

Mariana Francisca Simões Carvalho

**Fotoenvelhecimento da pele: fisiopatologia molecular e prevenção**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2014



Mariana Francisca Simões Carvalho

**Fotoenvelhecimento da pele: fisiopatologia molecular e prevenção**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2014

Mariana Francisca Simões Carvalho

## **Fotoenvelhecimento da pele: fisiopatologia molecular e prevenção**

---

Nome do Aluno

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Prof. Maria Gil Roseira Ribeiro

## **Resumo**

A pele sofre modificações morfológicas e fisiológicas com o avançar do tempo que podem ser causadas por fatores extrínsecos ao organismo, tais como a exposição à radiação solar, poluição do ar e hábitos tabágicos, e fatores intrínsecos de natureza genómica, bioquímica e celular. Coletivamente, estes fatores contribuem para envelhecimento celular e organismal, incluindo o envelhecimento da pele, podendo também desempenhar um importante papel no processo de envelhecimento prematuro. Ao envelhecimento da pele induzido pela radiação solar foi atribuído um termo próprio, o fotoenvelhecimento. Clinicamente, a pele torna-se mais flácida, mais espessa, hiperpigmentada, e nas áreas mais expostas à radiação solar, como a face e as mãos, observa-se o aparecimento precoce de rugas e outras alterações cutâneas, eventualmente mais graves como o cancro de pele. A prevenção pode ser inicialmente efetuada através da utilização regular de protetor solar e vestuário adequado e, numa idade mais avançada, com cremes que contenham filtros solares e substâncias retardadoras do envelhecimento, tais como antioxidantes, ácido retinóico, entre outros. Existem, porém, outras estratégias mais invasivas de tratamento que serão também analisadas no âmbito do presente trabalho.

Palavras-chave: Fotoenvelhecimento, Radiação ultra-violeta, Stress oxidativo, Modificações no DNA, Autofagia, Antioxidantes.

---

## **Abstract**

The skin undergoes morphological and physiological changes with time that may be caused by extrinsic factors, such as exposure to sunlight, air pollution and smoking habits, and intrinsic factors of diverse kind: genomic, biochemistry and/or cellular. Collectively, these factors contribute to cellular and organismal aging including skin aging, and may also play an important role in the premature aging process. Skin aging induced by solar radiation has been assigned a proper term, photoaging. Clinically, the skin becomes more flaccid, thickened, hyperpigmented, and in areas more exposed to solar radiation, such as the face and hands, there is the early appearance of wrinkles and other alterations, which may eventually be associated with more serious skin disorders such as cancer skin. Prevention can be done initially through the regular use of sunscreen and appropriate clothing and, at a later age, with creams that contain sunscreens and aging retardant substances such as antioxidants, retinoic acid, among others. However, there are other more invasive treatment strategies that will also be examined in the context of this work.

**Key Words:** Photoaging, Ultraviolet radiation, oxidative stress, DNA modifications, Autophagy, Antioxidants.

---

## Agradecimentos

A muitos há que agradecer a colaboração, tantos que se torna difícil mencionar todos os nomes. No entanto, não poderei deixar de referir, pela importância que assumiram, algumas dessas pessoas.

À Professora Doutora Maria Gil Ribeiro, pelo seu apoio constante, orientação, disponibilidade e sabedoria.

A esta Universidade, ao seu corpo docente, direção e administração que me abriram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

Ao João Silva, Luísa Queiroga e Andreia Teixeira pela disponibilidade e colaboração.

Aos meus amigos, aqueles que sempre estiveram do meu lado, especialmente à Joana Fernandes e Daniela Almeida, pelo constante estímulo e força.

À minha família, especialmente, à minha Tia Anabela Simões pela colaboração, estímulo e força para a realização deste trabalho, assim como à minha madrinha Margarida Simões e à minha Tia Marisa Simões pelo companheirismo e força.

Aos meus Pais, pela dedicação, conforto, paciência e compreensão ao longo desta longa caminhada.

Ao Miguel, o meu pilar.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero,

Muito Obrigada!

---

## Índice

I.	Introdução.....	1
II.	Morfologia e fisiologia da pele.....	3
III.	Fisiopatologia molecular do envelhecimento.....	9
1.	Fatores extrínsecos e intrínsecos.....	9
2.	Modificações no DNA induzido pelos raios ultravioleta.....	14
3.	O papel dos telômeros.....	16
4.	Atividade lisossomal e autofágica.....	18
5.	<i>Stress</i> oxidativo.....	23
6.	Fatores de risco.....	34
7.	Fotoenvelhecimento e carcinogénese.....	37
IV.	Medidas de Prevenção.....	39
1.	Protetores solares.....	40
2.	Roupas e chapéus.....	41
3.	Óculos de sol.....	43
V.	Tratamento.....	43
1.	Cremes.....	45
2.	<i>Peelings</i> .....	46
3.	Técnicas de preenchimento.....	47
4.	Botox.....	48
5.	Laser.....	49
6.	Radiofrequência.....	49
VI.	Conclusão.....	50
VII.	Bibliografia.....	51

---

## Índice de Figuras

Figura 1- Representação esquemática da pele (epiderme e derme), hipoderme e estruturas anexas (pêlos e glândulas).....	3
Figura 2- Camadas da epiderme. ....	5
Figura 3- Causas do envelhecimento celular e organismal. ....	12
Figura 4- Convergência das vias intrínseca e extrínseca no processo de envelhecimento associado ao encurtamento do telômero.....	17
Figura 5- A máquina de degradação celular mediada pelo lisossoma.....	20
Figura 6- Efeitos da radiação ultravioleta (UV) na pele.....	25
Figura 7- Mecanismos de defesa geral contra o <i>stress</i> oxidativo.....	28
Figura 8- Sistema de defesa antioxidante da célula viva.....	30
Figura 9- Mecanismos moleculares do envelhecimento prematuro extrínseco da pele.	35
Figura 10- Efeitos da luz solar sobre a pele.....	37

## Índice de Tabelas

Tabela 1- Alterações morfológicas e funcionais intrínsecas da pele.....	11
Tabela 2- Alterações morfológicas extrínsecas da pele.....	11
Tabela 3- Tipos de envelhecimento.....	13
Tabela 4- Papel das vitaminas no processo de fotoenvelhecimento.....	31
Tabela 5- Estratégias anti-envelhecimento da pele. ....	44

---

## **Lista de Abreviaturas**

**Ahr-** Recetor aril-hidrocarboneto

**ALA-** Ácido 5- aminovulínico

**AP-** Proteína ativadora

**CMA-** Chaperona

**DEJ-** Junção Dermo-Epidérmica

**DNA -** Ácido desoxirribonucleico

**ECM-** Matriz Extra Celular

**FPU-** Fator de Proteção Ultravioleta

**FPS-** Fator de Proteção Solar

**GAG-** Glicosaminoglicanos

**GPx-** Glutationa Peroxidase

**GSH-** Glutationa

**HA-** Ácido hialurónico

**IL-** Inter leucina

**LAMP-2A** – Proteína da Membrana Associada aos Lisossomas

**MAGPs-** Microfibras Associadas a Glicoproteínas

**MMP-** Metaloproteinase da matriz

**MPRs -** Recetor manose-6-fosfato

**mtDNA-** DNA mitocondrial

**NF-** Fator nuclear

---

**PS-** Protetores Solares

**ROS-** Espécie Reativas de Oxigênio

**SOD-** Superóxido Dismutase

**UVA-** Radiação Ultravioleta do Tipo A

**UVB-** Radiação Ultravioleta do Tipo B

**UVC-** Radiação Ultravioleta do Tipo C

**UV** – Ultravioleta

## I. Introdução

Hoje em dia, a preservação da aparência jovem representa, socialmente, um requisito para a idealização da beleza. Este fenómeno não teve origem na sociedade moderna uma vez que a história da civilização humana mostra que sempre houve um fascínio com a superação do envelhecimento e a ideia da juventude eterna. De fato, desde a idade medieval que o mito da fonte eterna da juventude está associado à utilização de águas mágicas, através das quais ocorreria um processo de rejuvenescimento gradual. Atualmente, com o aumento da esperança média de vida, a pressão da opinião pública para a manutenção de uma aparência jovem manifesta-se até uma idade mais tardia (Makrantonaki e Zouboulis, 2007; Makrantonaki e Zouboulis, 2008; Zouboulis e Makrantonaki, 2011). Por outro lado, dado que a pele reflete os primeiros sinais do envelhecimento natural, tem havido uma preocupação crescente em compreender os mecanismos de envelhecimento da pele e as modalidades adequadas de intervenção de modo a atrasar o aparecimento dos primeiros sinais e a sua progressão (Zouboulis e Makrantonaki, 2011).

Como todos os órgãos, a pele sofre alterações morfológicas progressivas e decréscimos fisiológicos associados ao processo de envelhecimento cronológico (Makrantonaki e Zouboulis, 2007; Makrantonaki e Zouboulis, 2008). Na pele, no entanto, esta deterioração pode ser reforçada por fatores físicos, químicos e mecânicos e também por lesões que podem desencadear um processo de envelhecimento prematuro, especialmente nas áreas mais expostas do corpo, tais como o rosto, o pescoço e as mãos. Assim, a influência de fatores extrínsecos e a superexposição dessas regiões podem resultar numa pele envelhecida prematuramente. Deste ponto de vista, a irradiação solar na forma de radiação ultravioleta (UV) (Fisher *et alli*, 2002; Lavker *et alli*, 1995) e hábitos tabágicos (Zouboulis e Makrantonaki, 2011) são, de longe, os fatores ambientais mais importantes.

O fotoenvelhecimento é caracterizado por alterações moleculares e celulares específicas, e é observado, essencialmente, nas áreas da pele mais expostas ao sol. Apesar de se evidenciar mais em indivíduos com pele clara, o fotoenvelhecimento pode manifestar-se em todos os fototipos de pele dependendo da qualidade do processo de

reparação do ácido desoxirribonucleico (DNA) (Gilchrest, 2013). A exposição ao sol pode desencadear alterações específicas, nomeadamente a degradação da matriz extracelular em ambas as camadas da epiderme e da derme. Esta alteração modifica as suas propriedades físicas, deixando sinais visíveis à superfície da pele. Adicionalmente, poderá ocorrer uma diminuição das reservas fisiológicas e/ou capacidade protetora da pele (Mukherjee *et alli*, 2011). A exposição ao sol também acelera o envelhecimento intrínseco da pele uma vez que os raios UV promovem a formação de espécies reativas de oxigénio. As radiações UVA e UVB penetram profundamente na derme, produzindo alterações nas fibras de elastina e no colagénio (Tsourelis-Nikita *et alli*, 2006; Yaar e Gilchrest, 2007). A exposição continuada a este tipo de radiação poderá originar hiperplasia epidérmica, pigmentação irregular, telangiectasia, elastose, redução de colagénio e rugas. O uso regular de um fator de proteção solar (SPF) impede a elastose solar, enquanto que a inexistência de SPF promove o fotoenvelhecimento, a diminuição do colagénio e o engrossamento da epiderme (Boyd *et alli*, 1995; Seite e Fourtanier, 2008).

Para o envelhecimento facial existem vários tratamentos caracterizados por diferentes graus de complexidade e de risco associado. O tratamento primário e menos danoso para a pele é a fotoproteção. Há terapias secundárias e terciárias que podem incluir a terapia tópica com retinóides, técnicas de preenchimento, laser, botóx, entre outros tratamentos. O uso destas terapias primárias, secundárias e terciárias, individualmente ou combinadas, não só visa moderar o envelhecimento facial como também contribuir para uma melhoria estética (Robinson e Aasi, 2011).

Todos estes aspetos são desenvolvidos no âmbito do presente trabalho, o qual tem por objetivo contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares e celulares do fotoenvelhecimento, alertar para a importância da prevenção do fotoenvelhecimento prematuro e descrever as possibilidades de intervenção terapêutica atualmente disponíveis. Nesse sentido, procedeu-se à recolha de informação através da base de dados *MEDLINE* com interface de pesquisa Pubmed (<http://www.pubmed.com>) e *SCIENCEDIRECT* (<http://www.sciencedirect.com/>) e, subsequente acesso a revistas científicas onde estão publicados inúmeros artigos de revisão que se revelaram de extrema utilidade para o desenvolvimento deste trabalho. A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida por forma a encontrar informação que permitisse a caracterização do

fotoenvelhecimento a quatro níveis distintos: aspetos clínicos, etiopatogenia, diagnóstico e tratamento da doença. Assim, a literatura técnico-científica foi seleccionada através da utilização das seguintes palavras-chave: *fotoenvelhecimento*, *stress oxidativo*, *radiação ultravioleta*, *espécies reativas de oxigénio*, *modificações no DNA*, *encurtamento dos telómeros*, *autofagia* e *antioxidantes*.

## II. Morfologia e fisiologia da pele

A pele é composta por duas camadas principais de tecido: a epiderme e a derme (Figura 1). A epiderme é uma camada de tecido epitelial que assenta na derme e a derme é uma camada de tecido conjuntivo unido à hipoderme. A hipoderme não faz parte da pele, pois é constituída por tecido conjuntivo laxo com abundantes depósitos de gordura, servindo para unir a derme às estruturas subjacentes; os vasos sanguíneos e nervos da hipoderme, respetivamente, irrigam e inervam a derme (Seeley *et alli*, 2003).

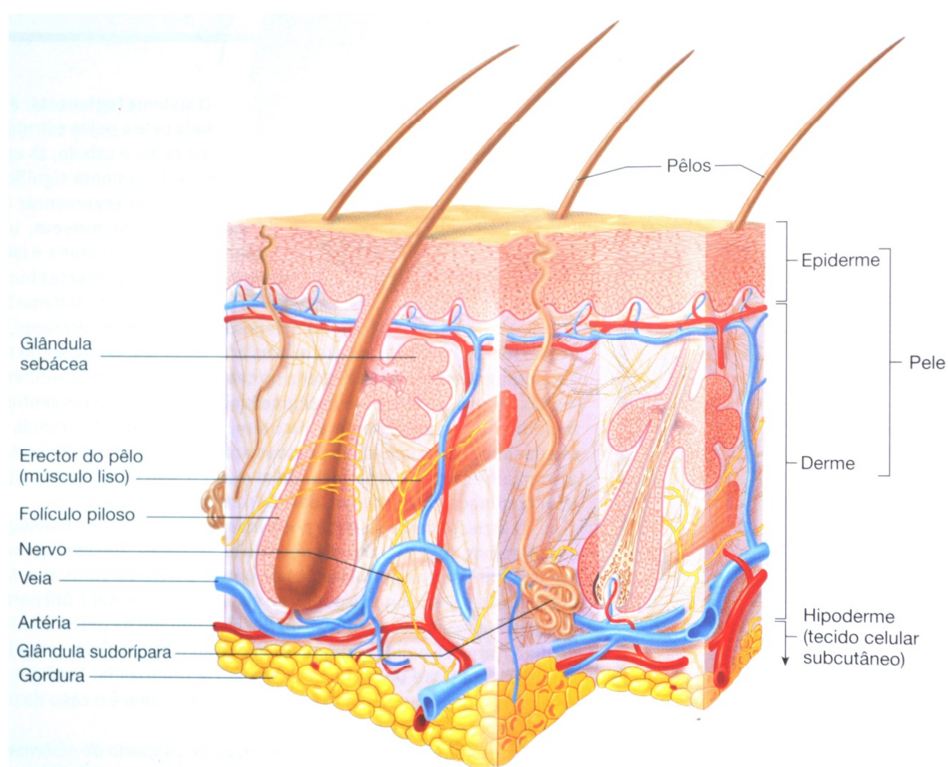


Figura 1- Representação esquemática da pele (epiderme e derme), hipoderme e estruturas anexas (pêlos e glândulas) (adaptado de Seeley et alli, 2003).

### *Epiderme*

A epiderme é constituída por um epitélio estratificado e está separada da camada papilar da derme por uma membrana basal, menos espessa que a derme, que não contém vasos sanguíneos, sendo alimentada por difusão a partir dos capilares da camada papilar. Os queratinócitos (grande parte das células da epiderme que produzem uma mistura proteica denominada por queratina) são responsáveis pela resistência estrutural e pelas características da permeabilidade da epiderme. Outros tipos celulares da epiderme são os melanócitos (adjuvantes na coloração da pele), as células de Langerhans (integradoras do sistema imunitário) e as células de Merkel (células epidérmicas caracterizadas e associadas a terminações nervosas responsáveis pelo tato e pela sensibilidade à pressão superficial) (Seeley *et alli*, 2003).

As células são produzidas nas camadas mais profundas da epiderme por mitose. À medida que se formam novas células, estas empurram as células mais antigas para a superfície onde descamam. Assim, as células mais exteriores deste conjunto estratificado protegem as células subjacentes, enquanto que as células mais profundas, em divisão, vão substituindo as células perdidas à superfície. À medida que se deslocam das camadas epidérmicas mais profundas para a superfície, as células mudam de forma e de composição química, nomeadamente através da sua queratinização. Durante este processo, estas células acabam por morrer, formando uma camada exterior com resistência ao atrito e constituindo uma barreira permeável. Apesar de ser um processo contínuo, podemos referir várias fases distintas à medida que as células se modificam. Com base nestas fases, as muitas camadas de células da epiderme são divididas em estratos ou camadas, desde a camada mais profunda até à camada mais superficial. Assim, distinguem-se cinco camadas: basal, espinhosa, granulosa, translúcida e córnea. (Seeley *et alli*, 2003).

