na banda entre 320nm e 400nm, com o pico em 365nm. A fluorescência do tecido ocorre quando o menor comprimento de onda, nesse caso, entre 340nm e 400nm, inicialmente emitido pela luz de Wood (LW), é absorvido e apenas as radiações de comprimento de onda mais longas, geralmente no espectro da luz visível, são emitidas.¹⁹

Enquanto a melanina da epiderme e da derme

absorve a luz nessa faixa de onda, o colágeno na derme, ao absorvê-la, fluoresce graças às ondas de maiores comprimentos, como as visíveis, principalmente, na gama do azul. Dessa forma, com o emprego da LW, o colágeno fica ressaltado.

É importante enfatizar que a fluorescência da pele, em geral, é pobre. Seu espectro é alterado com a exposição solar crônica, devido, provavelmente, à alteração da elastina na derme.^{20,21} A fluorescência do tecido é derivada, principalmente, dos constituintes da elastina, colágeno, aminoácidos aromáticos, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), e, talvez, de precursores ou produtos da melanina. O exame do paciente deve ser realizado em um cômodo escuro, sem janelas, de preferência.^{22,23,24}

Na área da Dermatologia Cosmética, a LW pode ser utilizada nas desordens da pigmentação. Nas lesões hipopigmentadas ou acromicas devido a menor quantidade de melanina na epiderme, pode-se observar a autofluorescência do colágeno na derme induzida pela LW, de modo que a lesão aparece azul brilhante. Um exemplo útil é a repigmentação folicular precoce no tratamento do vitiligo com o uso de fotoquimioterapia.²⁵ Já nas hiperpigmentações cutâneas, quando a luz incide sobre a pele, fótons de comprimentos de ondas menores, especialmente, UVB (290nm-320nm) e UVA (320nm-400nm), são mais facilmente espalhados no estrato córneo e na epiderme. O oposto ocorre com fótons de maiores comprimentos de onda, como os da faixa visível (400nm-800nm), que penetram mais profundamente na derme.¹⁹

A melanina absorve luz intensamente, tanto na faixa ultravioleta, quanto na faixa visível. Quando a LW ilumina uma epiderme com grande quantidade de melanina, a maioria é absorvida, enquanto a pele adjacente, menos pigmentada, reflete luz como de costume, resultando em contrastes na borda entre as áreas com gradientes distintos de melanização. Sendo assim, as variações da pigmentação na epiderme se tornam mais aparentes sob a LW do que sob a luz comum.

Nas pigmentações dérmicas, esse contraste é menos aparente sob a LW, pois algumas das autofluorescências do colágeno se distribuem acima e abaixo da melanina dérmica, diminuindo, portanto, a quantidade de fluorescência visível.²⁶ De acordo com essas constatações, a LW pode contribuir para diagnosticar o melasma como epidérmico, dérmico ou misto, auxiliando, assim, no prognóstico em relação aos tratamentos.

Com os avanços tecnológicos, surgiu uma nova modalidade de avaliação da pele dos pacientes antes e depois de tratamentos dermatológicos, mediante a associação da fotografia digital com a luz ultravioleta. É a denominada fotografia ultravioleta ou foto UV, cujo filtro emprega o mesmo comprimento de onda da lâmpada de Wood. Essa combinação de tecnologias

facilita o registro das imagens com as peculiaridades inerentes já descritas e permitem, posteriormente, análises e comparações. Desse modo, é possível constatar, apesar das limitações da técnica, a evolução natural ou dos tratamentos oferecidos aos pacientes.

BIOMETRIA

A biometria é uma ciência que procura traduzir numericamente os fenômenos biológicos, estabelecendo relações entre os dados obtidos, com o fim de determinar as leis que os regem. Compreende um conjunto de métodos aplicados para diversas medidas. Utilizam-se instrumentos não invasivos para avaliar propriedades físico-químicas da pele, como oleosidade, hidratação, tônus, pH da pele, perda transepidérmica de água, propriedade de fricção da pele, entre outras. A biometria se realiza por meio de diferentes aparelhos.^{27,28,29}

