

Uso de All Trans Retinoic Acid Injetável no Tratamento de Rugas Finas

Jussara G. Perssonelle¹
Shirley de Campos²
Gustavo Queiroz Ribeiro³
Rogerio de O. Ruiz³

- 1] Diretora Clínica do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital Saint Paul - São Paulo - SP.
- 2] Imunologista e Alergista do Hospital Adventista de São Paulo - São Paulo - SP.
- 3] Médico Assistente do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital Saint Paul - São Paulo - SP.

Endereço para Correspondência:

Jussara G. Perssonelle
Av. Moema, 170 cj. 111
04077-020 - São Paulo - SP
Fone: (011) 549-5363

Unitermos: Rugas faciais, ácido retinóico.

RESUMO

Este trabalho é baseado no tratamento de choque, com as formas creme tópica e líquida injetável-dérmica a 0,1% de All Trans Retinoic Acid (Tretinoína), com bio-presença de 0,02%, associado a exposição a luz azul, com 340 nanômetros, para estabilização do complexo proteico "Retinoic Binding Protein" que proporciona a penetração intracelular do ácido.

Utilizamos uma média de dez sessões com intervalo de uma semana, em que observamos a melhora da textura da pele, diminuição das rugas finas e vincos.

HISTÓRICO

- ◆ 1909 - STEPP⁽³⁹⁾ - reportou uma substância lipossolúvel em extrato de ovo fundamental para a vida;
- ◆ 1913 - McCOLLUM and DAVIS⁽³⁰⁾ - descobriram substância lipossolúvel ("Fat Soluble A") que promove o crescimento em ratos;
- ◆ Anos 20 - Vários autores, MOORE et al⁽²⁹⁾ - relacionaram a deficiência desta substância à xeroftalmia e ausência de visão noturna;
- ◆ 1931 - KARRER et al⁽²⁰⁾ - determinaram a estrutura química do retinol;
- ◆ 1935 - George WALD⁽⁴⁷⁾ - descobriu que a cegueira noturna era causada pela deficiência de rodopsina, de química foto-sensível feita pela vitamina A através da excitação visual. "Prêmio Nobel".
- ◆ 1937 - HOLMES AND CORBET⁽¹⁸⁾ - isolaram vitamina A pura em fígado de peixe.
- ◆ 1946 - ARENS AND VAN DORP⁽²⁾ - síntese química da vitamina A;
- ◆ 1962 - STTUTGEN⁽⁴¹⁾ - primeira avaliação clínica da doença hiperqueratótica;
- ◆ 1968 - KLIGMAN⁽²¹⁾ - primeira avaliação clínica da acne;
- ◆ 1971 - Johnson & Johnson⁽³¹⁾ - conseguiu aprovação do uso de Retin-A 0,1% para tratamento da acne;

- ◆ 1985 - ORTHO, R. W.⁽³¹⁾ - Johnson Pharmaceutical Research Institute começa um estudo do dano tecidual pela luz com Retin-A;
- ◆ 1987 - ORTHO, R. W.⁽³¹⁾ - começa um estudo com creme emoliente de tretinoína;
- ◆ 1989 - ORTHO, R. W.⁽³¹⁾ - completado este estudo.

METABOLISMO DA VITAMINA A (ÁCIDO RETINÓICO)

Segundo F. D. A. (Food and Drug Administration), as recomendações diárias de vitamina A são: adultos 5.000 U. I e crianças 1.500 U.I., sendo que: U.I. = 0,3 mg de all-trans retinol ou U.I. = 0,344 mg de retinil acetato ou 1 U.I. = 0,6 md β -caroteno (1 R.E. = Retinol equivalente).

METABOLISMO INTRACELULAR DA VITAMINA A

As células afins à vitamina A são principalmente as do tegumento cutâneo, rins, testículos, próstata, tecido mamário, fígado, pulmões, retina, cólon, útero e timo.

Como se observou no metabolismo extracelular, a captação dos elementos biologicamente ativos da vitamina A pela célula depende de inúmeros fatores como: PH, enzimas, concentrações baixas de cálcio, íons Mg^{+} , saturação de receptores da membrana, ATP, etc. e até estímulo luminoso.