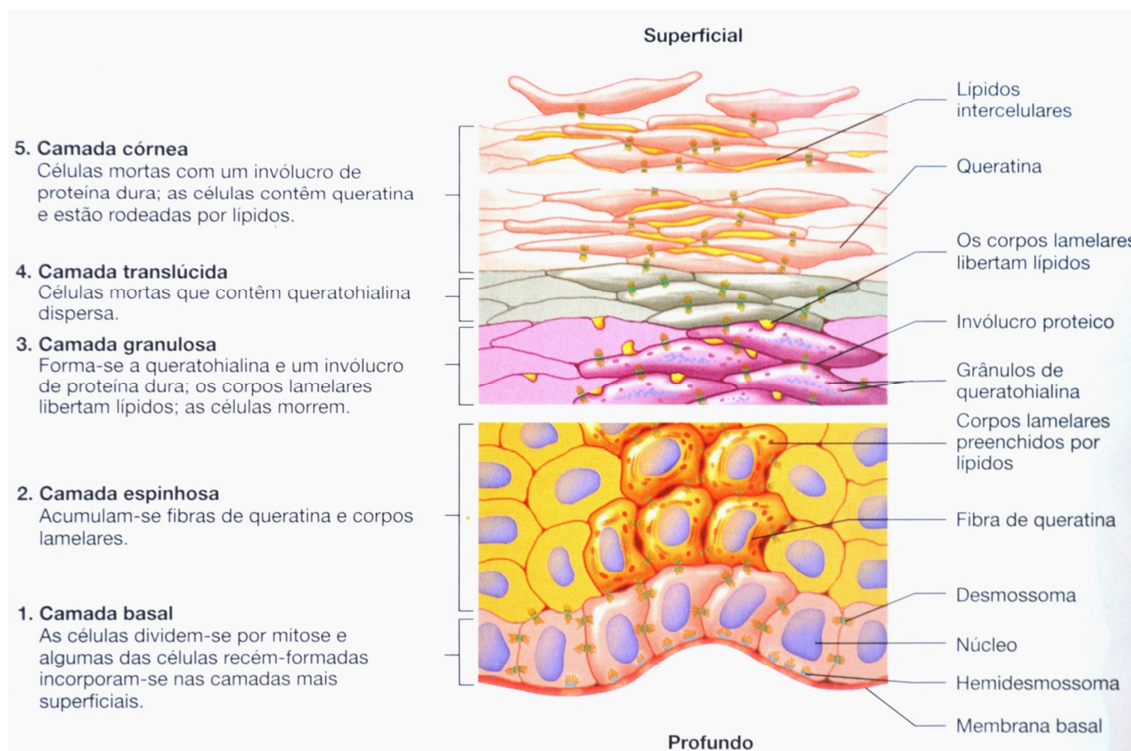


Figura 2- Camadas da epiderme (adaptado de Seeley et alli, 2003).

*Características das camadas da epiderme:*

- Camada basal: é a mais profunda da epiderme, sendo uma camada ou estrato basal, constituída por uma única fila de células cúbicas ou cilíndricas. A força e estrutura são-lhe conferidas pelos hemidesmossomas, que se fixam à membrana basal da epiderme, e pelos desmossomas, que mantêm os queratinócitos unidos. Os queratinócitos são reforçados no seu interior por fibras de queratina inseridas nos desmossomas. Estes sofrem divisão mitótica a cada dezanove dias. Por essa razão, a célula filha empurra a outra célula para a superfície onde será queratinizada, levando cerca de quarenta a cinquenta dias a descamar (Seeley *et alli*, 2003).
- Camada espinhosa: consiste em oito a dez camadas de células poligonais ou multifacetadas. À medida que as células desta camada vão sendo empurradas para a superfície, vão-se achatando; os seus desmossomas quebram-se, formando-se, de seguida, novos. Na camada espinhosa, o número de divisões celulares é limitado e, por essa razão, a camada basal e a camada espinhosa são, por vezes, consideradas uma

camada única, designadas como camada germinativa. Nas camadas mais superficiais não ocorrem mitoses (Seeley *et alli*, 2003).

- Camada granulosa: constituída por duas a cinco camadas de células aplanadas. Esta camada contém grânulos proteicos de queratohialina dispersos, que se acumulam no citoplasma da célula. Os corpos lamelares desta célula deslocam-se para a membrana celular, libertando o seu conteúdo lípido no espaço intercelular, enquanto que no interior da célula forma-se um invólucro proteico sob a membrana celular. Nas camadas mais superficiais desta camada os organelos degeneram, a célula morre, mas as fibras de queratina e os grânulos de queratohialina não degeneram (Seeley *et alli*, 2003).
- Camada translúcida: aparece como uma zona fina e clara sob a camada granulosa, sendo constituída por várias camadas de células mortas e tendo limites pouco distintos. Nela encontram-se presentes fibras de queratina, mas a queratohialina, bem visível sob a forma de grânulos na camada granulosa, apresenta-se dispersa em torno das fibras de queratina, pelo que as células aparecem bastante transparentes. Esta camada encontra-se apenas em algumas zonas do corpo (Seeley *et alli*, 2003).
- Camada córnea: a mais superficial das camadas da epiderme. É composta por vinte e cinco ou mais camadas de células escamosas mortas, unidas por desmossomas. Quando estes fragmentam a determinada altura, as células descamam na superfície da pele. Ela é constituída por células queratinizadas, ou seja, células mortas rodeadas por um invólucro proteico duro e preenchidas com a proteína queratina. Este invólucro proteico e a queratina são responsáveis pela resistência estrutural da camada córnea (Seeley *et alli*, 2003).

### *Derme*

É uma camada de tecido conjuntivo adjunto à hipoderme, responsável pela sua resistência estrutural, sendo constituído por tecido conjuntivo, fibroblastos, células adiposas e macrófagos (Seeley *et alli*, 2003).

Para além do colagénio (a principal fibra do seu tecido conjuntivo), a derme é ainda constituída por fibras de elastina e reticulares. Relativamente à hipoderme, é

caracterizada pela escassez de células adiposas e vasos sanguíneos, existência de folículos pilosos e terminações nervosas, glândulas e vasos linfáticos bem como músculo liso. A derme está dividida em duas camadas: a camada reticular e a camada papilar (Seeley *et alli*, 2003).

A camada reticular, a mais profunda e constituída pelo tecido conjuntivo denso e irregular, é a principal camada da derme, situando-se junto à hipoderme; forma um tapete de fibras dispostas irregularmente, resistentes à distensão em muitas direções; como as fibras de colagénio e elastina se encontram orientadas predominantemente numa determinada direção provocam linhas de clivagem, isto é, linhas de tensão na pele (Seeley *et alli*, 2003).

A camada papilar é constituída por prolongamentos, denominados por papilas, que se estendem em direção à epiderme. Comparativamente à derme reticular, a derme papilar tem mais células e menos fibras (mais finas e dispostas de uma forma mais solta) sendo, por isso, designada por tecido conjuntivo laxo. A camada papilar contém vasos sanguíneos que fornecem nutrientes à epiderme suprajacente e que removem produtos de excreção e ajudam na regularização da temperatura corporal (Seeley *et alli*, 2003).

Na derme, as fibras de colagénio tipo I e III são as proteínas mais abundantes que se copolimerizam para formar fibras extensas e rígidas, conferindo resistência mecânica à tração (Bailey, 2001; Gosline *et alli*, 2002). Estas fibras estão amplamente distribuídas por toda a derme jovem, embora com diferenças ao nível da sua deposição na derme papilar e na derme reticular (El-Domyati *et alli*, 2002). Também a arquitetura destas fibras é mais desorganizada quando comparada com a camada córnea da epiderme (Clark, 2001). Em relação ao colagénio tipo VI, isto é, microfibras amplamente distribuídas na maioria de todos os tecidos conjuntivos, o seu papel na pele ainda não é completamente conhecido. No entanto, mutações no gene codificador do colagénio VI estão associadas com a perda de massa muscular (Camacho Vanegas *et alli*, 2001; Scacheri *et alli*, 2002).

- Fibras elásticas

De modo a reforçar as propriedades mecânicas, a pele necessita de ser não só facilmente deformável como também resiliente. Estas características são muitas vezes referidas na literatura, de um modo um pouco confuso, através de um parâmetro similar: a elasticidade da pele (Doubal e Klemnera, 2002). As fibras elásticas podem ser constituídas por múltiplos componentes, incluindo elastina cruzada, microfibras enriquecidas de fibrilina e microfibras associadas a glicoproteínas (MAGPs). Em peles jovens, o sistema de fibras elásticas adopta uma arquitetura característica altamente ordenada na qual as microfibras enriquecidas com fibrilinas estão orientadas perpendicularmente (fibras oxitalânicas) e na junção dermo-epidérmica (DEJ) fundem-se com os grandes diâmetros de fibras elásticas da derme reticular compostas primariamente por elastina (Cotta-Pereira *et alli*, 1976; Dahlback *et alli*, 1990).

- Proteoglicanos e oligossacarídeos

A matriz extracelular (ECM) dérmica não é apenas constituída por proteínas fibrosas. Os carboidratos, simples ou conjugados com proteínas, também desempenham um papel importante na biologia da pele. Muitas proteínas da ECM, incluindo as fibrilinas e o colagénio, são glicoproteínas (Notbohm *et alli*, 1999; Rock *et alli*, 2004). Para além disso, os proteoglicanos são também glicoproteínas onde, pelo menos, uma das cadeias laterais do oligossacarídeo é um glicosaminoglicano (GAG). Os proteoglicanos dérmicos variam em tamanho e composição em GAGs, encontrando-se moléculas constituídas por uma simples cadeia de GAG, pequenas moléculas de proteoglicanos enriquecidos de leucina, como a decorina que tem sido implicada no controlo da fusão de fibras de colagénio (Danielson *et alli*, 1997; Graham *et alli*, 2000), até moléculas de elevado peso molecular, e.g. sulfato de condroitina, que pode incluir mais de 100 cadeias de GAGs. Coletivamente, as glicoproteínas e os proteoglicanos, juntamente com o ácido hialurónico, estão distribuídos através da derme onde desempenham um papel fundamental no processo de hidratação da pele (Waller e Maibach, 2006).

### *Função*

A função da pele é mediada, primariamente, pela estrutura da epiderme e pelas camadas da derme. A estrutura da epiderme, altamente avascularizada e celular. Em contrapartida, a derme é muito vascularizada e relativamente acelular. As duas camadas são unidas por uma junção dermo-epidérmica ondulante, de composição complexa, onde os queratinócitos, que estão contidos na camada basal, estão presos ao colagénio tipo IV por hemidesmosomas (Naylor *et alli*, 2011). A pele, essencialmente a epiderme, tem como função a proteção do organismo contra fatores ambientais nocivos (físicos, químicos, microbiológicos), sendo essencial para a manutenção da temperatura e da concentração dos fluídos pois constitui uma barreira contra a perda de calor e de água. Além disso, a pele é um órgão sensorial que, através da síntese, processamento e metabolização de uma vasta gama de estruturas proteicas, glicanos e lípidos (Chuong *et alli*, 2002) preenche os requisitos de um organismo endócrino clássico (Zouboulis, 2000, 2004). De fato, as células da pele humana produzem uma variedade de hormonas, incluindo fatores de crescimento, esteróides sexuais e vitaminas essenciais, como a vitamina D (Reichrath *et alli*, 2007; Zouboulis *et alli*, 2007).

## **III. Fisiopatologia molecular do envelhecimento**

### **1. Fatores extrínsecos e intrínsecos**

O envelhecimento representa a diminuição da capacidade de execução de funções normais, aumentando a probabilidade de morte do ser vivo. Por isso, este processo é também o resultado do programa genético específico da espécie. Os danos cumulativos em genes nas resultam no comprometimento da função das proteínas por eles codificadas e, subsequentemente, insuficiência homeostática, levando o organismo ao envelhecimento prematuro e morte, dependendo da eficiência dos seus sistemas de reparação/proteção (Makrantonaki e Zouboulis, 2007; Makrantonaki e Zouboulis, 2008; Zouboulis e Makrantonaki, 2011).

Como todos os órgãos, a pele sofre alterações estruturais e morfológicas ao longo do tempo que se traduzem na deterioração das suas funções (Makrantonaki e Zouboulis, 2007; Makrantonaki e Zouboulis, 2008; Zouboulis e Makrantonaki, 2011). Na pele, no entanto, esta deterioração pode ser potenciada e acelerada pela exposição a vários fatores ambientais que resultam na acumulação de lesões físicas, químicas e/ou mecânicas. De fato, as áreas mais expostas do corpo, tais como rosto, pescoço e mãos, estão geralmente sob uma maior influência de fatores extrínsecos e, subsequentemente, é nestas zonas que o envelhecimento prematuro é mais notório. Os principais fatores ambientais associados ao envelhecimento da pele são as radiações solares, na forma de radiação ultravioleta (Fisher *et alli*, 2002; Lavker *et alli*, 1995) e a exposição ao fumo do tabaco (Bernhard *et alli*, 2007). O envelhecimento nas áreas não expostas é atribuído principalmente a fatores intrínsecos de base genética, celular e/ou endócrina (Zouboulis e Makrantonaki, 2011). As Tabelas 1 e 2 resumem as características histológicas da pele resultantes de alterações intrínsecas e extrínsecas.

Tabela 1- Alterações morfológicas e funcionais intrínsecas da pele (adaptado de Zouboulis e Makrantonaki, 2011)

Emagrecimento da epiderme em 10% a 50%.	Aumento da vulnerabilidade, fragilidade.
Atrofia do estrato espinhoso.	Aumento da vulnerabilidade, fragilidade.
Aumento da heterogeneidade do tamanho de células basais.	Aumento da vulnerabilidade, fragilidade.
Diminuição da atividade mitótica, aumento da duração do ciclo das células e do tempo de migração.	Diminuição da descamação, cicatrização retardada.
Substituição lenta de lípidos.	Perturbação da função de barreira.
Achatamento da DEJ.	Diminuição da área de superfície de contato, aumento do risco de separação.
Diminuição dos melanócitos.	Envelhecimento do cabelo (etc.).
Diminuição das células de Langerhans	Diminuição da função imunológica cutânea.
Redução da espessura da derme e diminuição dos fibroblastos.	Diminuição da força e da resiliência.
Atrofia da matriz extracelular.	Diminuição da força e da resiliência.
Redução e desintegração de colagénio e fibras elásticas, deposição de substâncias exógenas.	Deformação e sensibilização, formação de rugas finas.
Redução cutânea.	Redução da resposta vascular cutâneo, perturbação da termorregulação e do fornecimento de nutrientes.
Redução da função dos anexos cutâneos (por exemplo, glândulas sebáceas).	Diminuição da produção de lípidos e suor, perturbação da re-epitelização profunda de feridas cutâneas.
Redução da camada subcutânea.	Redução do isolamento térmico.
Redução de terminações nervosas.	Distúrbio da função sensorial.

Tabela 2- Alterações morfológicas extrínsecas da pele (adaptado de Zouboulis e Makrantonaki, 2011).

A acumulação de tecido elástico anormal na derme;
Distribuição escassa das fibras de colagénio, o aumento da degradação de colagénio;
Aumento da atividade biossintética;
Aumento dos níveis de glicosaminoglicanos disfuncionais e proteoglicanos; aumento do número de mastócitos e neutrófilos;
Achatamento da DEJ, redução de fibrilas de ancoragem, espessamento das paredes vasculares dos capilares arteriais e venosos, aumento do número de células, e regressão acentuada e desorganização de pequenos vasos sanguíneos;
Diminuição da proliferação e diferenciação, descamação e apoptose de queratinócitos;
Espessamento da epiderme.

Os diversos fatores que têm sido associados ao envelhecimento celular são apresentados na Figura 3. Alguns desses fatores, por estarem especificamente associados ao processo do fotoenvelhecimento, são desenvolvidos nas seções seguintes do presente trabalho.

O fotoenvelhecimento é o processo de danificação da pele provocada pela exposição crônica (múltipla) à luz UV e que, geralmente, está associado ao envelhecimento prematuro. As principais alterações histológicas desencadeadas na pele após a exposição solar persistente são descritas na Tabela 3.

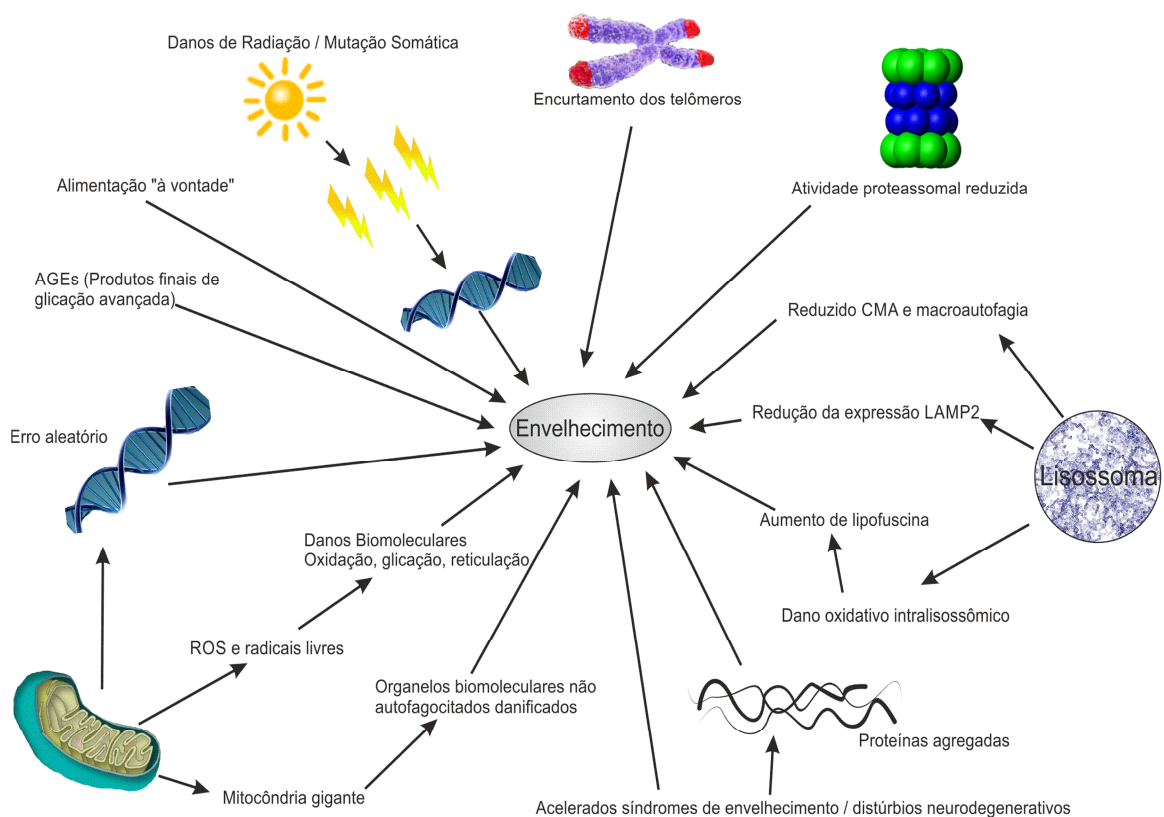


Figura 3- Causas do envelhecimento celular e organismal. A figura ilustra os vários fatores que podem estar associados a alterações desencadeadoras/potenciadoras do processo de envelhecimento celular (adaptado de Rajawat *et alli*, 2009).

