

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

VICTOR HUGO SANTOS MAZZA

**PERFIL DA FORMAÇÃO *EX VIVO* DE LIOPERÓXIDOS NO  
ESTRATO CÓRNEO EM FUNÇÃO DO FOTOTIPO E IDADE  
APÓS EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

São Paulo – São Paulo  
2020

VICTOR HUGO SANTOS MAZZA

**PERFIL DA FORMAÇÃO *EX VIVO* DE LIOPERÓXIDOS NO  
ESTRATO CÓRNEO EM FUNÇÃO DO FOTOTIPO E IDADE  
APÓS EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao curso de Farmácia e  
Bioquímica da Universidade de São Paulo

São Paulo – São Paulo  
2020

VICTOR HUGO SANTOS MAZZA

**PERFIL DA FORMAÇÃO *EX VIVO* DE LIOPERÓXIDOS NO  
ESTRATO CÓRNEO EM FUNÇÃO DO FOTOTIPO E IDADE  
APÓS EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

Relatório final, apresentado a  
Universidade de São Paulo, como  
parte das exigências para a  
obtenção do título de farmacêutico

São Paulo, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. André Rolim Baby  
Afiliações

---

Prof. (Nome do professor avaliador)  
Afiliações

---

Prof. (Nome do professor avaliador)  
Afiliações

*Às minhas grandes tias,  
Gisele e Denize*

*Aos meus grandes primos  
André e Fernanda*

*Aos meus avôs e avós,  
Antonieta e Pedro, João Paulo e Conceição*

*À minha maior animiga e irmã  
Ana Carolina*

*À minha maior fonte de amor e mãe  
Sílvia Cristina*

*Ao meu maior apoiador, amigo e pai  
Pedro Luiz*

## Agradecimentos

*Ao meu orientador, Prof. André Rolim Baby*

*Ao Dr. Rafael Sauce Silva, pela oportunidade e ajuda constante*

*À Dr<sup>a</sup> Claudineia Aparecida Sales de Oliveira Pinto, pela orientação e apoio*

*À Prof<sup>a</sup> Nadia Ruscinc, por me apresentar os cosméticos no mundo acadêmico*

*À Thamires Batello Freire, Andressa Costa de Oliveira e Fernanda Daud Sarruf, colegas de laboratório inesquecíveis que me sempre ajudaram muito*

*Ao Prof. Felipe Rebello Lourenço e Prof<sup>a</sup> Elvira Maria Guerra Shinohara pela ajuda insubstituível*

*À Patrícia Tostes Marcouizos e Claudio Elias Duarte por seu apoio imprescindível*

*À Giovanna Alimari e Marina Meira, minhas grandes amigas de cinema, que me deram*

*À Beatriz Galindo Rodrigues, Stephany Mayumi Araki e Carolina Maranhão Meneghel Amaral minhas grandes amigas de faculdade, que me forneceram a amizade que permitiu aproveitar a faculdade propriamente*

*À Doralice Rita de Jesus Santos e Edgar Muniz Machado Junior*

*A Universidade de São Paulo - USP*

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. RESUMO.....</b>                                   | <b>07</b> |
| <b>2. LISTA DE FIGURAS.....</b>                         | <b>09</b> |
| <b>3. LISTA DE TABELAS .....</b>                        | <b>11</b> |
| <b>4. LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>                    | <b>12</b> |
| <b>5. INTRODUÇÃO.....</b>                               | <b>13</b> |
| <b>6. OBJETIVO .....</b>                                | <b>19</b> |
| <b>7. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                     | <b>20</b> |
| 1. Ensaio <i>ex vivo</i> ( <i>tape-stripping</i> )..... | 20        |
| 2. Procedimento.....                                    | 20        |
| 1. <i>Tape-stripping</i> .....                          | 20        |
| 2. Reações de MDA (Processo TBARS).....                 | 22        |
| 3. Condições cromatográficas.....                       | 22        |
| 4. Tratamento estatístico.....                          | 23        |
| <b>8. RESULTADOS.....</b>                               | <b>24</b> |
| <b>9. DISCUSSÃO.....</b>                                | <b>43</b> |
| <b>10. CONCLUSÕES.....</b>                              | <b>44</b> |
| <b>11. REFERÊNCIAS.....</b>                             | <b>45</b> |