OS RETINÓIDES COMO PIGMENTO CROMÓFORO

CARR em 1926⁽⁸⁾, CANTAROW em 1969⁽⁷⁾ demonstraram *in vitro* o aspecto de absorção do retineno ao nível de 345 nm que corresponde ao espectro de luz visível do violeta-azul; mais recentemente, em 1968, ESCRIBANO⁽¹⁴⁾ demonstrou *in vitro* que a proteína HC (α 1- microglobulina) está presente no plasma humano como um monômero livre ou como uma proteína HC-IgA complex, demonstrando ainda que a proteína HC é heterogênea e na maioria das vezes se comporta como um cromóforo fluorescente amarelo-marrom, tendo sido identificado como um retinol. Analisado sob uma cromatografia demonstrou que em uma absorvância de 330 nm a proteína HC-IgA complex se manteve estável mais tempo e que no espectro da luz ultravioleta (290-320 nm) esta ligação foi destruída. Lembramos ainda que a proteína HC foi identificada como all-trans retinol. Proteína HC ou all-trans-retinol por analogia à seqüência de aminoácidos^(26, 19) foi classificada como da família lipocalins as quais são responsáveis pelo transporte de pequenas biomoléculas lipofílicas (ou seja, retinol). As α -lactoglobulinas também

foram identificadas carregando pigmentos cromóforos.

Segundo KUTNER 1986⁽²³⁾ as formas all-trans-retinoico acid, 13-cis retinoico acid e retinoil β glicuronide foram consideradas biologicamente ativas e eficazes com uma absorvância de luz de 340 nm nos estudos cromatográficos.

Pelos estudos de GLOVER 1983⁽¹⁷⁾ o complexo RBP (Retinol Binding Protein) em associação com tirosina (TRBP) mantém por mais tempo a estabilidade do retinol no complexo RBP. A deficiência protéica (mal nutrição) e deficiência de zinco afetam os níveis séricos de RBP.

Nos trabalhos de TANNER 1962⁽⁴²⁾ observamos que o crescimento das crianças é maior no verão do que no inverno e que as taxas plasmáticas de RBP são maiores durante a manhã decaindo à tarde e mais ainda à noite.

CHANDHARY 1986⁽⁹⁾ relata em uma experiência *in vitro* com testículo de rato que, após injeção de all-trans-11-3H Retinilacetate e separação dos metabólitos através de líquido cromatográfico de alta performance, obteve a uma absorvância de 340 nm, o aparecimento de ácido retinóico aos 20 minutos do experimento.

Em analogia com o ciclo da visão, nos relatos de STRYER⁽⁴⁰⁾ o pigmento cromóforo dos cones da retina é o cis-retinal, que na exposição à luz (espectro visível) tem associação protéica numa absorvância de 340 nm.

EFEITOS DA VITAMINA A NO TEGUMENTO CUTÂNEO

A vitamina A é essencial para a estimulação do crescimento e tem propriedades para desenvolver o tecido esquelético, a reprodução normal, manter o ciclo da visão e o mais importante, a função de diferenciação do tecido epitelial muco-secretante, WEBER⁽⁴⁸⁾, e ação anti-oxidante como quimio-preventivo MALONE⁽²⁷⁾.

Nas associações com vitamina C e E diminui o risco de angina pectoris, RIEMERSMA 1991⁽³⁴⁾. A deficiência da vitamina A leva a retardo do crescimento, má formações ósseas, degeneração dos órgãos reprodutores, cegueira noturna e severas alterações do epitélio incluindo xerofthalmia da conjuntiva e córnea, que pode resultar em queratomalácia e finalmente cegueira.

STTUTGEN⁽⁴¹⁾ em 1962 fez a primeira avaliação clínica da vitamina A associada à doença hiperqueratótica. Em 1968, KLIGMAN⁽²¹⁾ fez a primeira avaliação clínica da vitamina A em acne, dando início ao uso da vitamina A em alterações da pele, principalmente na Photo Aged Skin, nos seus estudos com retin-A através do ortho-diagnóstico (R. W. Johnson Pharmaceutical Research Institute)⁽³¹⁾.

Mais recentemente, em 1990, ELLIS⁽¹³⁾ demonstrou em estudo clínico e microscópico o uso tópico de tretinoína

0,1% creme (1.000 mg/ml) (all-trans retinoic acid, Retin-A) melhora a *Photo Aged Skin*, relacionando uma compactação do estrato córneo, aumentando a camada granular com maior espessura da epiderme, aumentando o número de mitoses dos queratinócitos, presença de glicosamino-glicanas, aumento das fibrilas de ancoragem da junção dermoepidérmica. O estudo foi completado em 4 meses e depois reavaliado aos 22 meses, observando clinicamente uma diminuição acentuada das rugas finas, vincos, melhor textura da pele, maior elasticidade, não tendo relacionado efeitos colaterais, confirmando os achados de KLIGMAN⁽²²⁾, LASNITZKI⁽²⁵⁾, WILSON⁽⁴⁹⁾.

O ácido retinóico, segundo JARDILLIER⁽¹⁹⁾, é mais eficaz que o retinol pois para a obtenção de glicosaminoglicanas (que mantêm a expressão das fibronectinas) não é necessária a glicolização. As fibronectinas estão diminuídas na *Photo Aged Skin* e têm crescimento descontrolado nas transformações malignas.

O ácido retinóico age sinergicamente com o hormônio da tireóide (mesmo receptores), aumentando o crescimento celular por aumento do hormônio do crescimento através da hipófise EVANS 1988⁽¹⁵⁾.