As alterações mais profundas ocorrem na derme, onde o fotoenvelhecimento é caracterizado pela degeneração de colagénio e deposição de material elastótico anormal, refletido no aparecimento de rugas, sulcos e descoloração da pele (Gilchrest, 1996). A rugosidade da superfície é não só atribuída às alterações no estrato córneo, mas também às mudanças no conteúdo de GAGs da pele cujo teor diminui com a idade (Kang *et alli*, 2001). A microcirculação também é afetada pela exposição ao sol através da dilatação dos vasos sanguíneos e diminuição da espessura da sua parede (Gilchrest, 1996). Podem ainda ser observadas lesões pré-malignas ou malignas (Balogh *et alli*, 2011).

Tabela 3- Tipos de envelhecimento (adaptado de Mukherjee *et alli*, 2006).

Tipo de envelhecimento	Características		
	Epiderme	Derme	Clínicos
Cronológico	Mais fina do que o normal e presença de pequenas irregularidades dos queratinócitos; estrato córneo normal; perda de rede de vasos sanguíneos.	Fibras de elastina aparecem com arranjo irregular e as fibras de colagénio começam por reduzir a sua espessura.	A pele é lisa, sem mácula, mas mostra aparência flácida.
Fotoenvelhecimento	Engrossamento da pele, com acantose seguido de atrofiamento celular; elevada irregularidade nos queratinócitos da camada basal; o estrato córneo aparece compacto.	Produção excessiva de fibras de elastina com orientação incorreta, as fibras de colagénio engrossam; aparecimento da zona Grenz.	Aparência lisa, avermelhada, rugas iniciais que mais tarde se aprofundam, demonstrando assim a perda de fibras de colagénio.

## 2. Modificações no DNA induzido pelos raios ultravioleta

### *i. Radiação solar*

A luz solar é constituída por um espectro de radiação eletromagnética contínuo que se divide em vários tipos de radiação de acordo com o seu comprimento de onda ( $\lambda$ ): radiação infravermelha ( $> 780$  nm), radiação visível (400-780 nm) e radiação ultravioleta (100-400 nm). Estes intervalos de comprimento de onda irradiam a superfície da Terra e resultam em cerca de 56% de radiação infravermelha, 39% de luz visível e apenas 5% de radiação ultravioleta (Gonzalez *et alli*, 2008; Palm e O'Donoghue, 2007; Svobodova *et alli*, 2006).

#### *a) Luz visível e infravermelha*

A radiação infravermelha (IV) consiste em comprimentos de onda de 760 nm a 1 mm e é subdividida em três regiões: IVA (760-1400 nm), IVB (1400-3000 nm), e IVC (3000 nm-1 mm). Tendo em conta que quase metade da energia solar que atinge a superfície da Terra está na faixa de radiação IV, é de esperar que haja efeitos biológicos significativos sobre pele humana (Cho *et alli*, 2009). No entanto, os danos da luz solar sobre a pele humana não podem ser atribuídos, somente, a comprimentos de onda isolados, pois a interação entre estes com diferentes faixas de comprimentos de onda, como a luz visível e radiação UV, poderá também desempenhar um papel importante no desenvolvimento desses efeitos (Cho *et alli*, 2009).

A radiação IV transmite energia na forma de calor, aumentando a temperatura da pele. Esta quando está exposta diretamente à luz IV, pode aumentar a temperatura para mais de 40°C, devido à transformação de IV em calor. A exposição crónica ao calor pode originar doenças como eritema reticulado, hiperpigmentação, atrofia epidérmica e telangiectasias (Cho *et alli*, 2009).

#### *b) Radiação UV*

A radiação UV tem alguns efeitos benéficos para a saúde, como a formação de vitamina D3 (coleciferol) que está implicada, por exemplo, na bioquímica do tecido ósseo, ou na formulação de medicamentos usados na terapia de doenças da pele, incluindo psoríase e vitiligo. No entanto, também provoca efeitos prejudiciais cutâneos, agudos ou

crônicos, os quais podem resultar no desenvolvimento do cancro da pele (Melnikova e Ananthaswamy, 2005).

A região de luz UV ocorre entre 100-400 nm e é dividida em três categorias: onda longa UVA (315-400 nm), onda média UVB (280-315 nm), e onda curta UVC (100-280 nm) (Clydesdale *et alli*, 2001; Duthie *et alli*, 1999; Hussein, 2005). A camada de ozono absorve eficientemente a radiação UV até cerca de 310 nm, isto é, toda a radiação UVC e mais de 95% da radiação UVB. No entanto, a radiação UVA não é absorvida (De Gruijl e Van Der Leun, 2000). Devido a danos substanciais da camada protetora de ozono, a quantidade de radiação UVB que chega ao solo pode ser superior a 5% (Duthie *et alli*, 1999).

A radiação UVA compreende mais de 95% da radiação solar que chega até nós. Comparando-a com a UVB, esta radiação penetra profundamente na epiderme e derme da pele e é cerca de 1000 vezes mais eficaz na produção de um efeito de bronzeamento imediato que é causado pelo escurecimento da melanina na epiderme (Clydesdale *et alli*, 2001). As radiações do tipo UVA, para além de causarem um envelhecimento precoce da pele, favorecem a penetração destes comprimentos de onda na derme, afetando a sua elasticidade e levando ao agravamento das fotodermatoses. Este tipo de radiação também causa a redução de células de Langerhans e o aumento de células inflamatórias presentes na derme (Palm e O'Donoghue, 2007). Quanto maior for a exposição aos raios UVA maior é a possibilidade de ocorrer a danificação de estruturas subjacentes e, subseqüentemente, o fotoenvelhecimento prematuro da pele com o aparecimento dos primeiros sinais, nomeadamente rugas, flacidez, pigmentação irregular e ressequimento (Clydesdale *et alli*, 2001).

## *ii. Formação de dímeros de timina*

Diversas biomoléculas, tais como o DNA, podem absorver radiação ultravioleta, alterando-se quimicamente. Por outro lado, a radiação ultravioleta pode, ainda, ativar constituintes do sistema imunitário cutâneo originando uma resposta inflamatória por diferentes mecanismos, tais como a ativação direta dos queratinócitos e subseqüente

libertação de mediadores inflamatórios, e/ou libertação de auto-antigêneos pelas células danificadas por exposição à radiação UV (Maverakis *et alli*, 2010).

Os resultados na pele das reações fotoquímicas dependem do comprimento de onda e da quantidade de energia absorvida. No caso da radiação UVB, que apresenta menor comprimento de onda e maior energia do que a radiação UVA, esta interage diretamente com o DNA, gerando mutações nos dímeros de pirimidina que estão associados com o aparecimento do carcinoma de células basais e o carcinoma de células escamosas. Poderá também exercer um papel importante no aparecimento de fotodermatoses, como a erupção polimorfa à luz solar e a urticária (Balogh *et alli*, 2011). Os dímeros de pirimidina podem ser reparados por enzimas fisiológicas específicas tais como a DNA polimerase I. Os sistemas de reparação são, em princípio, eficazes mas o excesso de exposição solar pode tornar a reparação menos eficiente (Balogh *et alli*, 2011).

A pele, sendo a barreira final protetora entre os órgãos internos e o meio ambiente, está exposta não só à radiação ultravioleta mas também a outros agentes potencialmente prejudiciais, tais como o fumo do cigarro, escape de automóveis e/ou exposição a outro tipo de gases decorrente de atividades profissionais específicas (Yaar e Gilchrest, 2001). Estes aspetos serão desenvolvidos nas seções seguintes do presente trabalho.

### **3. O papel dos telómeros**

As células somáticas eucariontes têm telómeros na parte terminal dos cromossomas. Estas estruturas consistem em muitas centenas de repetições de uma sequência curta (TTAGGG) que pré-determinam o número de vezes que a célula pode dividir antes de entrar em senescência. A enzima DNA polimerase, responsável pela replicação do DNA, não consegue replicar o segmento desoxirribonucleotídico terminal de cada cromossoma, resultando no encurtamento progressivo dos telómeros em cada divisão celular que poderá, eventualmente, desencadear a apoptose celular. (Yaar e Gilchrest, 2001). No caso dos queratinócitos humanos, a senescência replicativa é observada após 50-100 divisões celulares *in vitro*, permanecendo, depois disso, permanentemente na fase G1 do ciclo celular. Como estas células exibem alguma resistência à apoptose,

verifica-se uma janela de tempo adequada para a acumulação de erros na molécula de DNA (Rheinwald *et alli*, 2002). Assim, o envelhecimento intrínseco ou cronológico compreende, pelo menos em parte, a senescência celular, em resultado de encurtamento progressivo dos telómeros que faz com que as células entrem num estado permanentemente de não-divisão (senescência). Deste modo, lesões que ocorram no DNA telomérico podem acelerar o processo de senescência celular (Figura 4). No entanto, uma variedade de respostas adaptativas ou protetoras também podem ocorrer, criando um equilíbrio que pode reduzir o risco de cancro (Halachmi *et alli*, 2005).

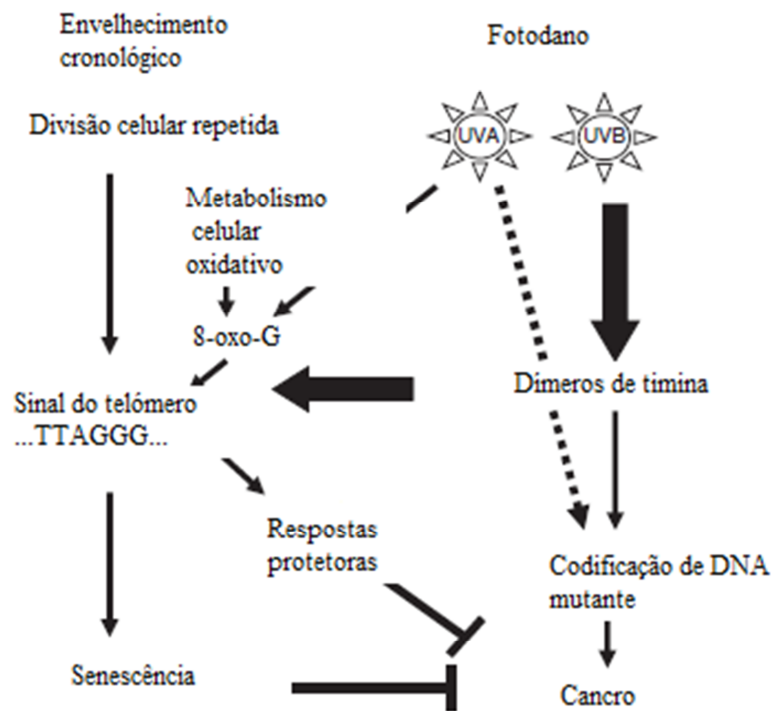


Figura 4- Convergência das vias intrínseca e extrínseca no processo de envelhecimento associado ao encurtamento do telómero (adaptado de Halachmi *et alli*, 2005).

#### 4. Atividade lisossomal e autofágica

O envelhecimento é um fenómeno universal caracterizado pela deterioração progressiva de células e órgãos devido à acumulação de macromoléculas e à danificação de organelos. Por isso, a remoção contínua dos componentes envelhecidos e a sua substituição por componentes recém-sintetizados é de vital importância para garantir a homeostasia celular e retardar o processo de envelhecimento. Neste contexto, a degradação de proteínas celulares assume especial importância. No caso das proteínas nucleares e citoplasmáticas de curta duração, estas são degradadas pelo complexo proteolítico proteassomal e/ou por proteases dependentes do cálcio (calpaínas). A mitocôndria pode autonomamente alterar certas proteínas anormais em virtude de possuir os seus próprios sistemas proteolíticos (Rajawat *et alli*, 2009). Nos restantes casos, a rede lisossomal é o principal sistema proteolítico intracelular, sendo responsável pela degradação de mais de 98% das proteínas com tempo de semi-vida longo, pelo que tem um impacto considerável ao nível da renovação dos tecidos (Rajawat *et alli*, 2009).

##### *i. Lisossoma*

Este organelo foi descoberto pelo citologista belga, Christian de Duve, na sequência de um estudo sobre a distribuição de enzimas intracelulares utilizando o método de centrifugação fraccionada (Rajawat *et alli*, 2009). A sua designação deriva da palavra grega “*lisis*”, que significa dissolução ou destruição, e “*soma*”, que significa corpo. Alguns anos após a sua descoberta, os lisossomas foram reconhecidos como um compartimento da degradação terminal da via endocítica (Rajawat *et alli*, 2009) e, desde então, têm sido descritos como a “*equipa*” de demolição ou o sistema de eliminação do lixo celular.

Os lisossomas degradam quer proteínas funcionais quer proteínas e organelos danificados assegurando, deste modo, a renovação contínua dos constituintes celulares e evitando a acumulação de componentes danificados (Rajawat *et alli*, 2009).

Ao microscópio eletrônico, os lisossomas podem ser visualizados como vacúolos esféricos densos, com tamanho e forma heterogêneas em função da natureza do conteúdo recolhido para digestão, e muitas vezes contêm material denso e agregados membranosos (Rajawat *et alli*, 2009). Como são organelos de membrana simples contendo várias enzimas hidrolíticas, são capazes de digerir uma matriz heterogênea de polímeros biológicos, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lípidos (Rajawat *et alli*, 2009).

O lúmen lisossomal contém cerca de cinquenta enzimas digestivas diferentes, sendo todas hidrolases ácidas (i.e., com atividade enzimática a pH ácido como é o caso do pH do lúmen lisossomal). A bomba de prótons, residente na membrana lisossomal, é responsável pelo transporte ativo de prótons (íons  $H^+$ ) a partir do citossol para o lisossoma e, por isso, pela manutenção do seu pH ácido interno. De fato, a concentração de  $H^+$  nos lisossomas é quase cem vezes mais elevada do que a do citossol. As hidrolases ácidas lisossômicas são responsáveis pela atividade degradativa enquanto que as permeases membranares são responsáveis pela reciclagem para o citossol de nutrientes essenciais (aminoácidos, ácidos gordos, açúcares, etc.) i.e., os produtos da degradação lisossomal (Rajawat *et alli*, 2009).

A formação e a manutenção do lisossoma ocorre através da interseção entre a endocitose e as vias secretoras. No caso da endocitose, o material recolhido a partir do exterior da célula é endocitado através de vesículas clatrina (formadas a partir da membrana plasmática) que depois se fundem com os endossomas primários e amadurecem gradualmente em endossomas tardios. Estes endossomas tardios, independentemente da origem (via biossintética ou via endocítica) fundem-se posteriormente com os lisossomas. Os lisossomas podem ser distinguidos dos endossomas pela ausência de recetores manose-6-fosfato (MPRs), que são responsáveis pelo encaminhamento de proteínas para os lisossomas (Rajawat *et alli*, 2009).

O lisossoma, para além de representar o principal compartimento celular responsável pela degradação de macromoléculas derivadas da fagocitose e endocitose e respetiva “regeneração” proteolítica, também participa na autofagia (Figura 5).

ii. Autofagia

A autofagia, que significa “comer a si mesmo”, é um processo que ocorre em todas as células eucarióticas e é evolutivamente conservado, desde a levedura até aos seres humanos. Os lisossomas são o destino final de estruturas intracelulares danificadas, identificadas e sequestradas pelos processos de macroautofagia e autofagia mediada por chaperona (Rajawat *et alli*, 2009).

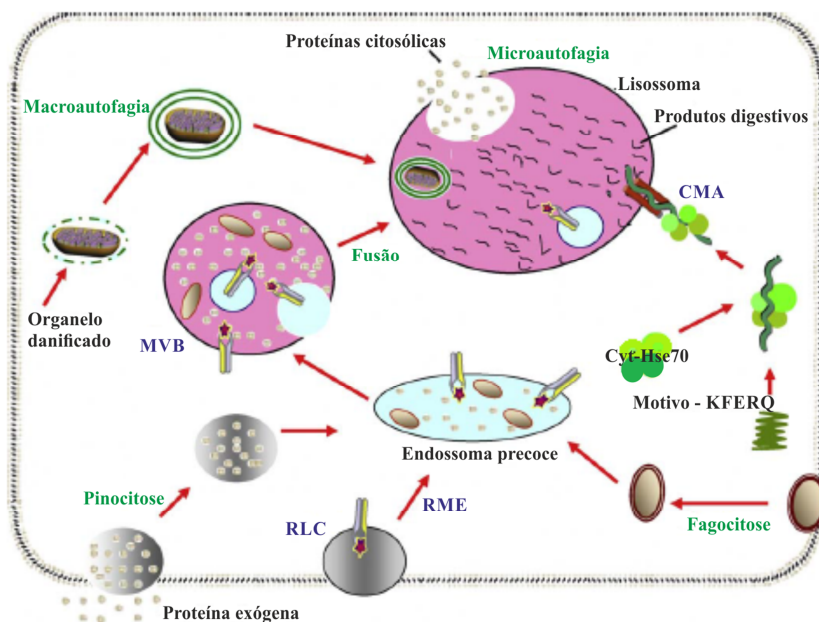


Figura 5- A máquina de degradação celular mediada pelo lisossoma. Os lisossomas são responsáveis pela digestão de substâncias exógenas, proteínas endógenas e organelos celulares. As proteínas exógenas são orientadas para o lisossoma através de fagocitose, pinocitose e endocitose mediada por receptor. As proteínas endógenas e organelos celulares são alvo de microautofagia, macroautofagia e autofagia mediada por chaperonas (CMA). As várias estruturas intermédias e organelos (endossomas, autofagossomas, corpos multivesiculares) são desprovidos de hidrolases. RLC, Complexo ligando- receptor; RME, Endocitose mediada pelo receptor; MVB, Corpos multivesiculares (adaptado de Rajawat *et alli*, 2009).

No processo de macroautofagia, as proteínas de longa duração, organelos e outros agregados macromoleculares intracelulares danificados, bem como microrganismos, tais como bactérias invasoras, são inicialmente sequestrados por submersão de parte do citoplasma para dentro de vesículas de membrana dupla, os autofagossomas. No entanto, os autofagossomas têm uma capacidade limitada de degradação a qual é potenciada pela fusão com lisossomas, formando-se o autofagolisossoma, no qual a carga citoplasmática é degradada e os produtos de degradação são reciclados para a síntese de novas moléculas (Rajawat *et alli*, 2009).

A autofagia mediada por chaperonas (CMA) é um processo autofágico mais seletivo no qual é reconhecida uma sequência específica na proteína-substrato alvo por chaperonas moleculares. Em seguida, este complexo é reconhecido pela proteína associada à membrana lisossomal tipo 2A (LAMP-2A) e a proteína-substrato entregue ao lisossoma para degradação. De referir que LAMP-2A também é uma proteína crítica para a maturação do autofagossoma e para a fusão eficiente com o lisossoma. Assim, ao contrário da macroautofagia, a CMA não requer a formação de vesículas e as proteínas citossólicas reconhecidas por esta via são diretamente transferidas para a membrana lisossomal (Rajawat *et alli*, 2009).

