

Metodologia alternativa para o estudo dos efeitos da radiação infravermelha-A sobre a pele humana

Alternative methodology for the study of infrared-A radiation effects on human skin

Artigo Original

Autores:

Samara Eberlin¹
Gustavo Facchini²
Samir Eberlin³
Ana Lúcia Tabarini Alves Pinheiro⁴
Michelle Sabrina da Silva⁵
Adriano da Silva Pinheiro⁶
Adilson Costa⁷

¹ Gerente técnica do Laboratório de Segurança e Eficácia Pré-clínica do Grupo Kosmoscience – Valinhos (SP), Brasil.

² Pesquisador do Laboratório de Segurança e Eficácia Pré-clínica do Grupo Kosmoscience – Valinhos (SP), Brasil.

³ Médico cirurgião plástico do Instituto Santé d'Or – Sumaré (SP), Brasil.

⁴ Diretora médica do Grupo Kosmoscience – Campinas (SP), Brasil.

⁵ Pesquisadora do Laboratório de Segurança e Eficácia Pré-clínica do Grupo Kosmoscience – Valinhos (SP), Brasil.

⁶ Diretor executivo do Grupo Kosmoscience – Campinas (SP), Brasil.

⁷ Ex-chefe do Serviço de Dermatologia da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas) e ex-diretor clínico do Kolderma Instituto de Pesquisa Clínica Eireli – Campinas (SP), Brasil.

Correspondência para:

Samara Eberlin
Rua Barão do Rio Branco, 390, Vila Independência
13276-250 – Valinhos – SP
E-mail: samara@kosmoscience.com

Data de recebimento: 23/06/2015
Data de aprovação: 20/03/2016

Trabalho realizado na KOLderma Instituto de Pesquisa Clínica Eireli, Grupo Kosmoscience – Valinhos (SP), Brasil

Suporte financeiro: Nenhum.

Conflito de interesse: Nenhum.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20168202>

RESUMO

Introdução: A radiação infravermelha A (IV-A) causa alterações estruturais na pele, similares àquelas provocadas pela exposição prolongada à radiação ultravioleta. A avaliação de eficácia e segurança para produtos cosméticos concentra-se em ensaios in vitro e clínicos. Uma alternativa promissora é a utilização de fragmentos de pele humana provenientes de cirurgias plásticas eletivas, para avaliar os reais benefícios os reais benefícios clínicos de um produto aplicado topicamente.

Objetivo: O objetivo desta investigação foi correlacionar os efeitos da radiação IV-A, em biópsias e em fragmentos de pele ex vivo e cultura de fibroblastos humanos, pela quantificação dos mediadores MMP-1, TIMP-1 e GADD45a.

Métodos: Coleta de biópsias de 15 voluntárias após aplicações de IV-A durante cinco dias consecutivos. Exposição à radiação IV-A de fragmentos de pele humana provenientes de cirurgia plástica eletiva e cultura de fibroblastos humanos. Mensuração dos mediadores MMP-1, TIMP-1 e GADD45a para posterior comparação dos resultados.

Resultados: Nos três modelos utilizados a radiação IV-A induziu aumento de MMP-1, inibiu a síntese de GADD45a e não alterou os valores de TIMP-1.

Conclusão: Devido à correlação positiva dos modelos estudados, pode-se sugerir o uso de pele ex vivo como ferramenta plausível e sustentável para suprir diferenças entre conhecimentos gerados a partir de experimentos in vitro e clínico.

Palavras-chave: fotoenvelhecimento da pele; metaloproteinase 1 da matriz; radiação solar; técnicas in vitro

ABSTRACT

Introduction: Infrared radiation (IR-A) causes structural changes in the skin, similar to those caused by prolonged exposure to ultraviolet radiation. Evaluation of efficacy and safety of cosmetic products concentrates in in vitro tests and clinical trials. A promising alternative is the use of fragments of human skin from elective cosmetic surgery, to evaluate the actual clinical benefits of a product applied topically.

Objective: The objective of this study was to correlate IR-A radiation effects in biopsies and in ex vivo skin fragments and in human fibroblasts culture by quantifying MMP-1, TIMP-1 and GADD45a mediators.