VARANI 1990^(45, 46) demonstrou que as ações do all-trans retinoic acid sobre o fibroblasto são diminuídas em presença de CA^{2+} 0,15 ml/l no meio extracelular e que o KGM (crescimento médio do queratinócito) é inibido em meio extracelular por CA^{2+} 1,4 ml/l.

BAILLY 1990⁽³⁾ localiza collagenases (metaloproteínas das papilas dérmicas) produzidas pelos fibroblastos, monócitos e queratinócitos, sendo inibidas pelo ácido retinóico ocasionando melhora da pele e produzindo efeitos terapêuticos.

O ácido retinóico pode ter a sua ação diminuída na presença de citral que é um conservante químico usado na maioria dos produtos cosméticos, CONNOR 1988⁽¹⁰⁾. A tretinoína (retin A-tópico) restaura a maturação epitelial no infundíbulo folicular no seu estado normal, promovendo uma descamação ordenada e prevenindo a formação de comedões, BIERMAN, C. 1988⁽⁴⁾.

A concentração sérica de RBP está diminuída nos pacientes com acne. Um adequado suprimento de vitamina A é essencial para o controle da diferenciação epitelial, enquanto que um excesso da mesma suprime a queratinização, melhora os eczemas crônicos (dermatite atópica), líquen-plano, pois nestas patologias encontramos alta concentração (2-3x) do dehidro retinol (RBP), confirmando uma alteração local do metabolismo intracelular da vitamina A, dando inflamação cutânea com hiperproliferação epidérmica. A origem dessa alteração é desconhecida. A melhora desses casos pela vitamina A ácida está diretamente relacionada ao seu efeito imunoregulador, ROLLMAN O. 1985⁽³⁵⁾.

MESIEWCZ 1991⁽²⁸⁾ mostrou uma melhora acentuada da queratose actínica com aplicação tópica de tretinoína 0,05% por 16 semanas, 2 vezes ao dia.

O β -caroteno e/ou vitamina C reduz a leucoplasia oral (lesão cancerosa na mucosa oral) funcionando como oxidante na quimioprevenção, SINGH 1991⁽³⁷⁾.

Estudos de reprodução em ratos e coelhos com doses tópicas de até 50 vezes acima da dose em humanos (assumindo-se que a dose em humanos seja de 500 mg de tretinoína gel/dia (retin A) não revelaram alterações sobre a capacidade reprodutiva ou embriotoxicidade. JOHNSON & JOHNSON 1989⁽³¹⁾. (Obs.: a dose por nós utilizada é de 0,0002 g/ml).

All trans retinoic acid segundo CONNOR 1983⁽¹⁰⁾ no tratamento tópico com ratos expostos a radiação ultravioleta (313 nm) demonstrou o efeito anti-carcinogênico. A aplicação está em dose única ou em 5 doses fracionadas de 3,4 mm de ácido retinóico em 0,1 ml de acetona. O grupo que recebeu as doses fracionadas⁽⁵⁾ teve um efeito anticarcinogênico maior que o grupo que recebeu doses únicas. FORBES 1979⁽¹⁶⁾ demonstrou o aumento do efeito carcinogênico da radiação ultravioleta pelo uso do ácido retinóico por tempo prolongado.

ROSENTHAL 1990⁽³⁶⁾ em estudos *in vitro* demonstrou a síntese de dois novos queratinócitos, a keratin K13 e K19, os quais são encontrados nos carcinomas de células escamosas. Entretanto SUTTER 1991⁽³⁸⁾ concluiu em estudos mais recentes que é sintetizada a keratin K4 tipo II (produzida na camada supra-basal) quando o epitélio é estimulado (sempre então aos pares). A expressão de K13 sem a ocorrência de seu par pode vir por estímulo de cálcio no meio extracelular ou vitamina A-ácida. A comparação destes dois mediadores de diferenciação epitelial, elucidando os fatores protéicos e os elementos do DNA na regulação da atividade genética de K13, se faz necessária. Porém levantam suspeitas e nos induzem a sermos mais cautelosos quanto ao uso indiscriminado da vitamina A-ácida.

Pelos estudos de TONG 1990⁽⁴³⁾ o trans retinoic acid pode estimular ou inibir a proliferação de queratinócito epidérmico em ratos. Ele observou que o EGF (fator de crescimento da epiderme) e o TGF α (fator de transformação do crescimento α) estimula a síntese do DNA na presença de ácido retinóico.