A medida da perda de água transepidérmica indica o vapor d'água perdido através da superfície cutânea por difusão passiva. A importância dessa medida é avaliar a função de barreira da pele, que, por exemplo, fica reduzida na pele fotoexposta. A hidratação subcutânea é determinada pela medida da capacidade elétrica. A capacidade da água intracelular de conduzir elétrons no tecido subcutâneo se mede por um aparelho denominado corneômetro (*corneometer*).^{27,30,31} Os índices de descamação e ressecamento da pele também podem ser avaliados, respectivamente, pelos aparelhos Corneofix[®] e Visionscan[®]. Os corneócitos podem ser destacados com o uso de um pequeno adesivo sobre a pele. Sua espessura indica o grau de ressecamento desta (índice de descamação). O pH cutâneo é obtido por intermédio do *pbmeter*. Fazem-se três mensurações no mesmo local e realizam-se cálculos estatísticos.²⁸ O índice lipídico é calculado pelo Sebumeter[®], a quantidade de sebo na pele é expressa em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e a medida do lipídeo é baseada na fotometria da gordura da área em questão.²⁹

A umidade da superfície cutânea também pode ser mensurada pela biometria. A medida do ângulo de contato formado entre a superfície da pele e a água é um indicador de tendência hidrofóbica ou hidrofílica. O ângulo de contato entre 0° e 90° mostra capacidade hidrofílica da pele, ao passo que um ângulo de contato grande indica mais características de hidrofobia (lipofílico) na superfície cutânea. O aparato é composto por microscópio cirúrgico com um espelho orientado a 45° em relação à superfície estudada. Uma câmera de vídeo permite a visualização e o armazenamento da imagem.^{27,28}

As propriedades elásticas e viscoelásticas da pele também podem ser mensuradas por métodos de sucção (Cutometer[®]) ou por ondas de propagação acústica (Reviscometer[®]).³² Desse modo, medidas de pro-

priedades cutâneas são obtidas antes e depois do uso de determinado produto, para calcular sua eficácia.

PROFILOMETRIA ÓPTICA

A profilometria óptica é um processamento da imagem digital utilizado como método quantitativo para avaliação de características microtopográficas. Utiliza-se borracha de silicone para fazer um molde da pele que capta a topografia da superfície desta e fornece réplicas da mesma em negativo. Um sistema de processamento da imagem digital que consiste em uma videocâmera com imagens em preto-e-branco em alta resolução faz interface com um computador que contém, especificamente, a imagem designada. Usa-se um aparelho de iluminação em fibra óptica em um ângulo fixo para extrair detalhes da superfície cutânea. A imagem é digitalizada em uma matriz de 256-512 *pixels* com diferentes níveis de iluminação.³³

Gary L. Grove *et al.* demonstraram que o processamento da imagem digital das réplicas da superfície cutânea fornece um método conveniente para quantificar rítides.³³ Diversos estudos utilizam esse método para avaliação dos resultados na área da Dermatologia Cosmética.^{34,35}

MICROSCOPIA CONFOCAL

A microscopia confocal (MC) é um método de imagem não invasivo que permite avaliar características físicas da pele e seus anexos, *in vivo*, de forma tridimensional. Podem-se obter imagens de secção do tecido estudado sem que realmente se tenha seccionado ou fixado. A pele pode ser explorada em profundidade de até 350 μm com boa correlação com a histologia, ou seja, até a derme reticular superficial, sendo este um fator limitante.³⁶

O microscópio confocal de fluorescência por varredura a *laser*, referido como confocal, utiliza a fluorescência para a aquisição das imagens. Esta é um tipo de luminescência (emissão de luz) em que o corpo absorve luz e, após um curto intervalo de tempo, reemite a mesma. Os compostos químicos conhecidos como fluoróforos são utilizados para produzir a fluorescência do material em estudo.^{36,37}

A MC utiliza uma fonte de *laser* para promover a excitação dos fluoróforos. Através de um conjunto de lentes, o microscópio é capaz de focar um cone de luz *laser* em uma profundidade predeterminada da amostra a ser estudada. Mudando-se o ponto focal, é possível iluminar todo o plano em questão, ponto a ponto. Somente a luz dos pontos em foco é registrada e processada por computador; dessa maneira, imagens bidimensionais extremamente precisas podem ser construídas.³⁶

A obtenção de imagens sucessivas de diferentes planos da mesma amostra permite a construção de

imagens tridimensionais em movimento. Esse método levou a grandes avanços na pesquisa de organismos vivos. A combinação de princípios da óptica e da físico-química tornou possível, finalmente, “olhar de perto” variados tipos de células vivas e medir fenômenos biológicos em tempo e espaço reais.