Methods: Collection of biopsies from 15 volunteers after IR-A applications for 5 consecutive days. Exposure to IR-A radiation of human skin fragments from elective cosmetic surgery, and human fibroblasts culture. Measurement of MMP-1, TIMP-1 and GADD45a mediators for further comparison of results.

Results: In the three models used, the IR-A radiation induced an increase in MMP-1, inhibited the synthesis of GADD45a, and did not changed TIMP-1 values.

Conclusion: Due to the positive correlation of the models studied, it may be suggested the use of ex vivo skin as plausible and sustainable tool to overcome differences between knowledge generated from in vitro and clinical experiments.

Keywords: skinaging; matrix metalloproteinase 1; solar radiation; in vitro techniques

INTRODUÇÃO

O espectro eletromagnético emitido pela radiação solar é composto por ampla variedade de comprimentos de onda. Só algumas frações desses comprimentos, entretanto, são capazes de atingir a superfície da Terra, incluindo a radiação ultravioleta (UV 280-400nm), luz visível (LV 400-760nm) e infravermelha (IV 760nm-1mm).¹

Por muitos anos, o fotoenvelhecimento e o dano cutâneo foram atribuídos quase exclusivamente à radiação UV, que representa apenas 6,8% da radiação solar, em comparação com as radiações infravermelha e visível, que representam 54,3% e 38,9% da energia solar incidente, respectivamente.¹ Hoje, porém, sabe-se que a radiação IV também induz alterações histológicas similares àquelas induzidas pela exposição crônica à UV.²

A radiação IV (RIV) é classificada em IV-A (760-1400nm), IV-B (1400-3000nm) e IV-C (3000nm-1mm) de acordo com o comprimento de onda e sua penetração nas camadas da pele.¹⁻³ A RIV pode causar dois tipos de efeitos: o térmico, que pode ser benéfico ou danoso dependendo da dose, e o dano oxidativo, que fica mais restrito à faixa próxima do IV-A (760 a 1.500nm). A IV-A atinge mais profundamente a pele, sendo que 35% da radiação se concentra na epiderme, 48% na derme e 17% no tecido subcutâneo.^{2,4} Apesar de não estar totalmente esclarecido, o mecanismo pelo qual a radiação IV-A induz seus efeitos nocivos envolve distúrbios no transporte de elétrons mitocondriais, levando à diminuição na produção de energia e ao aumento na formação de espécies reativas de oxigênio.⁵⁻⁷ Com a perda da homeostasia mitocondrial, há estresse oxidativo e alteração na expressão gênica e no metabolismo dérmico traduzido pelo aumento da expressão de metaloproteinase 1 (MMP-1), diminuição da síntese de colágeno, desenvolvimento da elastose solar e hiperpigmentação cutânea.⁸⁻¹¹

Além disso, danos no DNA, indução de citotoxicidade e geração de estresse oxidativo, com diminuição na atividade antioxidante, têm sido relatados após exposição aguda à radiação IV-A.^{2,9,12-15} Exposições excessivas e repetidas à IV-A também demonstrou causar danos crônicos como o eritema *ab igne* e carcinoma de células escamosas,^{5,16} provavelmente em consequência da redução no processo de reparação do DNA.¹⁷⁻¹⁸

Com o advento da política dos 3R (*Replace, Refine and Reduce*) que sustenta a utilização de testes alternativos para substituir, refinar e reduzir o uso de animais em pesquisa, a avaliação da segurança e eficácia cosmética ficou restrita aos testes *in vitro* e clínicos. Os ensaios *in vitro* predizem possíveis efeitos tóxicos e determinam os prováveis mecanismos de ação biológica responsáveis pelo benefício clínico do cosmético, complementando os resultados *in vivo*, embora a inferência direta entre os resultados obtidos requeira cautela, pois nem sempre os mecanismos observados nas culturas celulares ou em modelos de pele equivalente podem ser extrapolados para a condição real de uso. Da mesma forma, os resultados clínicos, apesar de propiciarem inegável contribuição para a avaliação da segurança e eficácia cosmética, não fornecem dados relacionados aos mecanismos de ação, como aqueles obtidos pelas técnicas *in vitro*.