Já o TGF β (fator de transformação do crescimento β) inibia o EGF e a síntese do DNA em presença de baixa dose de R. A. Estes achados sugerem que a diferenciação dos efeitos dos retinóides na proliferação é devida ao aumento da resposta dos queratinócitos positiva ou negativa à produção dos peptídeos ou EGF, mantendo a homeostase da epiderme. Assim, os queratinócitos, para serem mitogênicos, aumentam o TGF α e inibem o TGF β . À luz destes achados encontrou-se que a hiperproliferação da

epiderme na psoríase se deve a uma expressão exagerada do RNAm e do peptídeo TGF α mas não do TGF β , sugerindo que a mitogenicidade excessiva pode causar uma hiperproliferação da epiderme. Entretanto, os retinóides podem causar uma resposta semelhante em pele normal, dependendo da regulação do mecanismo do Ca extracelular.

Começamos então a observar talvez o principal mecanismo dos retinóides de imunoregulação da epiderme com respostas específicas e complexas, tanto a endógenos como a exógenos.

EFEITO IMUNOREGULADOR DA VITAMINA-A ÁCIDA

De acordo com o relato de PENN e col.⁽³²⁾, a suplementação vitamínica A, C e E aumenta a função dos mediadores celulares imunológicos, sendo significativa a elevação do número absoluto de linfócitos T, seguida de conseqüente aumento dos linfócitos T4 (helper) e estabilização do linfócito T8 (supressor) em resposta à fitohemoaglutinina (mediador químico aumentado na presença das vitaminas A, C e E).

O presente estudo nos reporta ao *all trans retinoic acid*, especialmente, e sua função na imunoregulação e imunestimulação tanto na imunidade humoral (linhagem de linfócitos B) como na imunidade celular (linhagem de linfócitos T), CAMPOS⁽⁶⁾.

Conforme relatos de vários autores, a vitamina A perpetua a comunicação intracelular. Sabe-se que a síntese de prostaglandinas E2 pela epiderme na presença do *all trans retinoic acid* gera estimulação sanguínea permitindo uma resposta leucocitária rápida, estando, portanto, associado à melhora na defesa primordial contra bactérias, vírus, parasitas, processos tumorais benignos e malignos.

Sabe-se que o ácido retinóico promove também o aumento da interleucina.

A presença do ácido retinóico no tegumento cutâneo ativa a rede de células de Merkel e das terminações nervosas livres situadas na junção dermo-epidérmica, que são aceitas atualmente como elementos importantes na liberação das prostaglandinas D2, serotonina, leucotrienos (mediadores químicos) que estimulam a vasodilatação com conseqüente aumento da permeabilidade vascular; isto origina a chamada tecidual de elementos celulares e possivelmente de várias reações bioquímicas que passam a ser descritas.

As plaquetas são ativadas ao aderirem ao subendotélio, devido à exposição ao colágeno e à trombina. Novas plaquetas se ligam a estas formas ativadas, ativando-se também e liberando o ácido araquidônico, o PAF (fator de ativação plaquetário) e o ADP.

A trombina e o colágeno têm receptores diferentes na mem-

brana plaquetária; de sua ação ocorrem reações bioquímicas que levam à secreção dos grânulos das plaquetas, dentre os quais a liberação do IP3 (prostaglandina IP3), que é o segundo indutor importante de ativação plaquetária. O IP3 age como ionóforo de cálcio, aumentando sua concentração.

A concentração aumentada de cálcio ativa fosfolipases (enzimas), como a A2, que liberam o ácido araquidônico.

Como é necessário inibir ou competir com o ácido araquidônico, que tem como subproduto a tromboxana A2 (potente vasoconstritor e agregante plaquetário), deveremos estimular a produção de enzima ciclo-oxigenase pelas plaquetas e produzir então pequenas quantidades de tromboxana A3 que é fisiologicamente inativa, reduzindo a agregação plaquetária porém, mantendo a vasodilatação.

No endotélio, temos que a produção de prostaglandina I2 (potente vasodilatador e anti-agregante plaquetário) não é significativamente inibida e a atividade fisiológica de uma nova prostaglandina, a I3, é acrescentada à prostaglandina I2. O resultado é uma alteração de equilíbrio hemostático em direção a uma condição mais vasodilatadora, com menos agregação plaquetária, ABB 1982⁽¹⁾.

Do ácido araquidônico também são derivados os leucotrienos, estando os do tipo B4 (LTB4) envolvidos em doenças como artrite reumatóide e a psoríase. Quando o ácido araquidônico sofre a ação da enzima lipoxigenase, formam-se os leucotrienos do tipo B5 (LTB5), que possuem menor efeito sobre os processos inflamatórios e quimiotáticos, melhorando então o processo.

Há também relatos, como os de ABB⁽¹⁾, de que o ácido retinóico em uso prolongado e em concentrações não tóxicas, inibe a atividade espontânea do linfócito T-Killer natural humano, advertindo-nos, mais uma vez, para sermos cautelosos no uso prolongado da vitamina-A ácida.