Na Dermatologia, a MC tem sido aplicada em pacientes com psoríase, antes de uma cirurgia micrográfica de Mohs, para ver margens cirúrgicas, ceratoses actínicas, carcinomas basocelular e espinocelular, melanomas, infecções cutâneas fúngicas, virais e bacterianas e, mais recentemente, na área da Dermatologia Cosmética.^{37,38,39,40}

Essa modalidade é útil não apenas no diagnóstico, mas também no monitoramento de terapias e na avaliação da eficácia de tratamentos, devido, principalmente, ao seu caráter não invasivo. Alguns exemplos são os estudos comparativos que utilizam a MC para definir a resposta histopatológica entre ceratoses actínicas tratadas com terapia fotodinâmica e imiquimod. Permite, ainda, a avaliação de processos dinâmicos na resposta a tratamentos: observou-se, com a MC, que, após alguns minutos do tratamento de hemangioma com *pulse dye laser*, o fluxo sanguíneo dentro das lesões cessou e foi substituído por material amorfo.⁴¹

DISCUSSÃO

A Dermatologia Cosmética é uma área bastante exposta a novidades. O surgimento de novas tecnologias e novos cremes, na maioria das vezes, não é consubstanciado por trabalhos científicos; quando muito, os estudos estão atrelados à própria indústria geradora do produto. É de extrema importância que o dermatologista esteja atento e crítico aos trabalhos existentes e procure saber quais foram os métodos de avaliação utilizados, para, assim, analisar a real validade dos resultados.

A histopatologia e a imunoistoquímica são técnicas importantes para análise de um estudo científico, porém, é necessário submeter o paciente, no caso de estudo *in vivo*, a uma biópsia cutânea. Para tanto, é de fundamental importância a escolha cuidadosa do local adequado, para não haver falhas metodológicas; além disso, sem dúvida alguma, é preciso atentar para o resultado estético da cicatriz.

A morfometria é uma forma mais objetiva do que a histopatologia para quantificar as alterações histológicas apontadas por determinado estudo. É frequente encontrar fotos de histopatologia que pontualmente mostram melhora com o tratamento realizado. É importante ressaltar que exames histopatológicos isolados podem não refletir a realidade dos resultados, razão pela qual se faz necessário empregar técnicas

que quantifiquem, de forma objetiva, diversas áreas aleatoriamente selecionadas antes e depois do tratamento, a fim de evitar possíveis erros de resultados. A morfometria pode ser realizada não apenas a partir de uma peça histopatológica, mas também por uma fotografia digital.^{17,18,26} O inconveniente é que é um método que requer treinamento especializado nessa área e aparelhagem específica.

A fotografia digital é, sem dúvida, um método de extrema importância nos estudos, mas, em geral, carece de associação com outros métodos. O sucesso da análise real é a técnica fotográfica bem empregada. É indispensável reproduzir a mesma iluminação e a mesma posição do paciente no caso de fotografias comparativas de antes e depois nos tratamentos.²⁴

A biometria, por avaliar, sobretudo, propriedades mecânicas da pele, é muito empregada em estudos farmacológicos na avaliação da eficácia de produtos cosméticos e cosmeceúticos. Por meio dela, é possível mensurar oleosidade, hidratação da pele, entre outros aspectos, porém, cada modalidade de avaliação requer um aparelho específico.^{27,29,30}

A profilometria óptica é um método que já foi mais utilizado em pesquisas científicas. Deve ser realizada por um profissional muito bem treinado, para que as réplicas de silicone da superfície cutânea não produzam resultados falsos.³³ Devido a esse aspecto técnico, está em franco desuso.