A avaliação dos mecanismos biológicos de ação utilizan-

do como sistema-teste biópsias cutâneas obtidas de voluntários humanos¹⁹⁻²¹ saudáveis constitui um modelo para compreensão dos danos reais que um agente agressor pode deflagrar, assim como dos benefícios clínicos genuínos de um tratamento cosmético ou dermatológico. Contudo, esse procedimento, embora frequentemente relatado na literatura, pode ser considerado invasivo como ferramenta de investigação cotidiana.

Dessa forma, uma alternativa plausível e sustentável para suprir essa lacuna entre o *in vitro* e o clínico é a utilização de fragmentos de pele provenientes de cirurgias plásticas eletivas (estudo *ex vivo*), que se caracteriza como modelo mais adequado para aproximação do real efeito responsável pelos benefícios clínicos de um produto aplicado topicamente.

Assim, o objetivo deste trabalho foi correlacionar os efeitos da radiação IV-A, tanto em biópsias quanto em fragmentos de pele *ex vivo* e cultura de fibroblastos humanos, por meio da quantificação dos mediadores MMP-1 (metaloproteinases de matriz), TIMP-1 (inibidor tecidual de metaloproteinase 1) e GADD45a (proteína de interrupção no crescimento e dano ao DNA).

MÉTODOS

Fibroblastos humanos HFF-1 (BCRJ, Rio de Janeiro, Brasil) foram semeados em garrafas de 75cm² (Nunc, Denmark), cultivados e expandidos em incubadora a 37°C em presença de 5% de CO₂, utilizando meio de cultura específico. Atingindo confluência, as células foram semeadas em placas de 24 poços (Nunc).

Os fragmentos de pele utilizados no estudo foram provenientes de um sujeito sadio, do sexo feminino, fototipo III,²² de 54 anos, submetido à cirurgia plástica eletiva na região abdominal (abdominoplastia). Após a realização do procedimento cirúrgico os fragmentos de pele foram fracionados em pedaços de aproximadamente 1,5cm², pesados, e mantidos em placas de 24 poços.

As culturas de HFF-1 e os fragmentos de pele foram submetidos a uma dose de 360J/cm² de radiação IV-A utilizando os dispositivos Hydrosun 750 e HBM1 (Hydrosun Medizintechnik GmbH, Müllheim, Germany). Após a radiação, os sistemas-teste foram incubados em meio de cultura fresco e mantidos por 24 horas para a coleta do sobrenadante, lisado celular e homogeneizado tecidual.

O ensaio clínico para avaliação de eficácia caracterizou-se como aberto, monocêntrico e prospectivo, envolvendo 15 voluntárias com idade entre 35 e 45 anos, fototipos II e III. Foram demarcadas duas áreas na região paravertebral de todas as participantes incluídas no estudo, sendo uma controle, sem aplicação de radiação IV-A, e a outra exposta à radiação IV-A. A aplicação da radiação IV-A nas participantes do estudo foi realizada com o auxílio do dispositivo Hydrosun 750T IRA. A dose de 360J/cm² foi aplicada diariamente durante cinco dias consecutivos. Essa dose de radiação representa relevância fisiológica considerando que a pele humana é exposta a quantidades significativas de radiação solar do tipo IV-A com a dose média de 108J/cm²/h (verão, Campinas, Brasil).