## RESUMO

A pele é um componente do corpo humano danificado constantemente pelas radiações ultravioletas (UV) A e B, que causam a formação de radicais livres, cujos danos são normalmente diminuídos por respostas próprias do corpo. Tais espécies podem oxidar componentes do organismo, causando a peroxidação de constituintes do tecido cutâneo, gerando compostos como o malonaldeído. Dada a variedade de fenótipos existentes no planeta, espera-se que o comportamento de diferentes grupos de fototipos perante a ação da luz do sol e as substâncias geradas dessa interação em suas respectivas peles também fosse desigual. Por exemplo, o melanoma maligno e câncer de pele não melanoma, são bem menores nas etnias africana, hispânica e asiática quando comparados com os de descendência caucasiana. Pode-se associar o *tape-stripping*, uma técnica *ex vivo* que remove camadas superficiais do estrato córneo (SC) por meio de fitas adesivas, à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para investigar as substâncias presentes nas camadas de corneócitos para analisar o perfil da peroxidação lipídica do SC. O objetivo do presente estudo foi a avaliar a influência do fototipo e da idade dos participantes da pesquisa no perfil de peroxidação lipídica do SC *ex vivo* (*tape stripping*), empregando-se o método das espécies reativas do ácido tiobarbitúrico/CLAE. Constatou-se que a idade e fototipo dos indivíduos determinaram diferenças em como o SC reage em relação à formação do ácido tiobarbitúrico em função da radiação UV. Este estresse físico promoveu aumento proeminente na lipoperoxidação do SC naqueles de faixa etária maior. Ainda, constatou-se que foi maior a formação do aduto naqueles indivíduos cuja quantidade de melanina era reduzida (fototipos mais baixos). Os mais e menos resistentes à formação da peroxidação lipídica do SC perante a radiação UV foram os de menor idade pertencentes ao fototipo III e os de maior idade de fototipo II, respectivamente. Os resultados apresentaram perspectivas de aplicação na área da pesquisa clínica na identificação do perfil da peroxidação lipídica do SC de grupos distintos de participantes de pesquisa.

**Palavras-chave:** estrato córneo, ultravioleta, peroxidação lipídica, malonaldeído, ácido tiobarbitúrico, fototipo, idade, *tape stripping*, cromatografia líquida de alta eficiência

## Lista de Figuras

- Fig. 1.** – Microscopia de corneócitos dos fototipos II(a), III(b), IV(c), V(d) e VI(e) (Lu, *et al.*, 1996)
- Fig. 2.** – Evolução da perda de água transepidermal com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)
- Fig. 3.** – Evolução da espessura de SC com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)
- Fig. 4.** – Mudança na proporção de lipídios e proteínas no SC com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)
- Fig. 5.** – Reação proposta para a detecção de MDA depois da peroxidação lipídica (Alonso *et al.*, 2009)
- Fig. 6.** – Regiões para a aplicação das fitas adesivas
- Fig. 7.** – Fita adesiva sendo aplicada
- Fig. 8.** – Frequência de Fototipos (todos os indivíduos)
- Fig. 9.** – Frequência dos grupos de idade (todos os indivíduos)
- Fig. 10.** – Histograma da dispersão dos valores de concentração de aduto de SC Não Irrradiado para todos os indivíduos:
- Fig. 11.** – Histograma da dispersão dos valores de concentração de aduto de SC Irrradiado para todos os Indivíduos
- Fig. 12.** – SC Não-irradiado (Todos os indivíduos)
- Fig. 13.** – SC Irrradiado (Todos os indivíduos)
- Fig. 14.** – Comparação entre os grupos de idade
- Fig. 15.** – Comparação entre os fototipos
- Fig. 16.** – SC Não-irradiada (Todos os indivíduos)-Dados transformados
- Fig. 17.** – Pele Irradiada (Todos os Indivíduos)-Dados transformados
- Fig. 18.** – Comparação entre os grupos de idade com dados transformados
- Fig. 19.** – Comparação entre os fototipos

**Fig. 20.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade

**Fig. 21.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade

**Fig. 22.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação pelos grupos de idade

**Fig. 23.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação pelos grupos de idade

**Fig. 24.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação pelos grupos fototipo

**Fig. 25.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação pelos grupos de fototipo

**Fig. 26.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação em grupos de fototipo associados aos de idade

**Fig. 27.** – Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação em grupos de fototipo associados aos de idade

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação das características dos voluntários