### *iii. Atividade lisossomal e autofágica versus envelhecimento*

O declínio progressivo da atividade proteolítica global com a idade tem sido observado em quase todos os organismos, bem como a subsequente acumulação intracelular progressiva de proteínas danificadas também extensivamente documentada (Rajawat *et alli*, 2009). Estas observações sublinham o papel central do lisossoma na remoção adequada de produtos danificados em organismos envelhecidos. De fato, há cada vez mais evidências indicativas de que a taxa de formação e maturação do autofagossoma, e a eficiência da fusão dos autofagossomas / lisossomas declinam com a idade. Deste modo, a integridade da rede autofagossomal-lisossomal parece ser crítica na progressão do envelhecimento.

Uma das alterações lisossomais relacionadas com o envelhecimento celular, cronológico ou prematuro, é a acumulação de lipofuscina. A lipofuscina é um produto pigmentado observado nos lisossomas e noutras vesículas relacionadas devido à digestão incompleta de componentes e consequente oxidação intra-lisossomal. A lipofuscina é uma substância amarelo-acastanhada, autofluorescente, polimérica, e não degradável. Contudo, a divisão e o crescimento das células podem eliminar parcialmente a lipofuscina, diluindo o pigmento em cada ciclo mitótico, ao passo que as células pós-mitóticas não têm essa capacidade tornando-se, por isso, mais vulneráveis ao efeito da acumulação de lipofuscina. Por outro lado, a difusão de peróxidos, citoplasmáticos para o lisossoma pode resultar na produção de radicais o que, por sua vez, pode causar a peroxidação de proteínas lisossomais e, subsequentemente, potenciar a formação de lipofuscina. Todas estas observações demonstram a relação existente entre a acumulação de lipofuscina, a função do compartimento lisossomal e a sobrevivência celular. A acumulação da lipofuscina deverá, assim, reduzir a capacidade degradativa dos lisossomas, resultando numa acumulação adicional de material intralisossomal. De fato, está documentado que a taxa de formação de lipofuscina se relaciona inversamente com a idade. O tratamento de células com leupeptina (um inibidor da protease lisossomal) provoca a acumulação de lipofuscina e ceróide nos lisossomas e, quando testada num modelo de ratinho transgénico, resulta no aparecimento de doenças relacionadas com a idade. Por outro lado, os lisossomas com sobrecarga de lipofuscina têm uma capacidade de fusão com estruturas autofágicas mais reduzida do que a observada em células sem essa sobrecarga. A presença de material não digerido nos lisossomas poderá, por exemplo, diminuir especificamente a capacidade de degradação do material de origem autofagossomal. Efetivamente, foi observada uma diminuição nos níveis lisossomais da proteína LAMP-2, que intervém na CMA, associada ao envelhecimento. A atividade normal CMA é inicialmente mantida (durante meia-idade), aumentando a quantidade de chaperona luminal. Em idades avançadas, o nível do receptor é tão baixos que a compensação pela chaperona não é mais possível. As razões do declínio do nível do recetor não são conhecidas e estão atualmente sob investigação (Rajawat *et alli*, 2009).

## 5. *Stress oxidativo*

A pele está exposta ao *stress* oxidativo, tanto de origem endógena como exógena, e muitíssimo poucos tecidos no corpo estão sujeitos a semelhantes níveis de exposição. As fontes exógenas incluem poluentes do ar, o ozono e altas concentrações de oxigénio, radiações ionizantes e não-ionizantes, presença de bactérias patogénicas, vírus, e diferentes químicos e toxinas exógenas (Evelson *et alli*, 1997; Menzel, 1994; Podda *et alli*, 1998). As fontes endógenas incluem enzimas associadas à produção indireta de espécies reativas de oxigénio (ROS), como por exemplo, a xantina oxidase que converte a xantina em ácido úrico, e o oxigénio molecular (Friedl *et alli*, 1989). No entanto, durante o processo evolutivo a pele, tal como outros tecidos, desenvolveram mecanismos de adaptação à exposição ao oxigénio molecular e seus derivados (Ames *et alli*, 1995).

As espécies reativas de oxigénio podem ser divididas em 2 categorias: moléculas de oxigénio que tem um eletrão desemparelhado e moléculas de oxigénio que se encontram num estado excitado. O primeiro tipo inclui radicais de anião superóxidos ( $O_2^-$ ), radicais hidroxilos ( $OH$ ) radicais peroxilipídicos ( $LOO^\cdot$ ) e radicais de óxido nítrico ( $NO^\cdot$ ). Por último, existe o oxigénio na forma atómica ( $O_2$ ). Os aniões superóxido são gerados por algumas reações enzimáticas tais como NADPH oxidase e xantina oxidase e como subproduto da reação da cadeia respiratória na mitocôndria (Babior *et alli*, 2002; Fantel *et alli*, 1995; Granger, 1988). O óxido nítrico também é gerado pelo óxido nítrico sintase (Nathan e Hibbs, 1991). O anião superóxido é espontaneamente ou metabolicamente convertido em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) pela ação da superóxido dismutase (SOD).  $H_2O_2$  é mais estável do que o anião superóxido e a membrana plasmática permeável a esta espécie molecular que é metabolizada pela ação da catalase (Comporti, 1998).

Há muitos alvos moleculares potenciais de oxidação nas camadas da pele, incluindo lípidos, proteínas e DNA (Kohen, 1999). Algumas destas espécies reativas podem iniciar um processo de peroxidação quer em lípidos quer em proteínas, incluindo as enzimas, e interferir com a sua função (Stadtman, 2006; Woods *et alli*, 1998). Este processo de peroxidação lipídica pode, por sua vez, levar a alterações na fluidez das

membranas, originando a libertação de moléculas e subsequente disfunção dos compartimentos celulares de origem (Gaboriau *et alli*, 1993; Mecocci *et alli*, 1996). Ao nível do DNA, uma variedade de espécies reativas pode levar à perda ou modificação de bases, bem como a quebras em moléculas de DNA de cadeia simples ou dupla (Ames *et alli*, 1993; Ames *et alli*, 1995). Está ainda documentado que as células que expressam estes marcadores de senescência aumentam em número, tanto durante o envelhecimento nas camadas dérmicas como epidérmicas da pele (Velarde *et alli*, 2012).

O papel principal das mitocôndrias no envelhecimento foi proposto pela primeira vez há mais de 30 anos por Denham Harman, com base na teoria original que o envelhecimento é causado pela acumulação de danos resultantes da ação de ROS (Harman, 1972). Atualmente, a disfunção mitocondrial é reconhecida por ser tanto a causa como a consequência do envelhecimento celular. As mitocôndrias geram continuamente espécies reativas de oxigénio potencialmente danosas durante a fosforilação oxidativa. Estes ROS são continuamente removidos/destruídos por sistemas celulares de defesa e proteção antioxidante. No entanto, quando a quantidade de ROS produzida supera o nível antioxidante endógeno, a alteração celular resultante pode conduzir à senescência celular (Velarde *et alli*, 2012). O envolvimento do DNA mitocondrial (mtDNA) no processo de envelhecimento depende principalmente da sua localização, em estreita proximidade com a cadeia respiratória mitocondrial que é a principal fonte de espécies reativas de oxigénio. Esta vulnerabilidade do mtDNA ao aparecimento e acumulação de mutações pode desempenhar um papel importante no processo do envelhecimento, produzindo células com uma capacidade oxidativa decrescente (Harman, 1972) mas, eventualmente, também condicionadas ao nível da produção de energia química e de apoptose, razão pela qual este é ainda um aspeto controverso (Khrapko e Vijg, 2009).

#### *i. Produção de ROS na pele*

Os tipos de ROS produzidos dependem do comprimento de onda da radiação ultravioleta. A radiação UVB estimula principalmente a produção de radicais livres de oxigénio (O<sub>2</sub>) através da ativação da NADPH oxidase (Jurkiewicz e Buettnerf, 1996;

Masaki *et alli*, 1995). A radiação UVA produz  $^1\text{O}_2$  através de um fotossensibilizador que reage com cromóforos como a riboflavina e a porfirina; esta radiação também origina a formação de radicais de oxigénio através da ativação da NADPH-oxidase (Valencia e Kochevar, 2008). O principal tipo de ROS produzido à superfície da pele é o  $^1\text{O}_2$  que é gerado através de uma reação de fotossensibilização entre o UVA e as porfirinas da flora bacteriana que vivem à superfície da pele (Ryu *et alli*, 2009).

ii. Alterações na pele associadas à produção de ROS

Os principais efeitos da radiação UV na pele estão sumarizados na Figura 6.

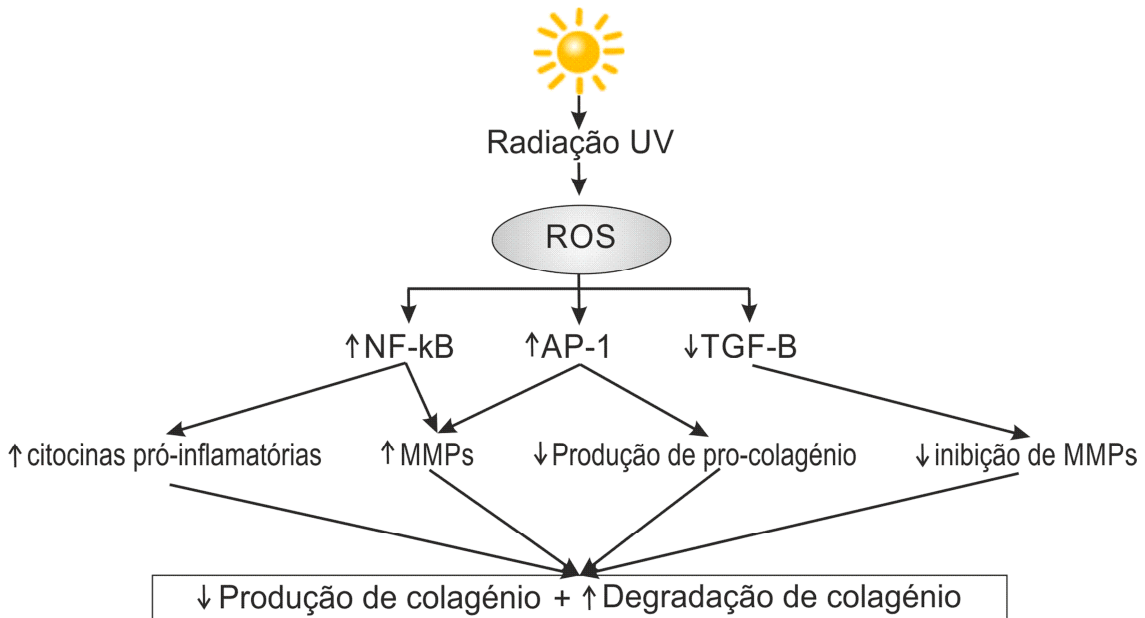


Figura 6- Efeitos da radiação ultravioleta (UV) na pele. A radiação UV induz a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), que podem danificar o DNA e influenciar o nível de expressão de fatores de transcrição nucleares. O efeitos a jusante inclui a diminuição da produção e a destruição extensa de colágeno. NF, Fator nuclear; AP, Proteína ativadora; TGF, Fator de transformação de crescimento; MMP, Metaloproteinases da matriz extracelular (adaptado de Zussman *et alli*, 2010).

Os principais efeitos produzidos na pele por ação da radiação UV são os seguintes:

*a) Inflamação*

O eritema na pele, ou popularmente chamado queimadura solar, é induzido pela radiação UVB. As espécies reativas de oxigênio incluindo o NO, induzem o eritema cutâneo através da síntese de prostaglandinas E2 (Ahn *et alli*, 2002; Rhodes *et alli*, 2009).

*b) Oxidação na superfície da pele*

A presença de lípidos e proteínas oxidadas induz alterações na pele. A aplicação tópica de esqualeno oxidado (esqualeno monohidroperóxido) na pele perturba a função de barreira da pele, como uma resposta aguda, induzindo a aspereza da pele como uma resposta crônica (Chiba *et alli*, 2003).

*c) Estimulação da atividade das glândulas sebáceas*

O *stress* oxidativo induzido pela radiação UV estimula a função das glândulas sebáceas devido ao aumento dos níveis de lípidos oxidados (Akitomo *et alli*, 2003).

*d) Ação na melanogénese*

A produção de ROS tem uma ação contraditória nos melanócitos porque não só aumenta a despigmentação como também pode aumentar a pigmentação na pele. Um exemplo da degeneração do melanócito induzida por *stress* oxidativo é o vitiligo, caracterizada pela circunscrita despigmentação de máculas na pele (Schallreuter *et alli*, 1999). A pele dos pacientes com este tipo de patologia, conhecida por *vitiligo vulgaris*, contém elevados níveis de SOD e baixos níveis de catalase, resultando na acumulação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na pele (Sravani *et alli*, 2009). Os queratinócitos são uma fonte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este atravessa facilmente a membrana celular e é portanto, facilmente transferido para melanócitos (Pelle *et alli*, 2005). Assim, a transferência de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> constitui um mecanismo molecular patogénico em relação a esta doença. Por outro lado, ROS

também pode acelerar a pigmentação da pele dada a proximidade dos queratinócitos aos melanócitos quando a pele está exposta a raios UV. O NO<sup>·</sup> produzido a partir de queratinócitos induz a melanogénese, através do aumento da quantidade de fatores da via melanogénica como por exemplo a tirosinase (Romero-Graillet *et alli*, 1997; Sasaki *et alli*, 2000).

*e) Alterações na matriz dérmica*

Um dos efeitos induzidos na pele pela produção de ROS em resposta à exposição à radiação UV é o aparecimento de rugas. Geralmente estas são criadas por alterações da matriz dérmica em que os níveis de colagénio diminuem devido ao aumento da degradação e diminuição da sua biossíntese. O <sup>1</sup>O<sub>2</sub> que é gerada pela irradiação de UVA, estimula a expressão de metaloproteinases da matriz (MMP-1) e IL-6 (Scharffetter-Kochanek *et alli*, 1993; Wlaschek *et alli*, 1994). Os lípidos oxidados, como o hidroperóxido de ácido linolénico, também aumentam a expressão de MMP-1 e MMP-3 (Ohuchida *et alli*, 1991). A acumulação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na pele devido a uma diminuição da atividade enzimática da catalase também estimula a expressão de MMP-1 (Shin *et alli*, 2005). A exposição da pele à radiação UV também atenua a síntese *de novo* colagénio, que é regulada pela proteína ativadora (AP-1) (Chung *et alli*, 1996), devido a uma redução da síntese de colagénio modulada por ROS e aos efeitos sobre a expressão de MMP-1 (Tanaka *et alli*, 1993).

*iii. Mecanismos de defesa e proteção*

Os mecanismos gerais de defesa e proteção contra a produção/ação de ROS estão sumariados na Figura 7.

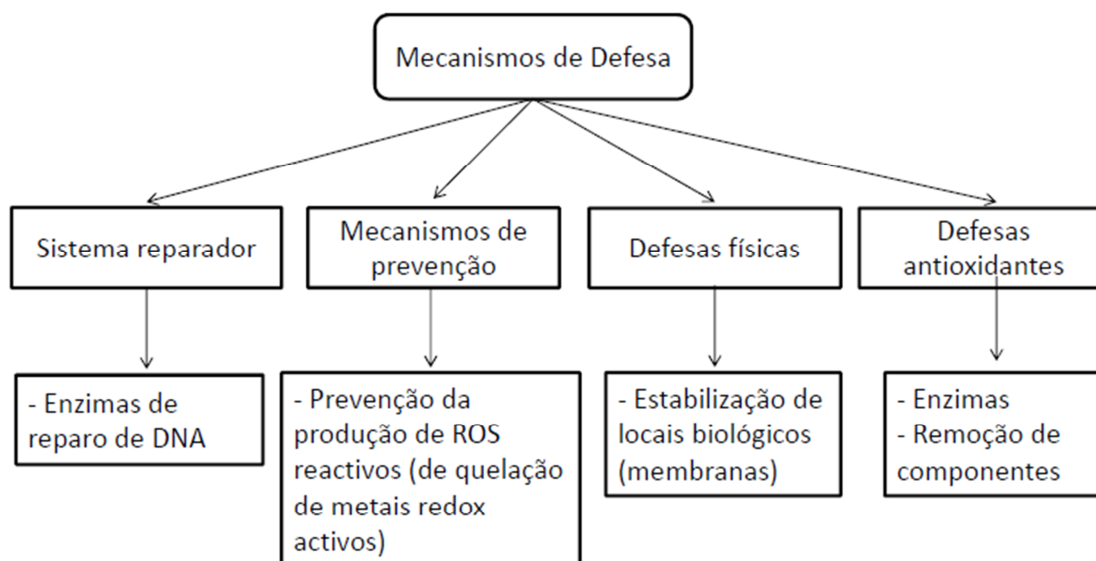


Figura 7- Mecanismos de defesa geral contra o *stress* oxidativo (adaptado de Kohen, 1999)

No âmbito da presente secção deste trabalho será explorado o mecanismo de prevenção/proteção antioxidante.

#### a) *Antioxidantes*

Com a ascensão da indústria de cosmética, numerosas formulações têm sido desenvolvidas visando a redução das manifestações clínicas do fotoenvelhecimento. Muitos desses produtos capitalizam a ligação positiva que o público associa a vitaminas, especialmente no que diz respeito à sua capacidade antioxidante. De fato, uma quantidade impressionante de ciência básica e da pesquisa clínica foi realizada numa tentativa de descobrir novas estratégias para prevenir os danos causados pelo sol e para validar a adição de vitaminas aos produtos de cuidados da pele (Zussman *et alli*, 2010).

Embora as vitaminas sejam nutrientes essenciais para o funcionamento adequado das células, a maioria dos animais não consegue produzi-las em quantidade suficiente, ou não as produz, pelo que terão de ser fornecidas pela dieta. Estudos *in vitro* mostraram

que muitas vitaminas possuem uma capacidades antioxidante elevada e podem desempenhar um papel importante em processos envolvidos no crescimento e na reparação da pele. Por essas razões, os possíveis benefícios cutâneos em formulações farmacêuticas têm sido amplamente explorados (Zussman *et alli*, 2010).

Em geral, para a maioria da população, a ingestão de vitaminas depende do consumo de alimentos na dieta. Por isso, vários ensaios clínicos têm examinado o efeito da ingestão de alimentos vitaminados no fotoenvelhecimento. No entanto, estes ensaios são de complexa execução e interpretação, já que existem fatores de confusão, como o uso de nicotina, de produtos tópicos, hábitos de exercício e a exposição aos raios UV. Assim, como os resultados do estudo não dependem unicamente da dieta do paciente, eles não são notoriamente confiáveis (Cosgrove *et alli*, 2007). Por exemplo, os investigadores, não tendo em conta outros fatores, associaram a baixa ingestão de vitamina C a uma aparência “deformada” e a uma *secura senil* (Cosgrove *et alli*, 2007).