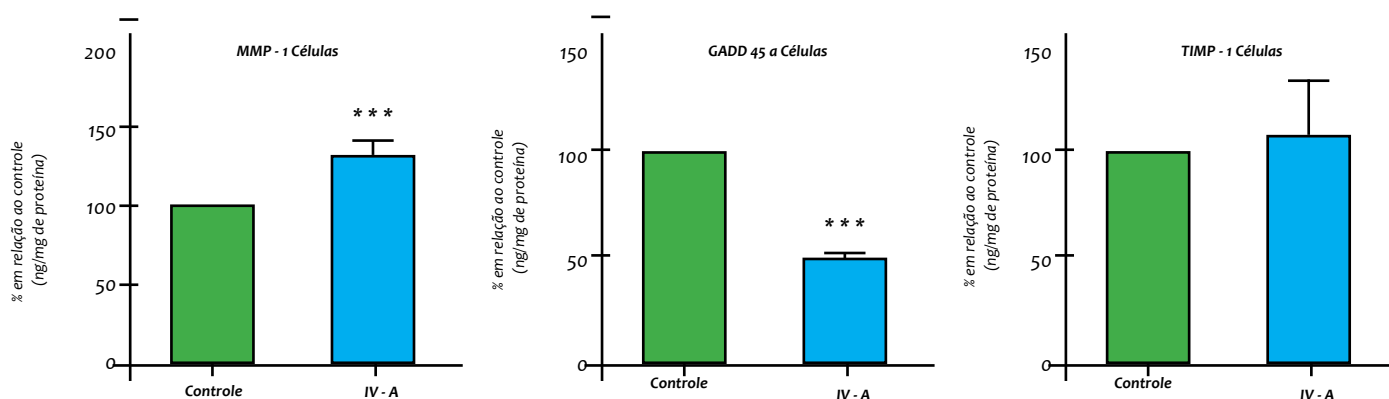
O estudo envolvendo a participação de voluntários humanos e a utilização de fragmentos de pele humana provenientes de cirurgias eletivas foi conduzido após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade São Francisco – SP, Brasil.

As concentrações de MMP-1, TIMP-1 e GADD45a foram mensuradas por meio de ensaio imunoenzimático, utilizando *kits* adquiridos comercialmente (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA; Uscn Life Science Inc., Houston, TX, USA). A leitura da absorbância foi realizada em monocromador Multiskan GO (Termo Fisher Scientific Ou, Vantaa, Finland). Os níveis dos mediadores foram calculados a partir dos valores de referência obtidos pela curva-padrão construída com concentrações conhecidas das proteínas recombinantes.

Na avaliação estatística utilizou-se o *t-test* pareado com intervalo de confiança de 95% (GraphPad Prism v6).

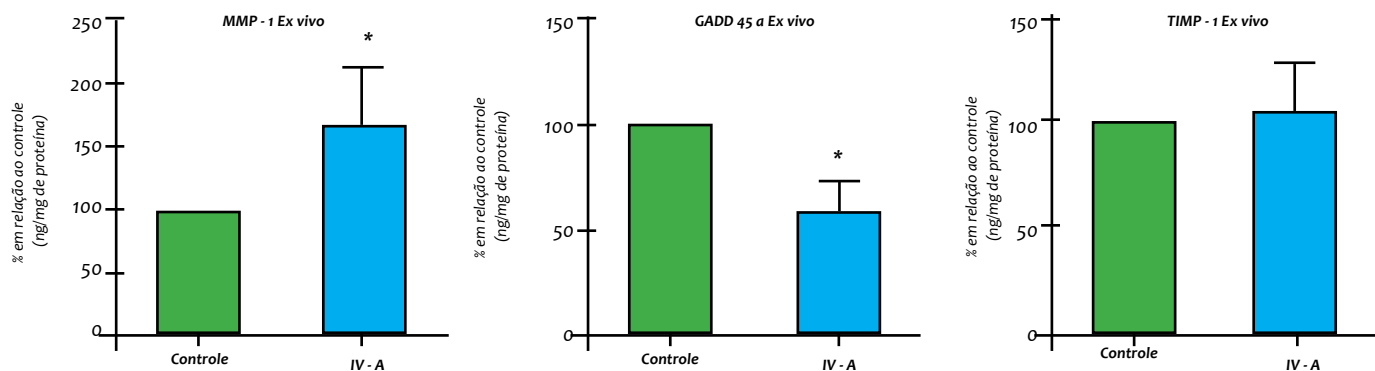
RESULTADOS

O gráfico 1 representa os efeitos da radiação IV-A sobre a produção de MMP-1, TIMP-1 e GADD45a em cultura de fibroblastos humanos. Conforme podemos observar, a radiação IVA produziu aumento significativo (31,2%) na produção de MMP-1 em comparação ao controle basal não irradiado. Em relação à GADD45a, a radiação IV-A provocou redução de 50,5%, mas não alterou os valores de TIMP-1.



Os valores expressos representam a média \pm erro-padrão da média da % em relação ao controle; *** $P < 0,001$; t-Test

GRÁFICO 1: Efeitos da radiação infravermelha A (IV-A) sobre a produção de MMP-1, GADD45a e TIMP-1 em cultura de fibroblastos humanos.