Tabela 2 - Dados obtidos por meio da transformação Box-Cox

Tabela 3 - Valores de coeficiente angular das retas que associam fototipo e idade

## LISTA DE ABREVIATURAS

BHT – butylated hydroxytoluene

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – ácido sulfúrico

H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> – ácido fosfórico

HPLC – High Performance Liquid Chromatography

MDA – malondialdehyde

SC – estrato córneo

TBA – thiobarbituric acid

TBARS – thiobarbituric acid reactive substances

TEP – 1, 1, 3, 3-tetramethoxypropane

TEWL – transepidermal water loss

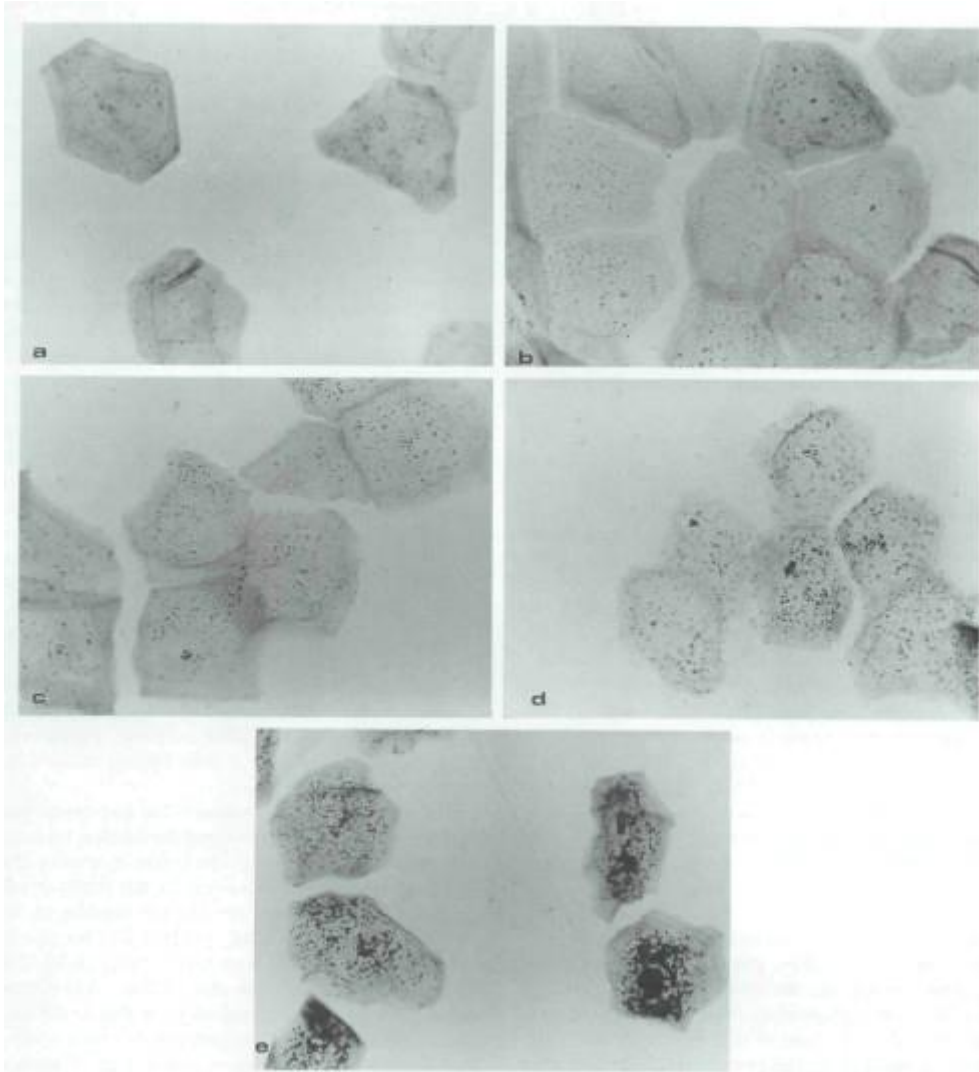
## INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo no qual ocorrem interações entre moléculas exógenas e o tecido propriamente dito, as quais geram respostas ao meio que cerca o indivíduo. É composta pela epiderme, na qual estão presentes as células do estrato córneo (SC) (corneócitos), queratinócitos, melanócitos, que contêm melanina, e as células de Langerhans; e derme, onde estão presentes vasos sanguíneos, fibroblastos, mastócitos perivascularres e dendrócitos, ademais de anexos especializados, como folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas (Robbins, *et al.*, 2010).