De entre os antioxidantes com possíveis efeitos cutâneos e que a seguir são abordados, destacam-se os antioxidantes endógenos, vitaminas e substâncias naturais. A Figura 8 ilustra a complexidade do sistema de defesa antioxidante endógeno.

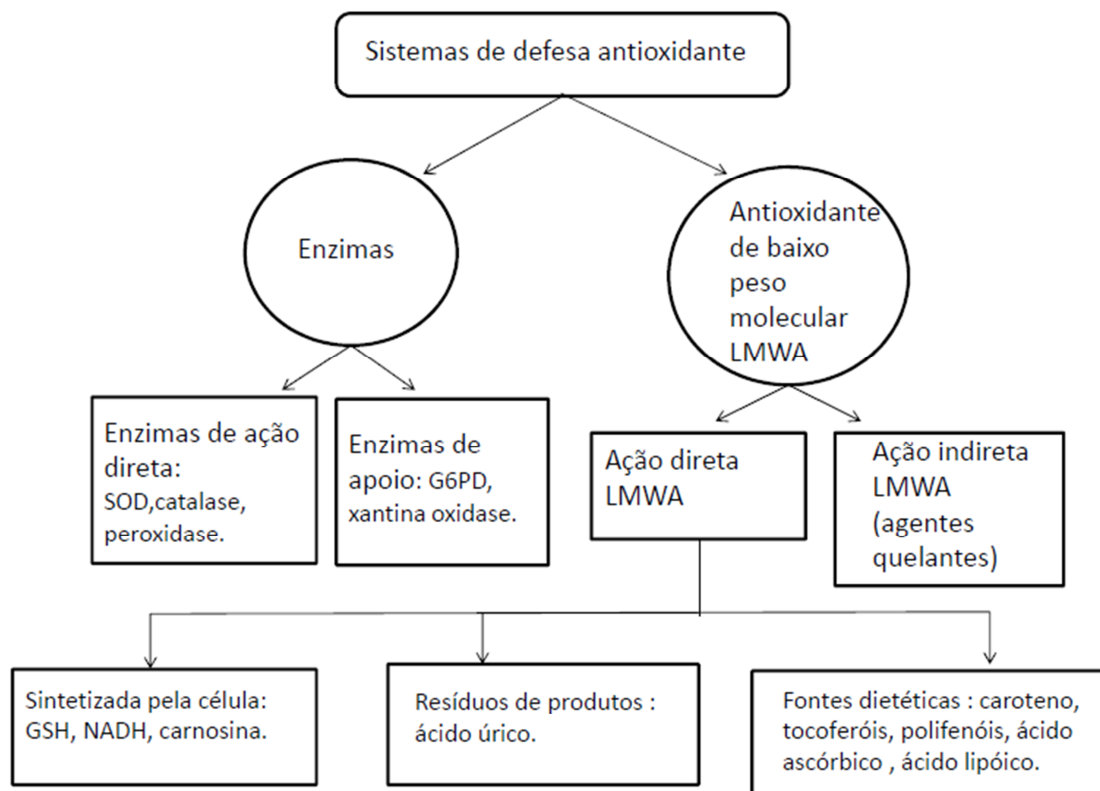


Figura 8- Sistema de defesa antioxidante da célula viva (adaptado de Kohen, 1999). SOD- Superóxido Dismutase; G6PD- Glucose-6-fosfato desidrogenase; LMWA- Antioxidantes de baixo peso molecular; GSH- Glutaciona; NADH- Nicotinamida adenina dinucleotídeo.

- Antioxidantes endógenos

As espécies reativas de oxigénio (ROS) causam mutações em diversas espécies, dependendo do ambiente. Os mamíferos desenvolveram vários sistemas protetores de eliminação de ROS. A enzima SOD que catalisa a dismutação do anião superóxido ( $O_2^-$ ) em oxigénio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) (McCord e Fridovich, 1988), e a catalase que decompõe o  $H_2O_2$  em  $O_2$  e  $H_2O$  (Chelikani *et alli*, 2004). No entanto, a ação combinada de SOD e catalase não eliminam completamente o anião superóxido (Muller *et alli*, 2007). Em adição à catalase, a glutaciona peroxidase (GPx) também decompõe o peróxido de hidrogénio na presença da forma reduzida de glutaciona (GSH). A GPx também decompõe hidroperóxidos de lípidos nos seus álcoois correspondentes (Muller *et alli*, 2007). A tioredoxina é uma enzima fundamental para a

redução de ROS, de uma forma dependente de NADPH, contribuindo também para a proteção celular (Mustacich e Powis, 2000). As metalotioninas, proteínas envolvidas na desintoxicação de metais e na regulação do metabolismo de metais essenciais, também atuam na proteção contra o *stress* oxidativo (Sato e Bremner, 1993).

- Vitaminas

A importância de algumas vitaminas na fisiopatologia da pele é sumariada na Tabela 4, destacando-se em seguida o papel de duas delas, a vitamina C e a vitamina E.

Tabela 4- Papel das vitaminas no processo de fotoenvelhecimento (adaptado de Zussman *et alli*, 2010).

Vitaminas	Funções
Vitamina A: sob a forma de carotenóides (1) nas células vegetais ou retinóides (2) nas células animais	(1)Pode evitar a quebra do colagéniogeno induzido por UV (2)Aumenta o crescimento de fibroblastos e a produção de colagéniogeno em ensaios clínicos; Aumenta a espessura da epiderme, reduzindo assim a aparência de rugas finas; Reduz os níveis de MMP, que catalisam a degradação do colagénio e elastina em ensaios clínicos; Efeito quimiopreventivo no carcinoma de pele através da redução de queratinócitos e melanócitos em ensaios clínicos.
Vitamina C	Confere ao colagéniogeno um aumento da estabilidade e diminuição da sensibilidade ao calor; Estimula a produção de colagéniogeno, tanto <i>in vitro</i> como em ensaios controlados clinicamente; Teoricamente pode proteger a pele do fotoenvelhecimento induzido por UV através das propriedades antioxidantes.
Vitamina E	Atua como um antioxidante quando aplicada antes da exposição solar; Regula a degradação do colagéniogeno e da elastina através do seu efeito sobre as MMPs.
Vitamina B3	Aumenta a produção de colagéniogeno em estudos <i>in vitro</i> ; Reduz a hiperpigmentação da pele em estudos clínicos;
Vitamina D	Protege contra enrugamento da pele induzido por UV e espessamento da epiderme.
Vitamina K	Reduz as manifestações vasculares do fotoenvelhecimento.

### *Ácido ascórbico (Vitamina C)*

Na pele, o ácido ascórbico é um co-fator necessário para a atividade enzimática de prolil-hidroxilase, que converte resíduos de prolina em resíduos de hidroxil-prolina, nomeadamente no procolagénio e na elastina (Myllyla *et alli*, 1984). Além disso, o ácido ascórbico é amplamente usado como um agente de despigmentação devido ao seu efeito inibidor da tirosinase. Adicionalmente, o ácido ascórbico contribui para a formação da barreira da pele, reforçando a diferenciação epidérmica e estimulando o fluxo do sangue através da produção de radicais de óxido nítrico (NO), aumentando a estabilidade de tetrahidrobiopterina, um co-fator essencial para a produção de aminoácidos aromáticos e do óxido nítrico (Heller *et alli*, 2001).

Devido a estas características, o ácido ascórbico tem sido amplamente utilizado em formulações para a pele. No entanto, a sua deficiente penetração na pele e instabilidade reduzem a sua eficácia clínica (Ebihara *et alli*, 2003). Para ultrapassar estes inconvenientes têm sido desenvolvidos derivados do ácido ascórbico tal como o magnésio L-ascorbil-2-fosfato (Kameyama *et alli*, 1996), o ácido ascórbico 2-O- $\alpha$ -glucósido e o ácido tetra-isopalmitoil ascórbico (Miyai *et alli*, 1996).

### *Tocoferol (Vitamina E)*

Os tocoferóis são moléculas constituídas por um anel cromanol e uma cadeia lateral hidrofóbica derivada do isopreno. São conhecidas oito formas diferentes, distinguindo-se cada uma delas pela posição do grupo metilo no anel cromanol e pela insaturação da cadeia lateral hidrofóbica. O mecanismo antioxidante dos tocoferóis é parcialmente devido ao grupo hidroxilo no anel cromanol que atua como doador de um átomo de hidrogénio no processo de redução de radicais livres. Das quatro espécies de tocoferol (alfa-, beta-, gama- e delta-), a única forma ativa no corpo humano é o  $\alpha$ -tocoferol, que sob condições fisiológicas, estimula a síntese de GSH (Masaki *et alli*, 2002).

O acetato de  $\alpha$ -tocoferol suprime o edema e o eritema, bem como a peroxidação lípídica induzidos pelo UVB. O UVA regula positivamente a expressão da proteína IL-8 e aumenta o nível de AP-1. Estes efeitos dos raios UVA são, efetivamente, reduzidos com o  $\alpha$ -tocoferol, dependendo da sua dose (Wu *et alli*, 2008).

### *Carotenóides*

Os carotenóides são pigmentos orgânicos produzidos naturalmente por plantas, algas, alguns tipos de fungos e algumas bactérias. Estes pigmentos são constituídos, nomeadamente, por  $\beta$ -caroteno, astaxantina e licopeno. Em geral, os carotenóides possuem a capacidade de extinguir a espécie de oxigénio muito reativa, o singlete de oxigénio ( $^1\text{O}_2$ ), razão pela qual são úteis na proteção contra os danos induzidos pela radiação UV.

Os mecanismos subjacentes aos efeitos protetores dos carotenóides têm sido explorados num modelo celular de fibroblastos humanos dérmicos previamente sujeitos a irradiação por UVA. Foi observado que doses moderadas de radiação UVA estimulam a apoptose dessas células, aumentam o *stress* oxidativo, incluindo a produção de ROS, diminuem as atividades das enzimas antioxidantes, promovem a perturbação da membrana e induzem a expressão de heme oxigenase-1 (enzima marcadora do *stress* oxidativo). A sobrecarga desses fibroblastos com astaxantina, cantaxantina ou  $\beta$ -caroteno mostrou que a astaxantina é o pigmento que confere maior proteção *in vitro* contra as alterações foto-oxidativas induzidas por UVA (Camera *et alli*, 2009).

No caso do licopeno, a sua concentração na pele também se correlaciona significativamente com a aspereza da pele, tendo sido demonstrado que níveis mais elevados deste antioxidante diminuem, de forma eficaz, a aspereza e, subsequentemente, o processo de enrugamento da pele (Darvin *et alli*, 2008).

- Substâncias naturais

A ubiquinona ou coenzima Q10 (CoQ10) também é reconhecida como um antioxidante intracelular. Em queratinócitos humanos irradiados com UVA, ela reduz os danos na molécula de DNA *in vitro*. Em queratinócitos humanos irradiadas com UVB, a CoQ10 suprime a produção de MMP-1 devido à regulação negativa da expressão de IL-6 (Inui *et alli*, 2008). Além disso, a CoQ10 acelera a produção de componentes da membrana basal, tal como laminina 332 e as moléculas de colagénio do tipo IV e VII, em queratinócitos e fibroblastos, respetivamente; no entanto, não tem qualquer efeito sobre a produção de colagénio do tipo I em fibroblastos. Estes resultados sugerem que o

CoQ10 tem propriedades anti-envelhecimento através da produção acelerada dos componentes epidérmicos da membrana basal (Muta-Takada *et alli*, 2009).

## **6. Fatores de risco**

O envelhecimento da pele também pode ocorrer pela exposição a diferentes fatores ambientais. O processo de envelhecimento induzido por fatores ambientais é designado de processo prematuro ou extrínseco e pode ser distinguido do processo envelhecimento cronológico ou intrínseco, como já foi descrito anteriormente.

Assim, neste capítulo, abordam-se os principais fatores ambientais que provocam o envelhecimento extrínseco da pele: exposição solar, tabagismo e poluição atmosférica. Com base em estudos epidemiológicos tem sido, ainda, sugerida a associação entre a poluição do ar e o envelhecimento da pele. Ao envelhecimento da pele induzido pela radiação solar foi atribuído um termo próprio, o fotoenvelhecimento (Krutmann *et alli*, 2012). Os principais mecanismos moleculares associados ao processo de envelhecimento extrínseco são apresentados na Figura 9.

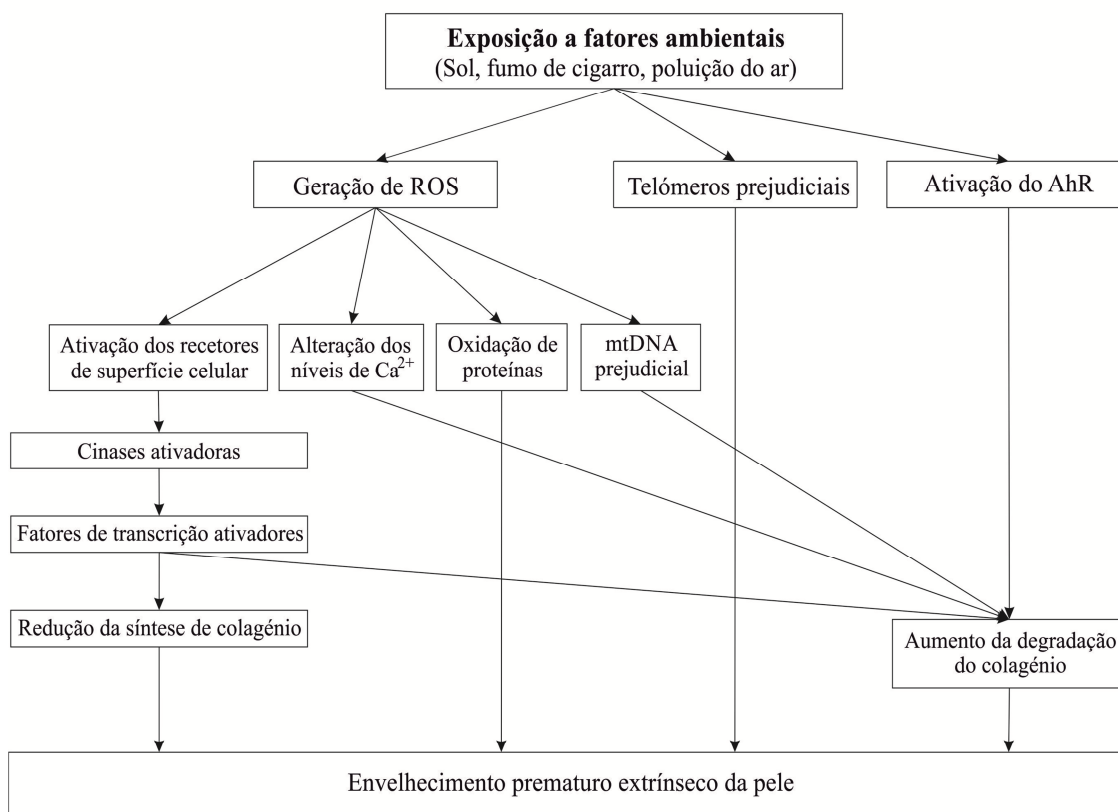


Figura 9- Mecanismos moleculares do envelhecimento prematuro extrínseco da pele. (Vierkotter e Krutmann, 2012). mtDNA- DNA mitocondrial; AhR- Recetor aril-hidrocarboneto; ROS- Espécies reativas de oxigénio.

### *i. Exposição solar*

Os efeitos da exposição crónica ao sol sobre a pele são facilmente visíveis quando se compara a pele normalmente não exposta ao sol e a pele regularmente exposta ao sol. As mudanças na pele, como rugas e pigmentação, estão diretamente associadas com o fotoenvelhecimento e são consideradas as manifestações cutâneas que mais precocemente se manifestam. Além disso, a exposição solar aguda e crónica também tem sido associada ao aparecimento de várias formas de cancro de pele (Baumann, 2007).

*ii. Hábitos tabágicos*

O hábito tabágico é responsável por mais de três milhões de mortes por ano em todo o mundo. Além da associação com um certo número de doenças sistêmicas, o tabagismo também está associado com muitos distúrbios dermatológicos, incluindo má cicatrização, envelhecimento prematuro da pele, carcinoma de células escamosas, melanoma, acne, psoríase e perda de cabelo. Para além dos estudos epidemiológicos, que indicam que o tabagismo é um importante fator ambiental no envelhecimento prematuro da pele, estudos *in vitro* indicam que o extrato de fumo de tabaco prejudica a produção de colagénio, aumentando a produção de tropoelastina e MMPs. O aumento do nível de MMPs leva à degradação do colagénio, fibras elásticas e proteoglicanos, estando provavelmente associado a um desequilíbrio entre a biossíntese e a degradação do metabolismo do tecido conjuntivo dérmico. Deste modo, estudos *in vitro* e *in vivo* associam o hábito tabágico com envelhecimento prematuro da pele (Morita, 2007).

*iii. Poluição do ar*

A poluição do ar representa uma ameaça ambiental a que milhões de seres humanos em todo o mundo estão expostos. Por isso, os efeitos adversos dos poluentes do ar sobre a saúde humana são atualmente uma preocupação séria (Castano-Vinyals *et alli*, 2008).

A pele é um órgão barreira mas, sendo o mais externo, está em contato direto com vários poluentes do ar, os quais poderão causar efeitos nefastos, nomeadamente o seu envelhecimento preamuro. Alguns estudos têm comprovado o efeito do ozono sobre o tecido cutâneo, evidenciando que o ozono, como agente oxidante forte, é susceptível de afetar a integridade da pele (Thiele *et alli*, 1997; Valacchi *et alli*, 2003). Além disso, em murinos foi observado que ozono é capaz de induzir a expressão de MMP-9 na pele, provocando, indiretamente, a remodelação da matriz (Valacchi *et alli*, 2003). Um importante mecanismo através do qual as partículas atmosféricas exercem os seus efeitos prejudiciais sobre a pele é a geração de ROS (Donaldson *et alli*, 2005). Além disso, essas partículas podem servir como veículos para produtos químicos orgânicos e metais que são capazes de induzir a produção mitocondrial de ROS e,

subseqüentemente, provocar o envelhecimento da pele por dano mitocondrial (Li *et alli*, 2003).