A microscopia confocal confere vantagens em relação ao exame histopatológico convencional, pois não tem cortes e apresenta uma imagem de qualidade. No entanto, ainda é um método que apresenta limitações – tamanho do equipamento; técnica óptica propensa a artefatos visuais; desafio técnico/físico devido à profundidade de penetração óptica limitada dos *lasers* atuais; por fim, desafio educacional relacionado à interpretação visual das imagens pelos médicos.³⁷

CONCLUSÃO

Existem vários métodos para analisar os resultados de trabalhos científicos na área da Dermatologia Cosmética. É de extrema importância identificar o objetivo do estudo em questão para, então, optar pelo método de avaliação ou, mesmo, por uma combinação entre eles. Com essa abordagem, evitar-se-ia o caráter de subjetividade tão frequentemente encontrado nas conclusões apresentadas de trabalhos nesse campo da medicina atual.

Para consolidar ainda mais os avanços da Dermatologia Cosmética, é imprescindível utilizar técnicas confiáveis de análise dos resultados encontrados nos estudos científicos, para que estes sejam fidedignos. □

REFERÊNCIAS

1. Rapini RP. Dermatopatologia Prática. Rio de Janeiro: Di livros; 2007. p.373-7.
2. Cuzzi-Maia T, Piñeiro-Maceira J. Dermatologia - bases para o diagnóstico morfológico. São Paulo: Roca, 2001. p.2-11.
3. Oriá RB, Ferreira FVA, Santana EN, Fernandes MR, Brito GAC. Estudos das alterações relacionadas com a idade na pele humana, utilizando métodos de histo-morfometria e autofluorescência. *An Bras Dermatol.* 2003;78:425-34.
4. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S et al. Mechanisms of Photoaging and Chronological Skin Aging. *Arch Dermatol.* 2002;138:1462-70.
5. Manela-Azulay M. Fotoenvelhecimento. In: Azulay & Azulay. *Dermatologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.722-726.
6. Gonçalves AP. Envelhecimento cutâneo cronológico. *An Bras Dermatol.* 1991;66:4S-6S.
7. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cien.* 2003;75:469-86.
8. Manela-Azulay M. Efeitos clínicos e histológicos resultantes da aplicação da vitamina C tópica no tratamento do fotoenvelhecimento [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.
9. Rabello-Fonseca RM, Azulay DR, Luiz RR, Mandarim-de-Lacerda CA, Cuzzi T, Manela-Azulay M. Oral isotretinoin in photoaging: clinical and histopathological evidence of efficacy of na off-label indication. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009;23:115-23.
10. El-Domyati M, Attia S, Saleh F, Brown D, Birk DE, Gasparro F, Ahmad H, Uitto J. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol.* 2002;11:398-405.
11. Cymbalista NC. Hiperchromia cutânea idiopática da região orbital: avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica antes e após tratamento com luz intensa pulsada de alta energia. [tese] São Paulo(SP): Universidade de São Paulo; 2004.
12. Aherme WA, Dunnill MS. Morphometry. London: Edward Arnold. 1982.
13. Collan Y. Stereology and morphometry in histopathology. Principles of application. *Anl Quant Cytol Histol.* 1985;7:237-41.
14. Vitellaro-Zuccarello L, Cappelletti S, Dal Pozzo Rossi V, Sari-Gorla M. Stereological analysis of collagen and elastic fibers in the normal human dermis: variability with age, sex, and body region. *Anat Rec.* 1994;238:153-62.
15. Miot HA, Paixão MP, Paschoal FM. Fundamentos da fotografia digital em dermatologia. *An Bras Dermatol.* 2006;81:174-80.
16. Levell NJ, Lawrence CM. The use of a digitizer to measure area in dermatology. *Physiol Meas.* 1993;14:401-10.
17. Cymbalista NC, Prado de Oliveira ZN. Treatment of idiopathic cutaneous hyperchromia of the orbital region (ICHOR) with intense pulsed light. *Dermatol Surg.* 2006;32:773-84.
18. Wood RW. Secret communications concerning light rays. *J Physiol.* 1919; 5th series:t IX.
19. Asawanonda P, Taylor CR. Wood's light in dermatology. *Int J Dermatol.* 1999;38:801-7.
20. Leffell DJ, Stetzel ML, Milstone LM, Deckelbaum LI. In vivo fluorescence of human skin. A potential marker of photoaging. *Arch Dermatol.* 1988;124:1514-8.
21. Anderson RR. In vivo fluorescence of human skin. A potential marker of photoaging (letter). *Arch Dermatol.* 1989;125:999-1000.
22. Fullner MJ, Chen AS, Mont M, McCabe J, Baden M. Patterns and intensity of autofluorescence and its relation to melanin in human epidermis and hair. *Int J Dermatol.* 1979;18:722-30.
23. Mustakallio KK, Korhonen P. Monochromatic ultraviolet-photography in dermatology. *J Invest Dermatol.* 1966;47:351-6.
24. Fulton JE Jr. Utilizing the ultraviolet (UV Detect) camera to enhance the appearance of photodamage and other skin conditions. *Dermatol Surg.* 1997;23:163-9.
25. Jillson OF. Wood's light: an incredibly important diagnostic tool. *Cutis.* 1981;28:620-6.
26. Gilchrist BA, Fitzpatrick TB, Anderson RR, Parrish JA. Localization of melanin pigmentation in the skin with Wood's lamp. *Br J Dermatol.* 1977;96:245-8.
27. Elkhyat A, Agache P, Zahouani H, Humbert P. A new method to measure in vivo human skin hydrophobia. *Int J Cosm Sci.* 2001; 23:347-52.
28. Fotech C, Elkhyat A, Mac S, Sainthillier JM, Humbert P. Cutaneous differences between Black, African or Caribbean Mixed-race and Caucasian women: biometrological approach of the hydrolipidic film. *Skin Res Technol.* 2008;14:327-35.
29. Nouveau-Richard S, Zhu W, Li YH, Zhang YZ, Yang FZ, Yang ZL et al. Oily skin: specific features in Chinese women. *Skin Res Technol.* 2007;13:43-8.
30. Xhaufaire-uhoda E, Pierárd GE. Skin capacitance imaging of acne lesions. *Skin Res Technol.* 2007;13:9-12.
31. Andersen F, Hedegaard K, Petersen TK, Bendtslev-Jensen C, Fullerton A, Andersen KE. The hairless guinea-pig as a model for treatment of cumulative irritation in humans. *Skin Res Technol.* 2006;12:60-7.
32. Pauye M, Mac-Mary S, Elkhyat A, Tarrit C, Mermet P, Humbert PH. Use of Reviscometer for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Res Technol.* 2007;13:343-9.
33. Grove GL, Grove MJ, Leyden JJ. Optical profilometry: an objective method for quantification of facial wrinkles. *J Am Acad Dermatol.* 1989;21:631-7.
34. Rabe JH, Mamelat AJ, McElgunn PJ, Morison WL, Sauder DN. Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55:1-19.
35. Chiu A, Kimbal AB. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. *Br J Dermatol.* 2003;149:681-91.
36. Metz HL. Microscópio Confocal [tese]. Campinas (SP):