ESTUDO LABORATORIAL

Foram observados vinte e oito ratos (neozelandeses), adultos (90 dias), brancos, num estudo duplo cego, quatorze machos e quatorze fêmeas, hípidos.

A duração da observação foi de quatro meses, sendo que sete machos e sete fêmeas pertenceram ao grupo controle, que recebeu apenas aplicação de veículo aquoso-alcoólico (A), e sete machos e sete fêmeas pertenceram ao grupo que recebeu a solução injetável de ALL TRANS RETINOIC ACID 0,1% (B) diluído tendo uma bio-presença de 0,02%.

Todos os animais foram colocados em gaiolas individuais, em uma sala fechada acusticamente, de 4 por 4 metros e mantidos em temperatura constante de 22 graus Celsius, recebendo iluminação artificial com luz branca de 100 W por 12 horas diárias, alternadas com 12 horas de escuro.

Os ratos receberam ração alimentar na primeira hora de iluminação, quantitativamente e qualitativamente padronizada.

O estudo foi efetuado sempre pelo mesmo técnico, que se manteve hígido; e as avaliações clínicas foram feitas pelo mesmo médico, nos quatro meses, que também se manteve hígido.

As aplicações foram semanais, realizadas duas horas após a alimentação dos ratos, por um período de quinze semanas.

TRATAMENTO

O estudo consistiu na aplicação de 0,1 ml da solução injetável de *all trans retinoic acid* 0,1%, intradérmica superficial, diluído 1:4 por prilocaína 1% com vasoconstritor, sendo então a bio-presença de 0,02%. As aplicações foram feitas na região da parede abdominal a cada sete dias, com assepsia prévia de álcool a 92 GL, com seringa do tipo tuberculina agulhada, sempre no mesmo local da aplicação anterior.

AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os grupos A e B foram submetidos a quatro tipos diferentes de avaliação.

PRIMEIRA AVALIAÇÃO:

Foi realizada no primeiro dia subsequente à aplicação, observando os seguintes itens:

1. Edema: O grupo A moderado e o grupo B de moderado a intenso.
2. Eritema: O grupo A moderado e o grupo B de moderado a intenso.
3. Necrose: Não foi observada nenhuma ocorrência tanto no grupo A, quanto no grupo B.

SEGUNDA AVALIAÇÃO:

Deve-se na observação do turgor cutâneo, foi realizada no início, após trinta dias e após sessenta dias. Início: Grupo A normal, grupo B normal em comparação com outros ratos. Após 30 dias: Grupo A diminuído, grupo B turgor moderado. Após 60 dias: Grupo A muito diminuído, grupo B discreto.

TERCEIRA AVALIAÇÃO:

Foi observado o comportamento dos animais e não houve mudanças, sendo a avaliação feita pela atividade do animal e a busca de alimento, e não houve mortes no período do estudo.

QUARTA AVALIAÇÃO:

Observaram-se lâminas anátomo-patológicas de cortes das áreas tratadas:

- ◆ FIBRAS COLÁGENAS: Coloração HE feita sessenta dias após o início do tratamento, por meio de biopsia, que mostrou aumento significativo de fibras colágenas, além de sua organização. O estrato córneo tornou-se mais fino e houve aumento da espessura da camada granulosa da epiderme.
- ◆ FIBRAS ELÁSTICAS: Coloração base argêntica, observação feita após sessenta dias do início do tratamento, por meio de biopsia; mostrou um aumento significativo de fibras elásticas.
- ◆ FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS: Coloração tricrômico de Masson, observação feita sessenta dias do início do tratamento, por meio de biopsia, mostrou aumento significativo das fibras colágenas e elásticas.

DISCUSSÃO

Após dois meses, observou-se que a aplicação da solução injetável de *all trans retinoic acid* 0,1% (diluído com bio-presença de 0,02%) por via intradérmica, em ratos adultos, hígidos, revelou-se isenta de toxicidade tecidual, embora a cada aplicação se observe intenso edema e eritema local, sem contudo haver necrose tecidual com aumento benéfico do turgor e o achado do aumento substancial da pilificação local, não se observando êxito letal nem efeitos adversos.

ESTUDO CLÍNICO

Pacientes

Neste trabalho realizou-se o tratamento em 351 pacientes sendo 31 do sexo masculino e 320 do sexo feminino. Os pacientes foram submetidos a uma média de quinze sessões sempre com intervalo de 7 dias a cada sessão.

Esses pacientes possuíam rugas finas, vincos e textura de pele alterada como *photo aged skin*, "pele senil" ou elastose.