Os valores expressos representam a média \pm erro-padrão da média da % em relação ao controle; * $P < 0,05$; t-Test

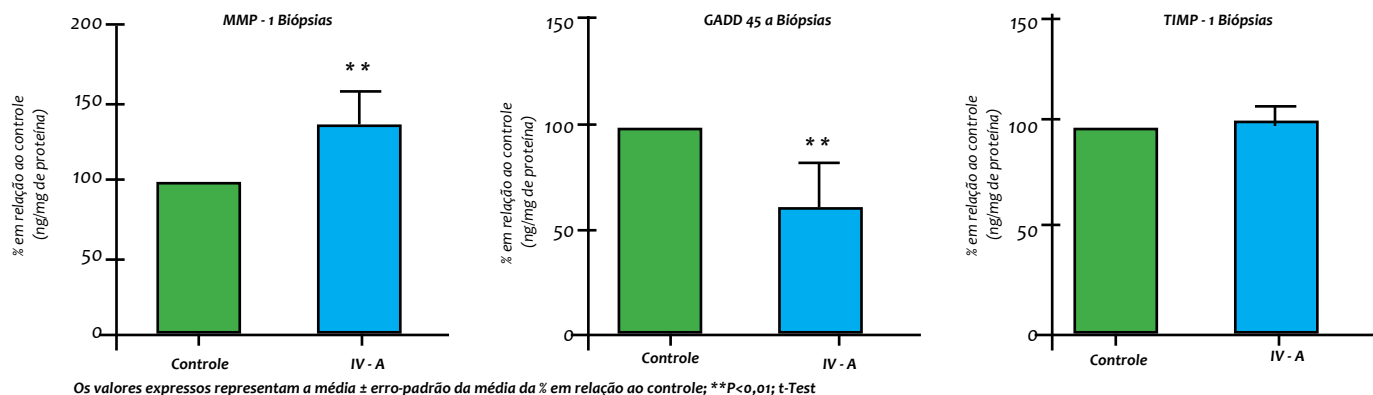
GRÁFICO 2: Efeitos da radiação infravermelha A (IV-A) sobre a produção de MMP-1, GADD45a e TIMP-1 em cultura de pele humana obtida de cirurgia plástica eletiva

No gráfico 2 podemos observar os resultados obtidos após exposição de fragmentos de pele humana à radiação IV-A, promoveu aumento estatisticamente significativo (65,5%) na produção de MMP-1 e redução também expressiva na síntese de GADD45a (41,6%). Os níveis de TIMP-1 não sofreram alterações em comparação ao controle não irradiado.

Os resultados obtidos no homogeneizado tecidual das biópsias obtidas após exposição das voluntárias à radiação IV-A estão no gráfico 3. A radiação foi capaz de promover aumento significativo (33,9%) na síntese de MMP-1 e redução de 37,9% na proteína GADD45a; não alterou, entretanto, os níveis de TIMP-1.

DISCUSSÃO

Ocorrência bastante comum após a exposição à radiação IV-A é a diminuição na síntese das principais proteínas dérmicas, colágeno e elastina, essenciais para a sustentação do tecido.^{9,23} Essa alteração ocorre em consequência do estresse oxidativo induzido por espécies reativas de oxigênio geradas após a exposição à radiação e leva ao aumento de enzimas proteolíticas, como a metaloproteinase de matriz tipo 1 (MMP-1).^{12,24} Essa proteinase, por sua vez, desencadeia um colapso na matriz extracelular e consequentemente o aparecimento de sinais prematuros do envelhecimento cutâneo.^{9,23} A atividade de MMPs pode



Os valores expressos representam a média \pm erro-padrão da média da % em relação ao controle; ** $P < 0,01$; t-Test

GRÁFICO 3: Efeitos da radiação infravermelha A (IV-A) sobre a produção de MMP-1, GADD45a e TIMP-1 em biópsias cutâneas obtidas de voluntárias

ser controlada pelos inibidores teciduais de metaloproteinasas (TIMPs), os quais são sintetizados por fibroblastos residentes na derme e atuam localmente, com a função específica de bloquear a atividade das MMPs, prevenindo dessa forma a degradação da matriz extracelular.²⁵