- Universidade Estadual de Campinas; 2008.
37. Astner S, González S, González E. Microscopia confocal de reflexão a laser. In: Azulay RD, Azulay DR, Azulay LA. *Dermatologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.865-74.
 38. Gonzalez S, Sackstein R, Anderson RR, Rajadhyaksha M. Real-time evidence of in vivo leukocyte trafficking in human skin by reflectance confocal microscopy. *J Invest Dermatol*. 2001;117:384-6.
 39. Morra D, Torres A, Schanbacher C, Gonzalez S. Detection of residual basal cells carcinoma by in vivo confocal microscopy. *Dermatol Surg*. 2005;31:538-41.
 40. Torres A, Niemeyer A, Berkes B, Marra D, Schanbacher C, Gonzalez S, Owens M, Morgan B. 5% imiquimod cream and reflectance-mode confocal microscopy as adjunct modalities to Mohs micrographic surgery for treatment of basal cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 2004;30:1462-9.
 41. Gonzalez S, Swindells K, Rajadhyaksha M, Torres A. Changing paradigms in dermatology: confocal microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol*. 2003;21:359-69.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA / MAILING ADDRESS:

Mônica Manela Azulay
Av. Américas, 2.111 - Salas 102-104
Barra da Tijuca
22631 000 Rio de Janeiro RJ
Tel./Fax: 21 2493 8418
E-mail: m.azulay@msm.com.br

Como citar este artigo/*How to cite this article*: Manela-Azulay M, Cuzzi T, Araújo-Pinheiro JC, Azulay DR, Bottino-Rangel G. Métodos objetivos para análise de estudos em dermatologia cosmética. *An Bras Dermatol*. 2010;85(1):65-71.