Tratamento

O tratamento se baseou no emprego de *all trans retinoic acid* (tretinoína 0,1%) sob duas formas conjuntamente, líquida e creme. A forma líquida foi injetável intradérmica superficial, diluída 1:4 por prilocaína 1% com vasoconstritor sendo então a bio-presença de 0,02%. O tratamento se baseou, ainda, em coelhos realizado por CAMPOS⁽⁵⁾ de acordo com critérios da O. M. S. (Organização Mundial de Saúde) e pela exposição à luz

de 100 W, com comprimento de onda de ± 340 nm, a 50 cm de distância aérea a ser tratada por 20 minutos. O tratamento se inicia com limpeza prévia da pele com solução desengordurante e, a seguir, aplicações intradérmicas com seringa de 1 ml e agulha 12 x 4,5 mm nos vincos e pequenas rugas e disseminada por toda a face distantes de 1 cm, no plano intradérmico superficial. O limite de injeção em cada local foi a saturação da derme. Nos tratamentos estéticos, o creme de tretinoína 0,1% foi aplicado em toda a face e região cervical.

Observamos, ainda, que o máximo de produto líquido injetado a cada sessão foi 5 ml.

Após cada aplicação, aplica-se topicamente FPS 20, liberando-se o paciente. Esse tratamento foi realizado em consultório, semanalmente, até serem completadas 15 aplicações.

No domicílio, foi solicitado o uso de hidratante cutâneo a base de creme de lipossomos, uréia e hidroviton e uso de F.P.S. 20 (Fator de Proteção Solar) durante o dia; no período noturno, durante o tratamento, a paciente usa um creme de tretinoína 0,05%.

Resultados

Após cada aplicação conjunta de all-trans retinoic acid 0,1%, formas líquida (diluída com bio-presença de 0,02%) e creme, respectivamente, observou-se ligeiro ardor, prurido e eritema cutâneo nos primeiros dias, seguidos de descamação leve a partir do quinto dia.

Observou-se melhora significativa em todos os casos avaliados, com melhora da textura da pele e diminuição de pequenas rugas e vincos, não por preenchimentos destes, mas sim por aumento das fibras colágenas e elásticas as quais promovem uma retração cutânea melhorando a elasticidade da pele.

Em sete pacientes submetidos ao tratamento houve possibilidade de realização de lâminas de microscopia de tegumento cutâneo e ultra-microscopia eletrônica, com autorização prévia dos pacientes, confirmando os achados de KLIGMAN⁽²²⁾ ELLIS⁽¹³⁾, em que se observou compactação do estrato córneo, aumento da camada granular, aumento das fibrilas de ancoragem da lâmina basal, aumento e alinhamento das fibras colágenas.

Embora não se tenha comprovado efeitos teratogênicos humanos nas doses utilizadas, todos os pacientes com potencialidade de engravidar assinaram um termo de responsabilidade pelo uso após as aplicações necessárias. Os pacientes do presente estudo foram observados aos 6 e 12 meses. Em 23% determinou-se a necessidade de reforço de três aplicações com intervalo de sete dias na observação aos seis meses; nos outros 77% houve manutenção dos resultados.

Efeitos Adversos

Não foram observados efeitos adversos.

Análises sanguíneas foram realizadas em 71 pacientes que se submeteram a 15 aplicações, sendo que o valor de retinol, inicial e no final do tratamento, não se alterou, permanecendo sempre dentro dos limites da normalidade de 20-25 ug/dl., assim como as provas de função hepática, dosagem do colesterol sérico e dosagem de gama G.T.

DISCUSSÃO

A idéia da mudança na forma de tratamento mundialmente empregado de *all trans retinoic acid* primeiramente para tratamento estético nos surgiu pela observação de hiperpigmentações cutâneas após o uso prolongado do ácido (superior a dois anos), mesmo em pacientes que confirmaram seu uso correto (aplicação noturna e uso de protetor solar). Conjuntamente chegaram às nossas mãos os trabalhos de SUTTER⁽³⁸⁾ e RESENTHAL⁽³⁶⁾ mostrando o aparecimento de queratinócitos K13 com o tratamento de *all trans retinoic acid*, células estas obtidas pela estimulação prolongada dos queratinócitos do epitélio e encontradas em carcinoma de células escamosas de ratos, embora seja necessário um estudo mais aprofundado do seu aparecimento *in vivo*.

Iniciamos um estudo mais minucioso de *all trans retinoic acid* com a idéia de encurtar o tratamento, induzido pela ansiedade dos pacientes para obtenção de resultados mais rápidos, conservando seus efeitos benéficos. Ao nos aprofundarmos no assunto, deparamos com inúmeros trabalhos^(14, 33, 7, 26, 19, 17, 42, 40, 25, 46) sobre cromatografia do *all trans retinoic acid* demonstrando que a RABP se mantém estável em uma absorbância de 340 nm que corresponde ao espectro visível da luz azul e mais ainda o seu aparecimento no espectro após 20 minutos de utilização; por esse motivo preconizamos seu emprego, após cada aplicação feita em consultório, obtendo um resultado que julgamos satisfatório, não expondo os pacientes a possíveis danos teciduais pelo uso de *all trans retinoic acid* por tempo prolongado.