Outra vertente da resposta oxidativa induzida pela radiação IV-A é a geração de danos ao DNA celular. A capacidade de reparação imediata desses danos é um importante mecanismo celular que protege as células e mantém a estabilidade genômica, prevenindo a oncogênese precoce.²⁶⁻²⁷ As células animais possuem um mecanismo de defesa elaborado para manter a integridade genômica e prevenir a fixação de danos permanentes resultantes do estresse genotóxico.²⁵ Desses mecanismos, podemos citar a interrupção da progressão do ciclo celular ou ativação direta de apoptose, dependendo da extensão do dano e tipo celular.²⁶⁻²⁹ Nesse contexto, a proteína GADD45a desempenha papel crucial como sensor do estresse celular mediante a interação com outras proteínas, promovendo controle da regulação do ciclo celular, reparo do DNA, transformações epigenéticas, apoptose, sobrevivência e senescência.²⁶⁻²⁹

Neste estudo avaliamos marcadores envolvidos no envelhecimento cutâneo utilizando três modelos humanos de sistema-teste – cultura de fibroblastos, fragmentos de pele *ex vivo* e biópsias cutâneas, após a exposição à radiação infravermelha A (IV-A).

O propósito desta análise comparativa foi validar o uso de pele humana obtida de cirurgia plástica eletiva como ferramenta alternativa para pesquisa de eficácia de ingredientes e produtos cosméticos, uma vez que os ensaios biológicos em modelos animais com essa categoria de produtos encontram-se praticamente abolidos e hoje estão centrados na utilização de testes *in vitro* e clínicos.

Apesar da inovação das técnicas de cultivo celular e do desenvolvimento de modelos tridimensionais de pele equivalente cada vez mais complexos ainda existe uma lacuna na extrapolação dos resultados para os benefícios clínicos que um cosmético é capaz de promover. Além disso, considerando que o tecido cutâneo interage estrutural e funcionalmente com todo o organismo e desempenha papel vital na manutenção e regulação dos sistemas imunológico, endócrino e nervoso,³⁰ os efeitos bi-

ológicos obtidos em estudos *in vitro* podem não traduzir com exatidão as observações, resultados e conclusões passíveis de ocorrer clinicamente.

A avaliação *in vivo* (clínica) utilizando biópsias cutâneas de voluntários submetidos a tratamentos cosméticos¹⁹⁻²¹ constitui metodologia que proporciona investigações referentes à farmacodinâmica de moléculas ou produtos, pois, ao contrário dos outros modelos, não exclui a variabilidade hormonal, nutricional ou mesmo imunológica do indivíduo. Contudo, por se tratar de procedimento invasivo, pode, em alguns casos, sugerir uma conduta agressiva para comprovação da eficácia de produtos cosméticos e dermatológicos, sendo inviável como ferramenta de investigação cotidiana.

De acordo com um relatório da Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica Estética (Isaps),³¹ o Brasil ocupa a primeira colocação em número de procedimentos cirúrgicos realizados em 2013, com destaque para lipoaspiração, colocação de próteses mamárias e abdominoplastia. A pesquisa também mostra que o Brasil quase dobrou o número de cirurgias estéticas realizadas nos últimos quatro anos, com 97,2% de crescimento.

Considerando que os fragmentos de pele sobressalentes das cirurgias plásticas eletivas são rotineiramente descartados como resíduo infectante, sua utilização constitui alternativa experimental factível e sustentável para suprir a lacuna entre o *in vitro* e o clínico, aproximando-se dos reais benefícios que um produto aplicado topicamente pode exercer.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram os efeitos deletérios que a radiação IV-A é capaz de promover no tecido cutâneo, como aceleração do envelhecimento e enfraquecimento de mecanismos envolvidos no reparo tecidual. A produção de MMP-1 mostrou-se aumentada após a exposição dos três sistemas-teste – cultura de fibroblastos, fragmentos de pele *ex vivo* e biópsias cutâneas – à dose de 360J/cm² de radiação IV-A. De modo similar, a radiação IV-A produziu redução significativa na produção de GADD45a em comparação com o controle basal não irradiado. Uma possível explicação para esse efeito é o aumento do consumo e degradação dessa proteína em consequência do estresse genotóxico, o que poderia resultar na redução transitória dos níveis de GADD45a nas culturas. Con-

forme já mencionamos, a ausência dessa proteína pode levar à instabilidade genômica e à deficiência na reparação dos danos ao DNA.^{28-29,32} Em relação aos níveis de TIMP-1 não foram observadas alterações significativas após exposição dos sistemas-teste à radiação IV-A.