## 7. Fotoenvelhecimento e carcinogênese

Tal como mencionado anteriormente, o processo de fotoenvelhecimento (Figura 9) compreende alterações clínicas, histológicas e funcionais provocando, ao longo do tempo, não só alterações indesejadas ao nível da aparência da pele mas também acelerando a perda de reservas fisiológicas e as várias capacidades de proteção da pele (Gilchrest, 2013).

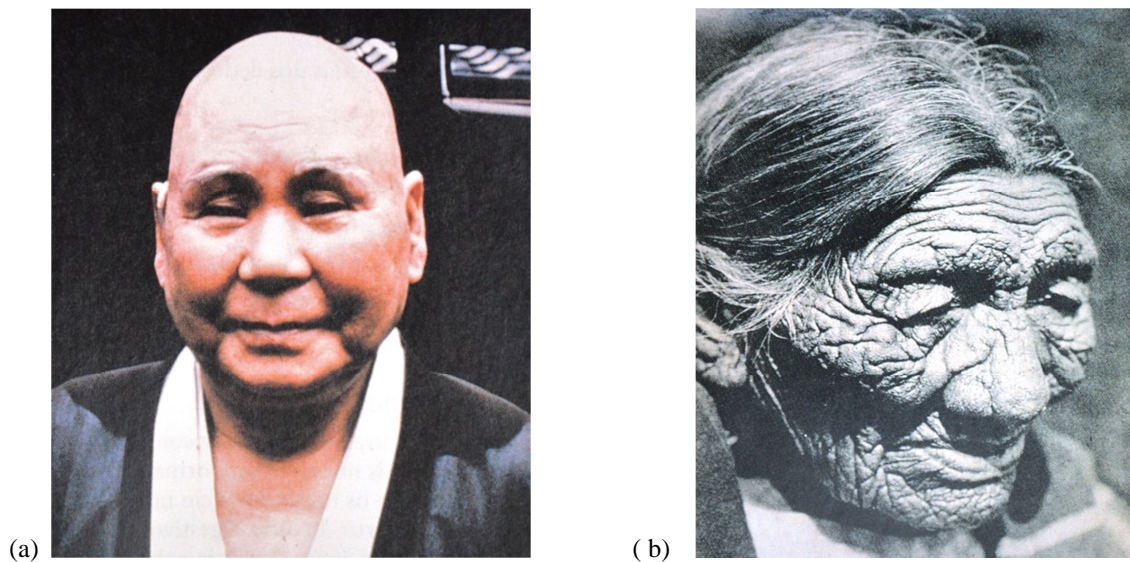


Figura 10- Efeitos da luz solar sobre a pele (Seeley *et alli*, 2003). (a) Monge Japonês de 91 anos, que passou a maior parte da sua vida entre paredes; (b) Índia americana de 62 anos de idade, que passou a maior parte da sua vida ao ar livre.

A fotocarcinogênese representa um conjunto de eventos bioquímicos, simultâneos e sequenciais que, em última análise, ocasionam cancro da pele. Estes eventos, iniciados por radiações UV, incluem, por exemplo, quebras num único filamento de DNA, ligações cruzadas entre cadeias de, modificações de bases de nucleótidos, mutações em

proto-oncogenes e genes supressores de tumores, produção de espécies reativas de oxigénio com efeitos subsequentes sobre o DNA, e eventos epigenéticos de natureza imunológica, antioxidante ou dietética (Black *et alli*, 1997).

Se por um lado mutações no DNA são impulsionadoras da diversidade de formas de vida geradas pelo processo de evolução, por outro lado elas também podem ser prejudiciais para a fisiologia das células somáticas. A resposta celular ao aparecimento de mutações no DNA pode ser desencadeada a dois níveis. Em primeiro lugar, quando a mutação é patogénica pode ocorrer morte celular programada ou, em alternativa, paragem do ciclo celular temporária ou permanentemente (senescência). Esta resposta protege contra o aparecimento do cancro, mas pode ter efeitos negativos, a longo prazo, decorrentes da redução das espécies celulares mutadas. Em segundo lugar, os danos podem ser reparados através de uma ou mais das muitas vias sofisticadas da manutenção da integridade do genoma. No entanto, o reparação dos erros no DNA pode implicar uma restauração incompleta da cromatina, produzindo novas alterações que se acumulam com a idade. O efeito cumulativo deste tipo de alterações com a idade aumenta o risco de cancro, levando ao declínio progressivo da função do órgão. A degeneração celular e a proliferação celular descontrolada são, por isso, duas características do envelhecimento, aparentemente mutuamente exclusivas mas que podem ser accionadas por um mecanismo comum (Maslov e Vijg, 2009). Os resultados emergentes revelam que o fenómeno da senescência celular representa um mecanismo fisiológico de supressão do tumor, com uma potencial correlação com o envelhecimento do tecido, isto é, um aumento significativo no número de células senescentes, em tecidos de pessoas com idade mais avançada (Braig *et alli*, 2005; Collado *et alli*, 2005).

A incidência do cancro de pele não-melanoma, tal como a maioria dos tumores malignos, aumenta com o avançar da idade. No entanto, em geral, o seu aparecimento não decorre do processo de envelhecimento mas, principalmente, da exposição da pele à radiação solar. Clinicamente, os carcinomas de células escamosas e epiteliomas basocelulares são os cancros mais frequentes na população caucasiana. O papel da radiação solar no aparecimento do cancro de pele foi sugerido por uma série de observações clínicas relatadas por volta de 1900 e, posteriormente, foi estabelecido por estudos epidemiológicos e experimentais. Inicialmente foi sugerido que a radiação UVB seria a radiação mais cancerígena. No entanto, estudos recentes indicam que os raios

UVA podem potencializar o efeito dos raios UVB. Outros estímulos físicos, incluindo o calor e o vento, também podem acelerar a carcinogênese induzida por UVB. Também produtos químicos como os hidrocarbonetos policíclicos, os nitrosoureas e a mostarda nitrogenada têm um efeito cancerígeno aditivo com a radiação UVB. Além disso, algumas substâncias químicas, tais como óleo de croton, o éster de forbol, e todo o ácido-trans-retinóico (AR) podem promover a carcinogênese iniciada por UVB (Epstein, 1983).

#### **IV. Medidas de Prevenção**

Tal como mencionado anteriormente, à medida que o corpo envelhece, a pele torna-se mais vulnerável à agressão porque a epiderme se torna mais fina e a quantidade de colagénio dérmico vai diminuindo. As infeções tornam-se mais frequentes e a capacidade de reparação da pele diminui. A flacidez e o aspeto enrugado da pele resultam da diminuição das fibras elásticas da derme e da perda de gordura da hipoderme. Com a idade a pele torna-se mais seca uma vez que a atividade das glândulas sebáceas também diminui. Adicionalmente, a diminuição da atividade das glândulas sudoríparas e uma menor irrigação sanguínea da derme reduzem a capacidade de termorregulação. O número de melanócitos funcionais diminui mas, em algumas áreas localizadas, particularmente nas mãos e na cara, os melanócitos aumentam em número, produzindo manchas. Os cabelos brancos surgem devido à falta ou redução de melanina. No entanto, a pele exposta à luz solar parece envelhecer mais rápido do que a não exposta. Tal como já referido em seções anteriores, este efeito é principalmente observado nas regiões do corpo mais expostas à radiação UV, tais como face e mãos. As características histológicas do envelhecimento prematuro provocado pela exposição crónica da pele à radiação são diferentes das observadas no envelhecimento cronológico. Na pele exposta à luz solar as fibras elásticas normais são substituídas por um tapete entrançado de material elástico espesso, o número de fibras de colagénio diminui e a capacidade dos queratinócitos se dividirem fica alterada (Seeley *et alli*, 2003).

## 1. Protetores solares

A fotoproteção funciona como um componente profilático e terapêutico contra as alterações na pele provocadas pelos raios UV. Como tal, é necessário o uso de protetores solares (PS), roupas que protejam do sol e uma exposição restrita às radiações UV. É sabido que, devido aos efeitos nocivos do sol, os protetores solares são a primeira linha de prevenção devido aos efeitos nocivos do sol (Balogh *et alli*, 2011). Estes são constituídos por filtros UV que se dividem em orgânicos (absorventes químicos) e inorgânicos (bloqueadores físicos), assunto que se abordado mais à frente. Vários estudos demonstram que o uso adequado de fotoprotetores reduz o número de casos de queratose actínica, carcinoma de células escamosas e atenua o desenvolvimento de nevos em crianças. Para além destes itens, o uso regular evita o fotoenvelhecimento (Baron *et alli*, 2008; Gonzalez *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007; Palm e O'Donoghue, 2007).

Os protetores solares são preparações cosméticas que possuem formas de apresentação diferentes: loções hidroalcoólicas (reduzida proteção, com formação de filme protetor irregular e podem provocar o ressequimento da pele), óleos (apresentam proteção superior às loções hidroalcoólicas, mas não atingem valor de fator de proteção solar (FPS) alto, geis oleosos (apresentam composição oleaginosa gelificada), emulsões óleo-água (O/A), emulsão água-óleo (A/O), aerossóis, entre outras. Os PS contêm filtros (moléculas ou complexos moleculares) que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV (Baron *et alli*, 2008; Gonzalez *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007; Palm e O'Donoghue, 2007).

*Filtros Inorgânicos*- óxido de zinco; dióxido de titânio; talco; calamina

Estes tipos de filtros são capazes de refletir e dispersar as radiações UV, visíveis por meio de uma barreira opaca formada pelo filme de partícula sobre a pele. Dependendo do tamanho da partícula, a proteção pode ocorrer não apenas por meio da reflexão como também da absorção (Gonzalez *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007; Palm e O'Donoghue, 2007).

Os filtros inorgânicos apresentam relativa estabilidade, não reagem com filtros orgânicos e são mais seguros clinicamente. Assim, são considerados não tóxicos, estáveis e a primeira escolha para fotoprotetores destinados a pacientes com casos de alergia. Os seus inconvenientes são: desenvolvimento de coloração opaca esbranquiçada sobre a pele após aplicação, favorecimento da comedogênese e transferência para o vestuário, com conseqüente comprometimento da eficácia fotoprotetora (Gonzalez *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007; Palm e O'Donoghue, 2007).

### *Filtros Orgânicos- UVA e UVB*

Os filtros orgânicos são moléculas capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações energéticas inócuas para o ser humano. Basicamente, são compostos aromáticos conjugados com grupos carboxílicos e, usualmente, possuem um grupo doador de elétrons como, por exemplo, uma amina ou metoxila na posição orto ou para do anel aromático. Quanto à solubilidade, podem ser hidrossolúveis ou lipossolúveis. Como já foi referido, estes filtros dividem-se em filtros UVA, que exercem proteção contra a radiação UVA, filtros UVB, que exercem proteção contra a radiação UVB, e filtros de amplo espectro que promovem proteção contra as radiações UVA e UVB. Os filtros UVB são efetivos: podem filtrar até 90% da radiação UVB e são utilizados há décadas. Os filtros UVA e os filtros de amplo espectro são mais recentes. Atualmente, produtos diversos utilizam uma combinação de filtros de diferente tipo visando a obtenção de uma proteção de amplo espectro. A eficácia dos filtros orgânicos está diretamente relacionada com a estabilidade fotoquímica, com a dispersão e dissolução facilitadas e permanentes no veículo e com a resistência à água. A existência de desvantagens prende-se com a sua toxicidade, pelo que os filtros ideais deverão ser não-tóxicos e não causar irritação e/ou alergia (Gonzalez *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007).

## **2. Roupas e chapéus**

Roupas e chapéus são abordagens de fácil acesso e eficazes contra os efeitos nocivos da radiação UV. Todos os médicos dermatologistas recomendam o uso de roupa e chapéu

apropriados durante a exposição prolongada ao sol; porém, alguns tipos de tecido não são apropriados, já que não oferecem proteção suficiente (Baron *et alli*, 2008; Gambichler *et alli*, 2006; Gonzalez *et alli*, 2008; Palm e O'Donoghue, 2007). Diversos fatores afetam a capacidade fotoprotetora dos tecidos. Em geral, aqueles fabricados com fibras firmes, mais rígidos, espessos e também os mais escuros, protegem melhor o corpo do que aqueles fabricados com menor firmeza entre as fibras, menos rígidos e menos espessos. Assim, a rigidez, a cor, a espessura e o peso dos tecidos influenciam a sua capacidade de fotoproteção. (Lautenschlager *et alli*, 2007; Palm e O'Donoghue, 2007; Ramirez e Schneider, 2003).

As roupas e chapéus oferecem uma proteção equilibrada e uniforme para ambos os tipos de radiação, UVA e UVB, e uma proteção mais confiável do que os protetores solares desde que os utilizadores se lembrem de usá-los. De fato, um utilizador precisa de aplicar filtros solares 30 minutos antes de ir para o ar livre e reaplicá-los a cada 2 horas, requisitos que muitas vezes são ignorados ou esquecidos. Além disso, o grau de proteção oferecido pelos protetores solares depende da aplicação correta e da quantidade do produto (Bech-Thomsen e Wulf, 1992; Stenberg e Larko, 1985). Por último, roupas e chapéus são menos dispendiosos do que os filtros solares (Hatch e Osterwalder, 2006), e eles são destituídos de efeitos secundários.

O fator de proteção ultravioleta (FPU) avalia o grau de proteção das roupas. Este fator é semelhante ao fator de proteção solar (FPS) aplicado aos protetores solares. FPU representa, em princípio, a proteção contra a radiação UVA e a radiação UVB, característica que será inexistente no FPS que apresentem apenas proteção contra UVB (Baron *et alli*, 2008; Lautenschlager *et alli*, 2007). O tipo de material do tecido desempenha um papel importante, sendo que o poliéster e a lã oferecem a maior capacidade de absorção de UV e têm valores superiores de FPU (Davis *et alli*, 1997). No entanto, o poliéster retém o calor e não é um material confortável. No entanto, nas roupas de verão, o poliéster pode ser combinado com outros materiais para proporcionar tanto conforto como proteção UV superiores (Davis *et alli*, 1997).

### 3. Óculos de sol

Os dermatologistas tendem a concentrar-se nos efeitos nocivos da exposição dos UV na pele. No entanto, os danos agudos e crônicos das radiações UV nos olhos são igualmente impressionantes. Para além do desenvolvimento de cancro em células basais e escamosas na pele da pálpebra e periorbital (Diepgen e Mahler, 2002; Lindgren *et alli*, 1998), a exposição aos raios UV também pode danificar a córnea, conjuntiva, lente e retina, e eventualmente cataratas. Um par de óculos de sol pode fornecer sombra sem proteção UV adequada. Em suma, encontrar um par de óculos de sol que forneça proteção adequada pode não ser uma tarefa simples (Leow e Tham, 1995; Semes, 1991).

### V. Tratamento

A visita a dermatologistas para a prevenção e tratamento do envelhecimento da pele é um procedimento cada vez mais comum. De um modo geral, as estratégias para o planeamento do tratamento e prevenção do envelhecimento na pele são as seguintes (Antoniou *et alli*, 2010):

- A primeira abordagem tem como objetivo prevenir o fotoenvelhecimento através o uso de filtros solares de amplo espectro químico ou físico, estimulando no doente um comportamento mais consciente em relação à foto-exposição.
- A segunda estratégia recorre a formulações com substâncias ativas para tentar adiar ou mesmo reduzir os sinais e os sintomas de envelhecimento. O ácido retinóico, alfa hidroxi-ácidos, antioxidantes, estrogénios e fatores de crescimento têm sido amplamente utilizados nesse sentido.
- A terceira estratégia é utilizada quando já se manifesta uma forma mais grave de envelhecimento que, por isso, exige o recurso a mecanismos mais invasivos, como os químicos, com concentração de ácido superior, o uso de lasers, a injeção de agentes de enchimento e de toxina botulínica.

As estratégias usadas no processo de anti-envelhecimento da pele e que visam reverter os sinais de envelhecimento cronológico e/ou prematuro, da epiderme e derme serão

desenvolvidas no âmbito da presente secção. Na Tabela 5 estão agrupadas algumas dessas abordagens terapêuticas.

Tabela 5- Estratégias anti-envelhecimento da pele (adaptado de Ganceviciene et alli, 2012).

Cuidado cosmetológico	Cuidado diário da pele; Proteção solar correta; Procedimentos estéticos não invasivos.
Agentes médicos tópicos ou agentes tópicos	Antioxidantes; Reguladores celulares.
Procedimentos invasivos	Peelings químicos; Dispositivos de luz visível; Luz intensa pulsada (IPL); Laser ablativo e não-ablativo foto-rejuvenescimento; Radiofrequência (RF); Bioestimulação injetável da pele e rejuvenescimento; Prevenção de rugas dinâmicas; Correção de rugas anatômicas estáticas; Restauração (redistribuição) de gordura e perda de volume, aumento de pele e contorno.
Agentes sistémicos	Terapia de reposição hormonal; Antioxidantes.
Fatores exógenos de envelhecimento a evitar e correção de hábitos e estilos de vida.	Fumar; Poluição; Irradiação solar UV; <i>Stress</i> ; Nutrição, restrição da dieta e suplementos alimentares; Atividade física; Controlo do estado geral de saúde.
Medicina preventiva	

A próxima secção desenvolve especificamente o tratamento cosmético.

## 1. Cremes

Existem dois grupos principais de agentes que podem ser utilizados como componentes de antienvelhecimento em cremes: os antioxidantes e os reguladores celulares. Os antioxidantes (vitaminas, polifenóis e flavonóides) têm como função reduzir a degradação do colagénio através da diminuição da concentração de radicais livres nos tecidos; os reguladores celulares (retinóides, péptidos e fatores de crescimento) têm um efeito direto sobre o metabolismo do colagénio promovendo a sua produção (Rabe *et alli*, 2006).

Quanto aos antioxidantes, as vitaminas C, B3 e E são as mais importantes devido à sua capacidade de penetrar a pele através do seu baixo peso molecular (Bissett *et alli*, 2004). Estudos clínicos indicam que a proteção antioxidante é maior com a combinação das vitaminas C e E (Kerscher e Buntrock, 2011; Murray *et alli*, 2008). No caso da niacinamida (vitamina B3), ela é usada como agente antienvelhecimento numa concentração de 5% (Ganceviciene *et alli*, 2012). Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) é frequentemente utilizada como um componente de produtos para a pele e tem efeitos anti-inflamatórios e anti-proliferativos, numa concentração entre 2 e 20%. Atua, suavizando da pele e aumentando a capacidade do estrato córneo para manter a sua humidade, acelerando a epitelização, e contribuindo para a fotoproteção da pele. Os efeitos não são tão acentuados como os das vitaminas C e B3 (Zhai *et alli*, 2005).