A forma líquida-injetável foi imaginada, na tentativa de potencializar o efeito do *all trans retinoic acid* localmente, excluindo o processo lento de absorção pela epiderme nas aplicações tópicas.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o uso combinado das formas injetável e tópica de *all trans retinoic acid* 0,1% (diluída com bio-presença de 0,02%), abrevia a obtenção dos resultados já descritos na literatura com uso da forma creme (tópica), vindo ao encontro das necessidades dos pacientes, que anseiam por resultados mais rápidos e duradouros, sem os

perigos de uma utilização prolongada do produto.

BIBLIOGRAFIA

1. ABB, J. et al - Effect of Retinoic Acid on the Spontaneous and Interferon-Induced Activity of Human Natural Cells Killer. *Int. J. Cancer.*, 30: 307, 1982.
2. ARENS, J. F.; VAN, RAP D. A. - Synthesis of some Compounds Processing Vitamin A Activity. *Nature*, 157: 190, 1946.
3. BAILLY, C. - Retinoic Acid Inhibits the Production of Collagenase by Human Epidermal Keratinocytes. *Jour Invest Dermat.*, 94: 47, 1990.
4. BIERMAN, C.; PEARLMAN, D. S. - Allergic Diseases from Infancy to Adulthood. *W. B. Saunders Company Philadelphia* p. 431. 1988.
5. CAMPOS, S. - Estudo Fundamental do Ácido Retinóico Forma Líquida em Ratos e Coelhos. *Anais de Clínica Médica. Personal Communication*
6. CAMPOS, S. - Aspectos Imunoreguladores e de Imuno Estimulação Dérmica. *Personal Communication*.
7. CANTAROW, A.; SCHEPARTZ, B. - Bioquímica da Vitamina A. *W.S. Saunders Company Philadelphia*. p 160, 1969.
8. CARR, E.; PRINCE, E. - Color Reactions Attributed to Vitamin A. *Bio Chem J.* 10: 497, 1926.
9. CHANDHARY, L. et al - Metabolism of All-Trans (113H) Retinil Acetate in Young Rats Tests. *Ann Nutr Metab*, 30: 1, 1986.
10. CONNOR, M. J. - Oxidation of Retinol to Retinoic Acid as Requirement for Biological Activity in Mouse Epidermis. *Cancer Research.*, 48: 7038, 1988.
11. CONNOR, H. J. et al - Inhibition of UVB Carcinogenesis by Retinoic Acid. *Cancer Research*, 43: 272, 1983.
12. DOWNLING, J. E. et al - The Biologic Function of Acid Vitamin A. *Proc. Natural. Acad. Sci USA.*, 46:587, 1960.
13. ELLIS, C. N.; WEISS, J. S. et al - Sustained Improvement with Prolonged Topical Tretinoin (Retinoic Acid) for Photo Aged Skin. *Journal Amer. Acad. Dermat.*, 23:629, 1990.
14. ESCRIBANO, J.; GRUBB, A.; MENDEZ, E. - Identification of Retinol as one of the Protein HC Chromophores. *Bioch and Bioch Research Communications.*, 115: 1424, 1988.
15. EVANS, R. M. - The Steroid and Thyroid Hormone Receptor Super Family. *Science*, 240:889, 1988.
16. FORBES, P. D. et al - Enhancement of Experimental Photocarcinogenesis by Topical Retinoid Acid. *Cancer lett* 7: 85, 1979.
17. GLOVER, J. - Factor Affecting Vitamin A Transport in Animals and Man. *Nutrition Society.* 42:20, 1983.
18. HOLMES, H.; COBERT, R. - The Isolation of Crystalline Acid Vitamin A. *J. Am Chem Soc.*, 59:2042, 1937.
19. JARDILLIER, J. C.; RALLET, A. - Metabolisme de la Vitamine A et des retinoids. *Bull Cancer (Paris)*, 73: 180, 1986.
20. KARRER, et al - Zur Kenntrus des Vitamins A aus Fischtranen II Helv Chim Acta. 14: 1431, 1931.
21. KLIGMAN, A. M.; FULTON, J. E.; PLEWING, G. - Topical Acid Vitamin A in Acne Vulgaris. *Arch Dermatol.* 99: 469, 1969.
22. KLIGMAN, A. M.; GRAVE, G.L.; HIRASE, R. et al - Topical Tretinoin for Photo Aged Skin. *Journ. Amer. Acad. Dermat.* 15:836, 1986.
23. KUTNER, A. et al - Synthesis of Coenzyme A Esters of Retinoic Acid: Intermediate in Vitamin A Metabolism. *Biochemistry. Proc. Nat. Acad. Sci.* 83: 6781, 1986.
24. LARRY, SCHOEFF M. S. - Vitamin A / *American Journal of Medical Technology.* 49: 447, 1983.
25. LASNITZKI, I. - The Effect of Excess Vitamin A on Mitosis in Chinch Heart Fribroblast in Vitro. *Exp. Cell Res.* 8: 121, 1955.
26. LOPEZ, OTIN C.; GRUBB, A.; MENDEZ, E. - Lipocalins. *Arch Biophys.* 228: 544, 1984.
27. MALONE, W. - Studies Evaluating Antioxidants and β -Carotene as Chemo Preventives. *Am. J. Clin Nutr.* 53:3055, 1991.
28. MESIEWICZ, J. - Topical Treatment of Multiple Actinic Keratosis of the Face with Arotinoid Methyl Sulphone (RO 14-970) Cream Versus Tretinoin Cream: A Double Blind. *Journ. Am. Ac. Dermat.* 24: 448, 1991.
29. MOORE, T. - Vitamin A. *Elsevier; New York* 1957.