Os resultados obtidos em nosso estudo revelam claramente que o modelo de pele *ex vivo* é efetivo na mimetização dos efeitos da radiação IV na pele, comprovando que o uso de fragmentos de pele humana provenientes de cirurgia plástica eletiva é, atualmente, a opção mais segura e promissora e não invasiva para o estudo de novos ativos e formulações da indústria cosmética/dermatológica.

CONCLUSÃO

Devido à correlação positiva de resultados entre os três modelos avaliados, podemos sugerir que o ensaio *ex vivo* com fragmentos de pele obtidos de cirurgia plástica eletiva constitui abordagem alternativa à utilização de biópsias humanas, uma vez que é caracterizada como ferramenta plausível e sustentável para abordar as diferenças entre o conhecimento gerado a partir de experiências *in vitro* e clínicas. ●

REFERÊNCIAS

- Krutmann J. Skin Aging. In: Krutmann J, Humbert P, editors. Nutrition for Healthy Skin. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011. p. 15-24.
- Schieke SM, Schroeder P, Krutmann J. Cutaneous effects of infrared radiation: from clinical observations to molecular response mechanisms. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2003;19(5):228-34.
- Yoon HS, Kim YK, Matsui M, Chung JH. Possible role of infrared or heat in sun-induced changes of dermis of human skin in vivo. *J Dermatol Sci*. 2012;66(1):76-8.
- Sklar LR, Almutawa F, Lim HW, Hamzavi I. Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review. *Photochem Photobiol Sci*. 2013;12(1):54-64.
- Schroeder P, Pohl C, Calles C, Marks C, Wild S, Krutmann J. Cellular response to infrared radiation involves retrograde mitochondrial signaling. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(1):128-35.
- Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B*. 1999;49(1):1-17.
- Butow RA, Avadhani NG. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell*. 2004;14(1):1-15.
- Schroeder P, Calles C, Benesova T, Macaluso F, Krutmann J. Photoprotection beyond ultraviolet radiation-effective sun protection has to include protection against infrared A radiation-induced skin damage. *Skin Pharmacol Physiol*. 2010;23(1):15-7.
- Kim MS, Kim YK, Cho KH, Chung JH. Regulation of type I procollagen and MMP-1 expression after single or repeated exposure to infrared radiation in human skin. *Mech Ageing Dev*. 2006;127(12):875-82.
- Costa A, Eberlin S, Clerici SP, Abdalla BM. In vitro effects of infrared A radiation on the synthesis of MMP-1, catalase, superoxide dismutase and GADD45 alpha protein. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2015;14(1):53-9.
- Ayres EL, Costa A, Eberlin S, Clerici SP. Estudo ex vivo para avaliação da atividade clareadora do Pycnogenol® após exposição à radiação ultravioleta, infravermelha e luz visível. *Surg Cosm Dermatol*. 2015;7(4):303-7.
- Schroeder P, Lademann J, Darvin ME, Stege H, Marks C, Bruhne S, et al. Infrared radiation-induced matrix metalloproteinase in human skin: implications for protection. *J Invest Dermatol*. 2008;128(10):2491-7.
- Zastrow L, Groth N, Klein F, Kockott D, Lademann J, Renneberg R, et al. The missing link--light-induced (280-1,600 nm) free radical formation in human skin. *Skin Pharmacol Physiol*. 2009;22(1):31-44.
- Darvin ME, Haag SF, Lademann J, Zastrow L, Sterry W, Meinke MC. Formation of free radicals in human skin during irradiation with infrared light. *J Invest Dermatol*. 2010;130(2):629-31.
- Jung T, Höhn A, Piazena H, Grune T. Effects of water-filtered infrared A irradiation on human fibroblasts. *Free Radical Biol Med*. 2010;48(1):153-60.