Outros reguladores celulares, como os derivados da vitamina A, agem diretamente sobre o metabolismo do colagénio, estimulando a sua produção e a de fibras elásticas. Efetivamente, a vitamina A (retinol) e os seus derivados (retinaldaído e tretinoína) fazem parte do grupo de agentes com efeitos antioxidantes. Estudos *in vivo* sugerem que o retinol apresenta, topicamente, apenas uma pequena ação de tipo retinóide quando comparado com o retinaldaído tópica e ácido retinóico em estudos *in vivo* (Kafi *et alli*, 2007). Na epiderme, retinóides sevem para normalizar o ciclo de vida de queratinócitos, reduzir os queratinócitos atípicos e normalizar a propagação de melanossomas. Alterações dérmicas são representadas por um aumento de colagénio, elastina, e glicosaminoglicanos. Histopatologicamente, essas mudanças são expressas por mudanças estruturais na elastose solar e degeneração do colagénio, restauração de

células de Langerhans, e correção de alterações displásicas (Kligman, 1989, 1996; Ramos-e-Silva *et alli*, 2001). O ácido retinóico (tretinoína) é considerado um dos compostos mais potentes para tratar os sinais de envelhecimento, incluindo linhas finas e manchas, mas deve ser usado com cautela para evitar a produção de efeitos indesejáveis, tais como manchas e queimaduras (Ganceviciene *et alli*, 2012).

Outra questão a ser considerada é a utilização de retinóides na proteção do sol. Embora os retinóides tópicos sejam utilizados em protetores solares como antioxidantes, este uso é controverso, já que os retinóides não oferecem qualquer bloqueio ou proteção ultravioleta, podendo, no entanto, oferecer algum efeito benéfico sobre eliminação de radicais livres. Retinilpalmitato é um éster de retinol que, devido à sua propriedade antioxidante, é incluído em alguns filtros solares para reduzir o risco de cancro da pele. No entanto, os retinóides podem causar reações como eritema, descamação, prurido e sensação de queimadura (Chapman, 2012).

Estudos *in vivo* indicam que a aplicação tópica de polifenóis do chá verde, antes da exposição à radiação UV, provoca um aumento da dose eritematosa mínima, diminui o número de células de Langerhans, reduzindo os danos no DNA (Elmets *et alli*, 2001). Outros produtos vegetais atuando como antioxidantes são, por exemplo, as isoflavonas de soja (Elmets *et alli*, 2001).

## 2. *Peelings*

Os *peelings* químicos são usados para provocar uma ablação de camadas da pele induzindo a definição de uma pele uniforme. O seu mecanismo de ação baseia-se na regeneração e reparação depois da inflamação da epiderme e da derme. O mecanismo molecular dos *peelings* químicos ainda não está claramente esclarecido mas vários estudos indicam que provocam o aumento do teor de fibras de colagénio, água e GAGs na derme (Ganceviciene *et alli*, 2012).

Os *peelings* químicos são classificados em três categorias: *peelings* superficiais [ $\alpha$ - $\beta$ -, ácidos lipo-hidroxi (HA), ácido tricloroacético (TCA) a 10-30%] que se destinam à esfoliação de camadas epidérmicas, sem ultrapassar a camada basal; *peelings* de média

profundidade (TCA acima de 30 a 50%) que alcançam a derme reticular superior; e *peelings* profundos (TCA > 50%, fenol) que penetram na derme reticular inferior (Fischer *et alli*, 2010; Monheit e Chastain, 2001).

A profundidade do *peeling* depende não só do tipo de substância utilizada mas também da sua concentração, do pH da solução e do tempo de aplicação (Ganceviciene *et alli*, 2012). Após várias semanas da aplicação de *peelings* podem ser observadas as seguintes modificações cutâneas: normalização da arquitetura epidérmica, presença e distribuição uniforme de melanócitos, distribuição homogênea de melanina nas células basais, espessura uniforme da membrana basal, aparecimento de uma nova camada subepidérmica de colagénio, e formação de uma nova rede de fibras elásticas paralelas às de colagénio (Ganceviciene *et alli*, 2012). Os efeitos secundários correlacionam-se com a profundidade do *peeling*, ou seja, os *peelings* superficiais, tendo como alvo os corneossomas, causam descamação, aumentam a atividade epidérmica enzimática, podendo originar a epidermólise e a esfoliação; os *peelings* de média profundidade podem causar coagulação de proteínas da membrana, e destruir células da epiderme e da derme, dependendo da concentração; *peelings* profundos levam à coagulação das proteínas podendo causar epidermólise completa, reestruturação da camada basal e restauração da arquitetura cutânea (Ganceviciene *et alli*, 2012). A profundidade do *peeling* correlaciona-se, ainda, com alguns efeitos secundários, ou seja, hiperpigmentação, sardas, risco de complicações pós-operatórias, especialmente infeções herpéticas (Ganceviciene *et alli*, 2012).

### **3. Técnicas de preenchimento**

O objetivo do rejuvenescimento da pele é aumentar a capacidade biossintética dos fibroblastos, induzindo a reconstrução de um ambiente fisiológico adequado caracterizado por: aumento da atividade celular, nível adequado de hidratação, síntese de colagénio, elastina e ácido hialurónico (HA). O efeito desejado pode ser conseguido através de micro-injeções na derme superficial de produtos que contêm apenas um ingrediente ou *cocktails* de diferentes compostos que são ativos, biocompatíveis e totalmente absorvíveis que podem incluir: HA, vitaminas, minerais, nutrientes,

hormonas, aminoácidos, produtos homeopáticos, entre outros (Iorizzo *et alli*, 2008; Lacarrubba *et alli*, 2008).

Os produtos injetados dentro ou debaixo da pele para melhorar a suas características físicas, por aumento dos tecidos moles, são designados de enchimentos (Eppley e Dadvand, 2006; Klein, 2006). Existem enchimentos de vários tipos: autólogos (gordura, fibroblastos humanos em cultura), colagénio (derivado de bovino, humano derivado de cultura de tecido), HA (fermentação bacteriana), implantes sintéticos ou pseudo-sintético (silicone, microesferas de metacrilato de polietileno, poli-L-láctico, cálcio microesferas suspensas em hidroxilapatite polissacarídeo aquoso gel, gel de polímero de alquil-imida). Estas podem ser agrupadas em temporária, semi-permanente (com duração entre 1-2 anos), ou materiais permanente (com duração superior a 2 anos).

Os GAGs e, particularmente, o HA, são os principais componentes da matriz extracelular envolvidos na reparação do tecido cutâneo (Laurent e Fraser, 1992). Estes, têm funções no preenchimento do espaço, lubrificação, absorção de choque, e a exclusão de proteínas. Além disso, o HA tem sido considerado como um regulador de proliferação (Papakonstantinou *et alli*, 1998; Sherman *et alli*, 1994). Deste modo, a injeção de HA destina-se a promover o rejuvenescimento da pele, aumentando tanto a hidratação como a ativação de fibroblastos (Tammi *et alli*, 2002; Yoneda *et alli*, 1988).

#### **4. Botox**

A toxina botulínica, uma das substâncias mais venenosas conhecidas biologicamente, é uma neurotoxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*. *C. botulinum* elabora oito exotoxinas antígenicamente distintas (A, B, C1, C2, D, E, F e G). Todos os sorotipos interferem na transmissão neural, bloqueando a libertação de acetilcolina, o principal neurotransmissor na junção neuromuscular, causando paralisia muscular. Estes efeitos induzidos pela injeção de toxina botulínica duram, geralmente, cerca de três meses (Nigam e Nigam, 2010).

As toxinas botulínicas desempenham um papel muito importante na gestão de uma ampla variedade de condições médicas. As aplicações cosméticas incluem correção de linhas, vincos e rugas em todo o rosto, queixo, pescoço e peito para aplicações

dermatológicas, tais como hiperidrose A toxina botulínica (BTX) não tem efeito sobre a textura da pele e não pode interromper o processo de envelhecimento da pele. No entanto, as injeções regulares BTX podem retardar o processo de envelhecimento visível, ajudando na gestão de determinadas linhas faciais e rugas dinâmicas (Cheng, 2007; Dessy *et alli*, 2007; Rzany *et alli*, 2007). As injeções com toxina botulínica são geralmente bem tolerados e apresentam poucos os efeitos colaterais (Nigam e Nigam, 2010).

## **5. Laser**

Laser é a sigla para "amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação". Schawlow e Townes desenvolveram o primeiro laser em 1958. Os lasers usam a luz em várias frequências para atingir um resultado clínico específico. Eles podem ser classificados conforme a energia de luz que é produzida. Os seus mecanismos de ação incluem a termólise seletiva e a estimulação das células específicas (o tecido normal não é afetado) que são posteriormente removidas por sistemas específicos do organismo. Os lasers podem ser usados para cortar, destruir, cauterizar, e vaporizar o tecido. Como indicações dermatológicas destacam-se o rejuvenescimento da pele, a remoção de tatuagens e pêlos. No entanto, podem ocorrer efeitos indesejáveis, nomeadamente alteração da pigmentação, cicatrizes, infecção e sangramento (DiBernardo e Cacciarelli, 2005).

## **6. Radiofrequência**

Radiofrequência (RF) é uma tecnologia não-ablativa que difere dos lasers porque utiliza uma corrente elétrica, ao invés de uma fonte de luz. É frequentemente utilizada em dermatologia para tratar a flacidez da pele, ríntides, acne , cicatrizes e celulite (Lolis e Goldberg, 2012).

## VI. Conclusão

Com o aumento da longevidade da população mundial, é essencial promover uma melhoria da saúde e da qualidade de vida em indivíduos numa faixa etária cada vez mais avançada e que ainda apresentam uma intensa atividade profissional e social. Deste ponto de vista, a melhoria da aparência da pele envelhecida pode ser um indicador de saúde importante que deve ter em conta a possibilidade de utilização, cada vez mais segura e eficaz, de produtos e procedimentos que diminuam os aspetos inestéticos dos indivíduos.

Ao longo do tempo ocorrem, na pele, diversas alterações morfológicas e funcionais que podem ser causadas por vários fatores, não só extrínsecos, principalmente a exposição a radiações UV e a gases poluentes, mas também a fatores intrínsecos, tais como radicais livres. A pele envelhecida caracteriza-se pela perda de elasticidade, o aparecimento de máculas, rugas, perda de colagénio e, mais superficialmente, pelo ressequimento e aspereza.

Uma forma de prevenção do fotoenvelhecimento e da carcinogénese consiste no uso de protetor solar desde a infância, que deve ser usado em todas as áreas expostas à radiação solar durante todo o ano, criando um hábito que deverá ser mantido durante toda a vida. Assim, este procedimento aliado à prática de um estilo de vida saudável, isto é, com redução do *stress*, prática regular de exercício físico e uma alimentação equilibrada respeitando a roda dos alimentos, ou seja, rica em vegetais e alimentos antioxidantes, contribuirão decisivamente para a prevenção do fotoenvelhecimento.

Nas situações de envelhecimento prematuro em que seja necessário instituir um tratamento, é importante a adesão do doente à terapêutica. O papel do médico e do farmacêutico é, neste domínio, muito importante para prestar a informação e esclarecimento adequados, sensibilizar o doente para a melhor adesão possível ao tratamento, alertar para possíveis interações medicamentosas, contra-indicações, reações adversas e, eventualmente, ajudar o doente na seleção do produto mais adequado.

## VII. Bibliografia

- Ahn, S. M., *et alli*, (2002). Fructose-1,6-diphosphate attenuates prostaglandin E2 production and cyclo-oxygenase-2 expression in UVB-irradiated HaCaT keratinocytes. *Br J Pharmacol*, 137, pp. 497-503.
- Akitomo, Y., *et alli* (2003). Effects of UV irradiation on the sebaceous gland and sebum secretion in hamsters. *J Dermatol Sci*, 31, pp. 151-9.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. e Gold, L. S. (1993). DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environ Health Perspect*, 101 Suppl 5, pp. 35-44.
- Ames, B. N., Gold, L. S. e Willett, W. C. (1995). The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, pp. 5258-65.
- Antoniou, C., *et alli*, (2010). Photoaging: prevention and topical treatments. *Am J Clin Dermatol*, 11, pp. 95-102.
- Babior, B. M., Lambeth, J. D. e Nauseef, W. (2002). The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys*, 397, pp. 342-4.
- Bailey, A. J. (2001). Molecular mechanisms of ageing in connective tissues. *Mech Ageing Dev*, 122, pp. 735-55.
- Balogh, T. S., *et alli* (2011). Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. *An Bras Dermatol*, 86, pp. 732-42.
- Baron, E. D., Kirkland, E. B. e Domingo, D. S. (2008). Advances in photoprotection. *Dermatol Nurs*, 20, pp. 265-72; quiz 273.
- Baumann, L. (2007). Skin ageing and its treatment. *J Pathol*, 211, pp. 241-51.
- Bech-Thomsen, N. e Wulf, H. C. (1992). Sunbathers' application of sunscreen is probably inadequate to obtain the sun protection factor assigned to the preparation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 9, pp. 242-4.
- Bernhard, D., *et alli* (2007). Cigarette smoke--an aging accelerator? *Exp Gerontol*, 42, pp. 160-5.
- Bissett, D. L., *et alli* (2004). Topical niacinamide reduces yellowing, wrinkling, red blotchiness, and hyperpigmented spots in aging facial skin. *Int J Cosmet Sci*, 26, pp. 231-8.
- Black, H. S., *et alli* (1997). Photocarcinogenesis: an overview. *J Photochem Photobiol B*, 40, pp. 29-47.

- Boyd, A. S., *et alli* (1995). The effects of chronic sunscreen use on the histologic changes of dermatoheliosis. *J Am Acad Dermatol*, 33, pp. 941-6.
- Braig, M., *et alli* (2005). Oncogene-induced senescence as an initial barrier in lymphoma development. *Nature*, 436, pp. 660-5.
- Camacho Vanegas, O., *et alli* (2001). Ullrich scleroatonic muscular dystrophy is caused by recessive mutations in collagen type VI. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, pp. 7516-21.
- Camera, E., *et alli* (2009). Astaxanthin, canthaxanthin and beta-carotene differently affect UVA-induced oxidative damage and expression of oxidative stress-responsive enzymes. *Exp Dermatol*, 18, pp. 222-31.
- Castano-Vinyals, G., *et alli* (2008). Air pollution and risk of urinary bladder cancer in a case-control study in Spain. *Occup Environ Med*, 65, pp. 56-60.
- Chapman, M. S. (2012). Vitamin a: history, current uses, and controversies. *Semin Cutan Med Surg*, 31, pp. 11-6.
- Chelikani, P., Fita, I. e Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*, 61, pp. 192-208.
- Cheng, C. M. (2007). Cosmetic use of botulinum toxin type A in the elderly. *Clin Interv Aging*, 2, pp. 81-3.
- Chiba, K., *et alli* (2003). Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 16, pp. 242-51.
- Cho, S., *et alli* (2009). Effects of infrared radiation and heat on human skin aging in vivo. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 14, pp. 15-9.
- Chung, K. Y., *et alli* (1996). An AP-1 binding sequence is essential for regulation of the human alpha2(I) collagen (COL1A2) promoter activity by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem*, 271, pp. 3272-8.
- Chuong, C. M., *et alli* (2002). What is the 'true' function of skin? *Exp Dermatol*, 11, pp. 159-87.
- Clark, J. I. (2001). Fourier and power law analysis of structural complexity in cornea and lens. *Micron*, 32, pp. 239-49.
- Clydesdale, G. J., Dandie, G. W. e Muller, H. K. (2001). Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol*, 79, pp. 547-68.
- Collado, M., *et alli* (2005). Tumour biology: senescence in premalignant tumours. *Nature*, 436, pp. 642.

- Comporti, M. (1998). Lipid peroxidation and biogenic aldehydes: from the identification of 4-hydroxynonenal to further achievements in biopathology. *Free Radic Res*, 28, pp. 623-35.
- Cosgrove, M. C., *et alli* (2007). Dietary nutrient intakes and skin-aging appearance among middle-aged American women. *Am J Clin Nutr*, 86, pp. 1225-31.
- Cotta-Pereira, G., Guerra Rodrigo, F. e Bittencourt-Sampaio, S. (1976). Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol*, 66, pp. 143-8.
- Dahlback, K., *et alli* (1990). Fibrillin immunoreactive fibers constitute a unique network in the human dermis: immunohistochemical comparison of the distributions of fibrillin, vitronectin, amyloid P component, and orcein stainable structures in normal skin and elastosis. *J Invest Dermatol*, 94, pp. 284-91.
- Danielson, K. G., *et alli* (1997). Targeted disruption of decorin leads to abnormal collagen fibril morphology and skin fragility. *J Cell Biol*, 136, pp. 729-43.
- Darvin, M., *et alli* (2008). Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin. *Eur J Pharm Biopharm*, 69, pp. 943-7.
- Davis, S., *et alli* (1997). Clothing as protection from ultraviolet radiation: which fabric is most effective? *Int J Dermatol*, 36, pp. 374-9.
- De Gruijl, F. R. e Van Der Leun, J. C. (2000). Environment and health: 3. Ozone depletion and ultraviolet radiation. *Cmaj*, 163, pp. 851-5.
- Dessy, L. A., *et alli* (2007). An objective assessment of botulinum toxin A effect on superficial skin texture. *Ann Plast Surg*, 58, pp. 469-73.
- Dibernardo, B. E. e Cacciarelli, A. (2005). Cutaneous lasers. *Clin Plast Surg*, 32, pp. 141-50.
- Diepgen, T. L. e Mahler, V. (2002). The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol*, 146 Suppl 61, pp. 1-6.
- Donaldson, K., *et alli* (2005). Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure. *Part Fibre Toxicol*, 2, pp. 10.
- Doubal, S. e Klemera, P. (2002). Visco-elastic response of human skin and aging. *J Am Aging Assoc*, 25, pp. 115-7.
- Duthie, M. S., Kimber, I. e Norval, M. (1999). The effects of ultraviolet radiation on the human immune system. *Br J Dermatol*, 140, pp. 995-1009.
- Ebihara, M., *et alli* (2003). Iontophoresis promotes percutaneous absorption of L-ascorbic acid in rat skin. *J Dermatol Sci*, 32, pp. 217-22.