30. McCOLLUM, E.; DAVIS, M. - The Necessity of Certain Lipoids in the Diet During Growth. *J. Biol Chem.* 15: 167, 1913.
31. ORTHO, R. W. - Johnson Pharmaceutical Research Institute.
32. PENN, N. D. - The Effect of Dietary Supplementation with Vitamin A, C and E on Cell-mediated Immune Function in Elderly long stay Patients: A Randomized Controlled Trial. *Age and Aging.* 20: 169, 1991.
33. PERVAIS, S.; BREWK - Protein HC - Lipocalins. *Science.* 228: 335, 1985.
34. RIEMERSMA, R. A. et al - Risk of Angina Pectoris and Plasma Concentrations of Vitamin A, C and E, Carotene. *Lancet*, 337: 1, 1991.
35. ROLLDMAN, O. et al - Vitamin A in Skin and Serum Studies of Acne Vulgaris, Atopic Dermatitis. Ichthyosis Vulgaris and Lichen Planus. *Brit. Journ Dermat.* 113: 404, 1985.
36. ROSENTHAL, D. S. et al - Changes in Photo Aged Human Skin Following Topical Application of All-Trans Retinoic Acid. *Soc. Invest. Dermat. Inc.* 95: 510, 1990.
37. SINGH, V. et al - Pre-malignant Lesions: Role Auto-oxidant Vitamins Beta Carotene in Risk Reduction and Prevention of Malignant Transformation. *A.M.J. Clin Nutr.* 53: 3865, 1991.
38. SUTTER, C. et al - Aberrant in Vitro Expression of Keratin K13 Induced by CA^{2+} and Acid Vitamin A in Mouse Epidermal cell Lines. *Experimental Cell Research.* 19: 183, 1991.
39. STEEP, W. - Versuche Uber Futtrenung Met Lipoidfrein Nahrung. *Biochem Z.* 22: 4452, 1990.
40. STRYER, L. - *Bioquímica.* Koogan. Rio de Janeiro. p 848, 1988.
41. STTUTGEN, G. - Zur Loklbehandlung von Keratosen mit Vitamin A. *Saure Dermatologica* 124. 65, 1962.
42. TANNER, J. M. L. - in *Protein Metabolism.* Springer-Verlag. Berlin, 1962.
43. TONG, P. S. - Trans Retinoic Acid Enhances the Growth Response of Epidermis Keratinocytes to Epidermis Growth Factor Beta. *J. Invest. Dermatol.* 94. 126, 1990.
44. THORNE, E. G. - Topical Tretinoin Research. An Historical Perspective. *Cambridge Medical Publication Ltd.* 1990.
45. VARANI, J. et al. - All-Trans Retinoic Acid Stimulates Growth and Extra Cellular Matrix Production in Growth-Inhibited Culture. Human Skin Fibroblast. *Journ. Investig. Dermat.* 94: 717, 1990.
46. VARANI, J. et al. - Retinoic Acid Stimulation of Human Dermol Fibroblast Proliferation is Dependent on Sub Optional Extra Cellular CA^{2+} Concentration. *Amer Journ Pathol.* 136: 1275, 1990.
47. WALD, G.; HUBBARD, R. - Synthesis of Rhodopsin from Vitamin A. *Proc Nat Acad Sci.* 36: 92, 1950.
48. WEBER, F. - Biochemical Mechanisms of Vitamin A Action. *Proc. Nutr. Soc.* 42: 31, 1983.
49. WILSON, E. L.; REECH, E. - Plaminogen Activator in Check Fibroblast: Induction of Synthesis by Retinoic Acid: Synergism with Viral Transformation and Pherbol Ester Cell. *Am. Journal Anat.* 15:385, 1978.

AGRADECIMENTOS

1. Tomnus Química e Farmacêutica Ltda.
2. Salomão Zoppi - Pathology Ward for their keen lab analysis.
3. G. Pozzan - Pathology Ward of Santa Casa de São Paulo