- Piazena H, Kelleher DK. Effects of infrared-A irradiation on skin: discrepancies in published data highlight the need for an exact consideration of physical and photobiological laws and appropriate experimental settings. *Photochem Photobiol*. 2010;86(3):687-705.
- Calles C, Schneider M, Macaluso F, Benesova T, Krutmann J, Schroeder P. Infrared A radiation influences the skin fibroblast transcriptome: mechanisms and consequences. *J Invest Dermatol*. 2010;130(6):1524-36.
- Leatherbarrow EL, Jenner TJ, O'Neill P, Botchway SW, Conein E, Gaur V, et al. [Internet]. Characterization of DNA damage induced by near infrared multiphoton absorption, Central Laser Facility Annual Report; 2004/2005, 151-154. [updated 2016 May. 24]. Available from: http://www.clf.stfc.ac.uk/resources/PDF/ar04-05_s6_characterisation_dna.pdf
- Treiber N, Maity P, Singh K, Ferchiu F, Wlaschek M, Scharffetter-Kochanek K. The role of manganese superoxide dismutase in skin aging. *Dermatoendocrinol*. 2012;4(3):232-5.
- Ramos SM, Carneiro SCS. Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. *J Cosmet Dermatol*. 2007;6(1):40-50.
- Bologna JL. Aging Skin. *Am J Med*. 1995;98(1A):99S-103S.
- Fitzpatrick TB, Pathak M, Parrish JA. Protection of human skin against the effects of the sunburn ultraviolet (290-320nm). In: Fitzpatrick TB, editor. Sunlight and Man, normal and abnormal photobiological responses. Tokyo: University of Tokyo Press; 1994. p. 751.
- Cho S, Lee MJ, Kim MS, Lee S, Kim YK, Lee DH, et al. Infrared plus visible light and heat from natural sunlight participate in the expression of MMPs and type I procollagen as well as infiltration of inflammatory cell in human skin in vivo. *J Dermatol Sci*. 2008;50(2):123-33.
- Schroeder P, Krutmann J. Infrared A-induced skin aging. In: Farage MA, Miller KW, Maibach HI, editors. Textbook of Aging Skin. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2010. p. 421-5.
- Wang XY, Bi Z. UVB-irradiated human keratinocytes and interleukin-1alpha indirectly increase MAP Kinase/AP-1 activation and MMP-1 production in UVA irradiated dermal fibroblasts. *Chin Med J (Engl)*. 2006;119(10):827-31.
- Liebermann DA, Hoffman B. Gadd45 in stress signaling. *J Mol Signal*. 2008;3:15.
- Maeda T, Espino RA, Chomey EG, Luong L, Bano A, Meakins D, et al. Loss of p21WAF1/Cip1 in Gadd45-deficient keratinocytes restores DNA repair capacity. *Carcinogenesis*. 2005;26(10):1804-10.
- Smith ML, Ford JM, Hollander MC, Bortnick RA, Amundson SA, Seo YR, et al. p53-mediated DNA repair responses to UV radiation: studies of mouse cells lacking p53, p21, and/or gadd45 genes. *Mol Cell Biol*. 2000;20(10):3705-14.
- Cretu A, Sha X, Tront J, Hoffman B, Liebermann DA. Stress sensor Gadd45 genes as therapeutic targets in cancer. *Cancer Ther*. 2009;7(A):268-76.
- Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocr Rev*. 2000;21(5):457-87.
- Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica [Internet]. Brasil lidera ranking de cirurgias plásticas no mundo. São Paulo [updated jul, 2014]. Disponível em: <http://www2.cirurgiaplastica.org.br/de-acordo-com-a-isaps-brasil-lidera-ranking-de-cirurgias-plasticas-no-mundo/>. Acesso em 24/05/2016.
- Hildesheim J, Bulavin DV, Anver MR, Alvord WG, Hollander MC, Vardanian L, et al. Gadd45a protects against UV irradiation-induced skin tumors, and promotes apoptosis and stress signaling via MAPK and p53. *Cancer Res*. 2002;62(24):7305-15.