- El-Domyati, M., *et alli* (2002). Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol*, 11, pp. 398-405.
- Elmets, C. A., *et alli* (2001). Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *J Am Acad Dermatol*, 44, pp. 425-32.
- Eppley, B. L. e Dadvand, B. (2006). Injectable soft-tissue fillers: clinical overview. *Plast Reconstr Surg*, 118, pp. 98e-106e.
- Epstein, J. H. (1983). Photocarcinogenesis, skin cancer, and aging. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 9, pp. 487-502.
- Evelson, P., *et alli* (1997). Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. *J Photochem Photobiol B*, 38, pp. 215-9.
- Fantel, A. G., *et alli* (1995). Studies of mitochondria in oxidative embryotoxicity. *Teratology*, 52, pp. 190-5.
- Fisher, G. J., *et alli* (2002). Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*, 138, pp. 1462-70.
- Fischer, T. C., *et alli* (2010). Chemical peels in aesthetic dermatology: an update 2009. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 24, pp. 281-92.
- Friedl, H. P., *et alli* (1989). Roles of histamine, complement and xanthine oxidase in thermal injury of skin. *Am J Pathol*, 135, pp. 203-17.
- Gaboriau, F., *et alli* (1993). Membrane damage induced in cultured human skin fibroblasts by UVA irradiation. *Photochem Photobiol*, 58, pp. 515-20.
- Gambichler, T., Laperre, J. e Hoffmann, K. (2006). The European standard for sun protective clothing: EN 13758. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 20, pp. 125-30.
- Ganceviciene, R., *et alli* (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol*, 4, pp. 308-19.
- Gilchrest, B. A. (1996). A review of skin ageing and its medical therapy. *Br J Dermatol*, 135, pp. 867-75.
- Gilchrest, B. A. (2013). Photoaging. *J Invest Dermatol*, 133, pp. E2-6.
- Gonzalez, S., Fernandez-Lorente, M. e Gilaberte-Calzada, Y. (2008). The latest on skin photoprotection. *Clin Dermatol*, 26, pp. 614-26.
- Gosline, J., *et alli* (2002). Elastic proteins: biological roles and mechanical properties. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 357, pp. 121-32.

Graham, H. K., *et alli* (2000). Identification of collagen fibril fusion during vertebrate tendon morphogenesis. The process relies on unipolar fibrils and is regulated by collagen-proteoglycan interaction. *J Mol Biol*, 295, pp. 891-902.

Granger, D. N. (1988). Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*, 255, pp. H1269-75.

Halachmi, S., Yaar, M. e Gilchrest, B. A. (2005). [Advances in skin aging/photoaging: theoretical and practical implications]. *Ann Dermatol Venereol*, 132, pp. 362-7.

Harman, D. (1972). The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc*, 20, pp. 145-7.

Hatch, K. L. e Osterwalder, U. (2006). Garments as solar ultraviolet radiation screening materials. *Dermatol Clin*, 24, pp. 85-100.

Heller, R., *et alli* (2001). L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem*, 276, pp. 40-7.

Hussein, M. R. (2005). Ultraviolet radiation and skin cancer: molecular mechanisms. *J Cutan Pathol*, 32, pp. 191-205.

Inui, M., *et alli* (2008). Mechanisms of inhibitory effects of CoQ10 on UVB-induced wrinkle formation in vitro and in vivo. *Biofactors*, 32, pp. 237-43.

Iorizzo, M., De Padova, M. P. e Tosti, A. (2008). Biorejuvenation: theory and practice. *Clin Dermatol*, 26, pp. 177-81.

Jurkiewicz, B. A. e Buettnerf, G. R. (1996). EPR Detection of Free Radicals in UV-Irradiated Skin: Mouse Versus Human. *Photochemistry and Photobiology*, 64, pp. 918-922.

Kafi, R., *et alli* (2007). Improvement of naturally aged skin with vitamin A (retinol). *Arch Dermatol*, 143, pp. 606-12.

Kameyama, K., *et alli* (1996). Inhibitory effect of magnesium L-ascorbyl-2-phosphate (VC-PMG) on melanogenesis in vitro and in vivo. *J Am Acad Dermatol*, 34, pp. 29-33.

Kang, S., Fisher, G. J. e Voorhees, J. J. (2001). Photoaging: pathogenesis, prevention, and treatment. *Clin Geriatr Med*, 17, pp. 643-59, v-vi.

Kerscher, M. e Buntrock, H. (2011). [Anti-aging creams. What really helps?]. *Hautarzt*, 62, pp. 607-13.

Khrapko, K. e Vijg, J. (2009). Mitochondrial DNA mutations and aging: devils in the details? *Trends Genet*, 25, pp. 91-8.

Klein, A. W. (2006). Techniques for soft tissue augmentation: an 'a to z'. *Am J Clin Dermatol*, 7, pp. 107-20.

Kligman, A. M. (1989). The treatment of photoaged human skin by topical tretinoin. *Drugs*, 38, pp. 1-8.

Kligman, A. M. (1996). Topical retinoic acid (tretinoin) for photoaging: conceptions and misperceptions. *Cutis*, 57, pp. 142-4.

Kohen, R. (1999). Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress--new approaches for their evaluation. *Biomed Pharmacother*, 53, pp. 181-92.

Krutmann, J., Morita, A. e Chung, J. H. (2012). Sun exposure: what molecular photodermatology tells us about its good and bad sides. *J Invest Dermatol*, 132, pp. 976-84.

Lacarrubba, F., *et alli* (2008). Mesotherapy for skin rejuvenation: assessment of the subepidermal low-echogenic band by ultrasound evaluation with cross-sectional B-mode scanning. *Dermatol Ther*, 21 Suppl 3, pp. S1-5.

Laurent, T. C. e Fraser, J. R. (1992). Hyaluronan. *Faseb j*, 6, pp. 2397-404.

Lautenschlager, S., Wulf, H. C. e Pittelkow, M. R. (2007). Photoprotection. *Lancet*, 370, pp. 528-37.

Lavker, R. M., *et alli* (1995). Cumulative effects from repeated exposures to suberythemal doses of UVB and UVA in human skin. *J Am Acad Dermatol*, 32, pp. 53-62.

Leow, Y. H. e Tham, S. N. (1995). UV-protective sunglasses for UVA irradiation protection. *Int J Dermatol*, 34, pp. 808-10.

Li, N., *et alli* (2003). Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect*, 111, pp. 455-60.

Lindgren, G., Diffey, B. L. e Larko, O. (1998). Basal cell carcinoma of the eyelids and solar ultraviolet radiation exposure. *Br J Ophthalmol*, 82, pp. 1412-5.

Lolis, M. S. e Goldberg, D. J. (2012). Radiofrequency in cosmetic dermatology: a review. *Dermatol Surg*, 38, pp. 1765-76.

Makrantonaki, E. e Zouboulis, C. C. (2007). The skin as a mirror of the aging process in the human organism--state of the art and results of the aging research in the German National Genome Research Network 2 (NGFN-2). *Exp Gerontol*, 42, pp. 879-86.

Makrantonaki, E. e Zouboulis, C. C. (2008). Skin alterations and diseases in advanced age. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 5, pp. e153-e162.

Masaki, H., Atsumi, T. e Sakurai, H. (1995). Detection of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in murine skin fibroblasts under UVB irradiation. *Biochem Biophys Res Commun*, 206, pp. 474-9.

- Masaki, H., *et alli* (2002). alpha-tocopherol increases the intracellular glutathione level in HaCaT keratinocytes. *Free Radic Res*, 36, pp. 705-9.
- Maslov, A. Y. e Vijg, J. (2009). Genome instability, cancer and aging. *Biochim Biophys Acta*, 1790, pp. 963-9.
- Maverakis, E., *et alli* (2010). Light, including ultraviolet. *J Autoimmun*, 34, pp. J247-57
- Mccord, J. M. e Fridovich, I. (1988). Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Radic Biol Med*, 5, pp. 363-9.
- Mecocci, P., *et alli* (1996). Altered mitochondrial membrane fluidity in AD brain. *Neurosci Lett*, 207, pp. 129-32.
- Melnikova, V. O. e Ananthaswamy, H. N. (2005). Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutat Res*, 571, pp. 91-106.
- Menzel, D. B. (1994). The toxicity of air pollution in experimental animals and humans: the role of oxidative stress. *Toxicol Lett*, 72, pp. 269-77.
- Miyai, E., *et alli* (1996). Ascorbic acid 2-O-alpha-glucoside, a stable form of ascorbic acid, rescues human keratinocyte cell line, SCC, from cytotoxicity of ultraviolet light B. *Biol Pharm Bull*, 19, pp. 984-7.
- Monheit, G. D. e Chastain, M. A. (2001). Chemical peels. *Facial Plast Surg Clin North Am*, 9, pp. 239-55, viii.
- Morita, A. (2007). Tobacco smoke causes premature skin aging. *J Dermatol Sci*, 48, pp. 169-75.
- Muller, F. L., *et alli* (2007). Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol Med*, 43, pp. 477-503.
- Mukherjee, S., *et alli* (2006). Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging*, 1, pp. 327-48.
- Mukherjee, P. K., *et alli* (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19, pp. 64-73.
- Murray, J. C., *et alli* (2008). A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. *J Am Acad Dermatol*, 59, pp. 418-25.
- Mustacich, D. e Powis, G. (2000). Thioredoxin reductase. *Biochem J*, 346 Pt 1, pp. 1-8.
- Muta-Takada, K., *et alli* (2009). Coenzyme Q10 protects against oxidative stress-induced cell death and enhances the synthesis of basement membrane components in dermal and epidermal cells. *Biofactors*, 35, pp. 435-41

Myllyla, R., *et alli* (1984). Ascorbate is consumed stoichiometrically in the uncoupled reactions catalyzed by prolyl 4-hydroxylase and lysyl hydroxylase. *J Biol Chem*, 259, pp. 5403-5.

Nathan, C. F. e Hibbs, J. B., Jr. (1991). Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol*, 3, pp. 65-70.

Naylor, E. C., Watson, R. E. B. e Sherratt, M. J. (2011). Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*, 69, pp. 249-256.

Nigam, P. K. e Nigam, A. (2010). Botulinum toxin. *Indian J Dermatol*, 55, pp. 8-14.

Notbohm, H., *et alli* (1999). Recombinant human type II collagens with low and high levels of hydroxylysine and its glycosylated forms show marked differences in fibrillogenesis in vitro. *J Biol Chem*, 274, pp. 8988-92.

Ohuchida, M., *et alli* (1991). Effect of linoleic acid hydroperoxide on production of matrix metalloproteinases by human skin fibroblasts. *Biochem Int*, 25, pp. 447-52.

Palm, M. D. e O'donoghue, M. N. (2007). Update on photoprotection. *Dermatol Ther*, 20, pp. 360-76.

Papakonstantinou, E., *et alli* (1998). A 340 kDa hyaluronic acid secreted by human vascular smooth muscle cells regulates their proliferation and migration. *Glycobiology*, 8, pp. 821-30.

Pelle, E., *et alli* (2005). Keratinocytes act as a source of reactive oxygen species by transferring hydrogen peroxide to melanocytes. *J Invest Dermatol*, 124, pp. 793-7.

Podda, M., *et alli* (1998). UV-irradiation depletes antioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin. *Free Radic Biol Med*, 24, pp. 55-65.

Rabe, J. H., *et alli* (2006). Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol*, 55, pp. 1-19.

Rajawat, Y. S., Hilioti, Z. e Bossis, I. (2009). Aging: central role for autophagy and the lysosomal degradative system. *Ageing Res Rev*, 8, pp. 199-213.

Ramirez, R. e Schneider, J. (2003). Practical guide to sun protection. *Surg Clin North Am*, 83, pp. 97-107, vi.

Ramos-E-Silva, M., *et alli* (2001). Hydroxy acids and retinoids in cosmetics. *Clin Dermatol*, 19, pp. 460-6.

Reichrath, J., *et alli* (2007). Vitamins as hormones. *Horm Metab Res*, 39, pp. 71-84.

Rheinwald, J. G., *et alli* (2002). A two-stage, p16(INK4A)- and p53-dependent keratinocyte senescence mechanism that limits replicative potential independent of telomere status. *Mol Cell Biol*, 22, pp. 5157-72.

- Rhodes, L. E., *et alli* (2009). The sunburn response in human skin is characterized by sequential eicosanoid profiles that may mediate its early and late phases. *Faseb j*, 23, pp. 3947-56.
- Robinson, D. M. e Aasi, S. Z. (2011). Cosmetic concerns and management strategies to combat aging. *Maturitas*, 70, pp. 256-60.
- Rock, M. J., *et alli* (2004). Molecular basis of elastic fiber formation. Critical interactions and a tropoelastin-fibrillin-1 cross-link. *J Biol Chem*, 279, pp. 23748-58.
- Romero-Graillet, C., *et alli* (1997). Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest*, 99, pp. 635-42.
- Ryu, A., *et alli* (2009). Squalene as a target molecule in skin hyperpigmentation caused by singlet oxygen. *Biol Pharm Bull*, 32, pp. 1504-9.
- Rzany, B., *et alli* (2007). Repeated botulinum toxin A injections for the treatment of lines in the upper face: a retrospective study of 4,103 treatments in 945 patients. *Dermatol Surg*, 33, pp. S18-25.
- Sato, M. e Bremner, I. (1993). Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radic Biol Med*, 14, pp. 325-37.
- Sasaki, M., *et alli* (2000). Up-regulation of tyrosinase gene by nitric oxide in human melanocytes. *Pigment Cell Res*, 13, pp. 248-52.
- Scacheri, P. C., *et alli* (2002). Novel mutations in collagen VI genes: expansion of the Bethlem myopathy phenotype. *Neurology*, 58, pp. 593-602.
- Schallreuter, K. U., *et alli* (1999). In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 4, pp. 91-6.
- Scharffetter-Kochanek, K., *et alli* (1993). Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts. *FEBS Lett*, 331, pp. 304-6.
- Scherz-Shouval, R. e Elazar, Z. (2007). ROS, mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends Cell Biol*, 17, pp. 422-7.
- Seeley, R., *et alli* (2003). Anatomia e Fisiologia. Loures, Lusociência.
- Seite, S. e Fournanier, A. M. (2008). The benefit of daily photoprotection. *J Am Acad Dermatol*, 58, pp. S160-6.
- Semes, L. (1991). UV-A absorbing characteristics of commercial sunglasses intended for recreational and general use. *J Am Optom Assoc*, 62, pp. 754-8.

- Shacter, E. (2000). Protein oxidative damage. *Methods Enzymol*, 319, pp. 428-36.
- Sherman, L., *et alli* (1994). Hyaluronate receptors: key players in growth, differentiation, migration and tumor progression. *Curr Opin Cell Biol*, 6, pp. 726-33.
- Shin, M. H., *et alli* (2005). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation by catalase reduction changes MAP kinase signaling in aged human skin in vivo. *J Invest Dermatol*, 125, pp. 221-9.
- Sravani, P. V., *et alli* (2009). Determination of oxidative stress in vitiligo by measuring superoxide dismutase and catalase levels in vitiliginous and non-vitiliginous skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 75, pp. 268-71.
- Stadtman, E. R. (2006). Protein oxidation and aging. *Free Radic Res*, 40, pp. 1250-8.
- Stenberg, C. e Larko, O. (1985). Sunscreen application and its importance for the sun protection factor. *Arch Dermatol*, 121, pp. 1400-2.
- Svobodova, A., Walterova, D. e Vostalova, J. (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 150, pp. 25-38.
- Tammi, M. I., Day, A. J. e Turley, E. A. (2002). Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *J Biol Chem*, 277, pp. 4581-4.
- Tanaka, H., *et alli* (1993). The effect of reactive oxygen species on the biosynthesis of collagen and glycosaminoglycans in cultured human dermal fibroblasts. *Arch Dermatol Res*, 285, pp. 352-5.
- Thiele, J. J., *et alli* (1997). Ozone-exposure depletes vitamin E and induces lipid peroxidation in murine stratum corneum. *J Invest Dermatol*, 108, pp. 753-7.
- Tsourelis-Nikita, E., Watson, R. E. e Griffiths, C. E. (2006). Photoageing: the darker side of the sun. *Photochem Photobiol Sci*, 5, pp. 160-4.
- Valacchi, G., *et alli* (2003). Induction of stress proteins and MMP-9 by 0.8 ppm of ozone in murine skin. *Biochem Biophys Res Commun*, 305, pp. 741-6.
- Valencia, A. e Kochevar, I. E. (2008). Nox1-based NADPH oxidase is the major source of UVA-induced reactive oxygen species in human keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 128, pp. 214-22.
- Velarde, M. C., *et alli* (2012). Mitochondrial oxidative stress caused by Sod2 deficiency promotes cellular senescence and aging phenotypes in the skin. *Aging (Albany NY)*, 4, pp. 3-12.
- Vierkotter, A. e Krutmann, J. (2012). Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. *Dermatoendocrinol*, 4, pp. 227-31.

Waller, J. M. e Maibach, H. I. (2006). Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. *Skin Res Technol*, 12, pp. 145-54.

Wlaschek, M., *et alli* (1994). UVA-induced autocrine stimulation of fibroblast-derived collagenase/MMP-1 by interrelated loops of interleukin-1 and interleukin-6. *Photochem Photobiol*, 59, pp. 550-6.

Woods, J. R., Jr., Plessinger, M. A. e Fantel, A. (1998). An introduction to reactive oxygen species and their possible roles in substance abuse. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 25, pp. 219-36.

Wu, S., *et alli* (2008). IL-8 production and AP-1 transactivation induced by UVA in human keratinocytes: roles of D-alpha-tocopherol. *Mol Immunol*, 45, pp. 2288-96.

Yaar, M. e Gilchrist, B. A. (2001). Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clin Geriatr Med*, 17, pp. 617-30, v.

Yaar, M. e Gilchrist, B. A. (2007). Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol*, 157, pp. 874-87.

Yoneda, M., *et alli* (1988). Hyaluronic acid-dependent change in the extracellular matrix of mouse dermal fibroblasts that is conducive to cell proliferation. *J Cell Sci*, 90 ( Pt 2), pp. 275-86.

Zhai, H., *et alli* (2005). Evaluation of the antioxidant capacity and preventive effects of a topical emulsion and its vehicle control on the skin response to UV exposure. *Skin Pharmacol Physiol*, 18, pp. 288-93.

Zouboulis, C. C. (2000). Human skin: an independent peripheral endocrine organ. *Horm Res*, 54, pp. 230-42.

Zouboulis, C. C. (2004). The human skin as a hormone target and an endocrine gland. *Hormones (Athens)*, 3, pp. 9-26.

Zouboulis, C. C., *et alli* (2007). Sexual hormones in human skin. *Horm Metab Res*, 39, pp. 85-95.

Zouboulis, C. C. e Makrantonaki, E. (2011). Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clin Dermatol*, 29, pp. 3-14.

Zussman, J., Ahdout, J. e Kim, J. (2010). Vitamins and photoaging: do scientific data support their use? *J Am Acad Dermatol*, 63, pp. 507-25.