A pele possui funções diversas, como a separação do meio externo do interno; a proteção microbiológica, física e bioquímica; e a manutenção térmica e hídrica do corpo. Contudo, ela está sujeita a danos, os quais incluem, mas não limitadamente, aqueles ocasionados pela radiação ultravioleta (UV).

A radiação UV está didaticamente dividida em UVA (320 a 400 nm), capacidade menor de causar eritema, alto grau de penetração na derme e promotor direto do bronzeamento da pele de curta duração; e UVB (290 a 320 nm), a qual é a causadora das queimaduras associadas ao sol, também induzindo o bronzeamento da pele de longa duração (Flor, Davolos, Correa, 2007).

Dentre os vários mecanismos de defesa que a pele humana possui contra essa radiação, a melanina é uma das mais importantes. Além de um dos mecanismos intrínsecos do organismo de proteção contra a radiação UV, ela também é responsável pela diferenciação entre os diversos grupos estabelecidos por Fitzpatrick. Ao analisar indivíduos pertencentes a cada um desses grupos, observa-se uma diferença na área de corneócitos coberta com partículas de melanina, a qual aumenta conforme o número do grupo também cresce (Lu, *et al.*, 1996).

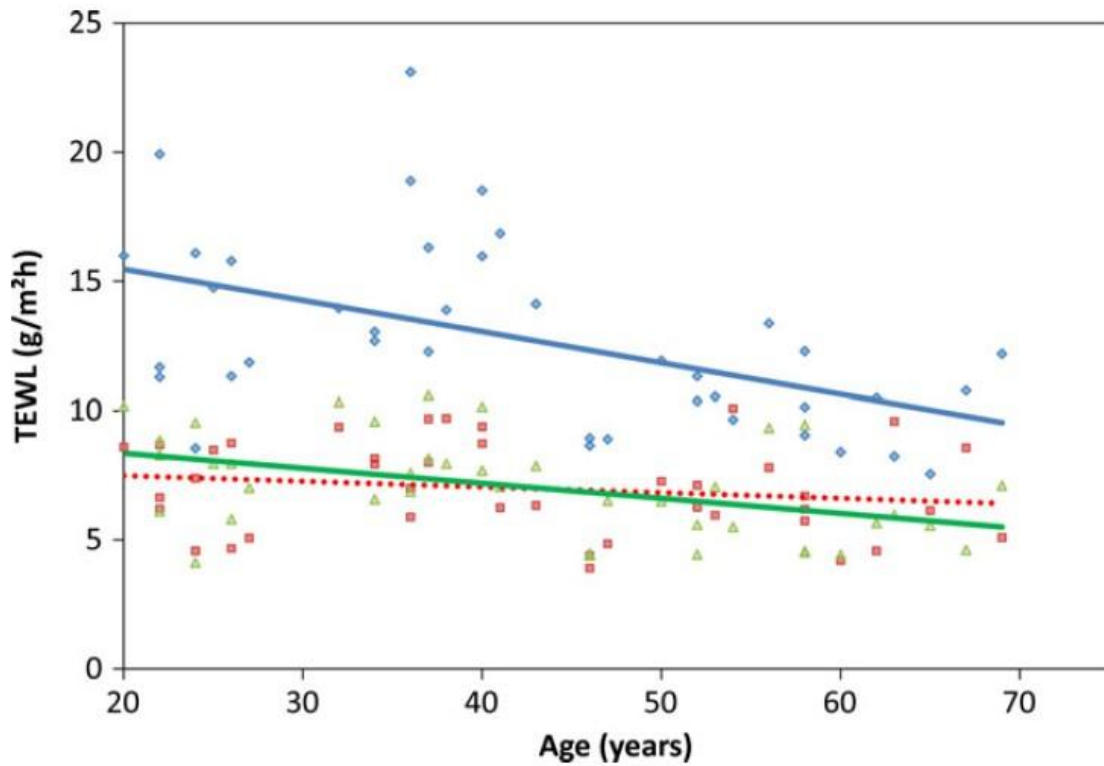


**Fig. 1.** Microscopia de corneócitos dos fototipos II(a), III(b), IV(c), V(d) e VI(e) (Lu, *et al.*, 1996)

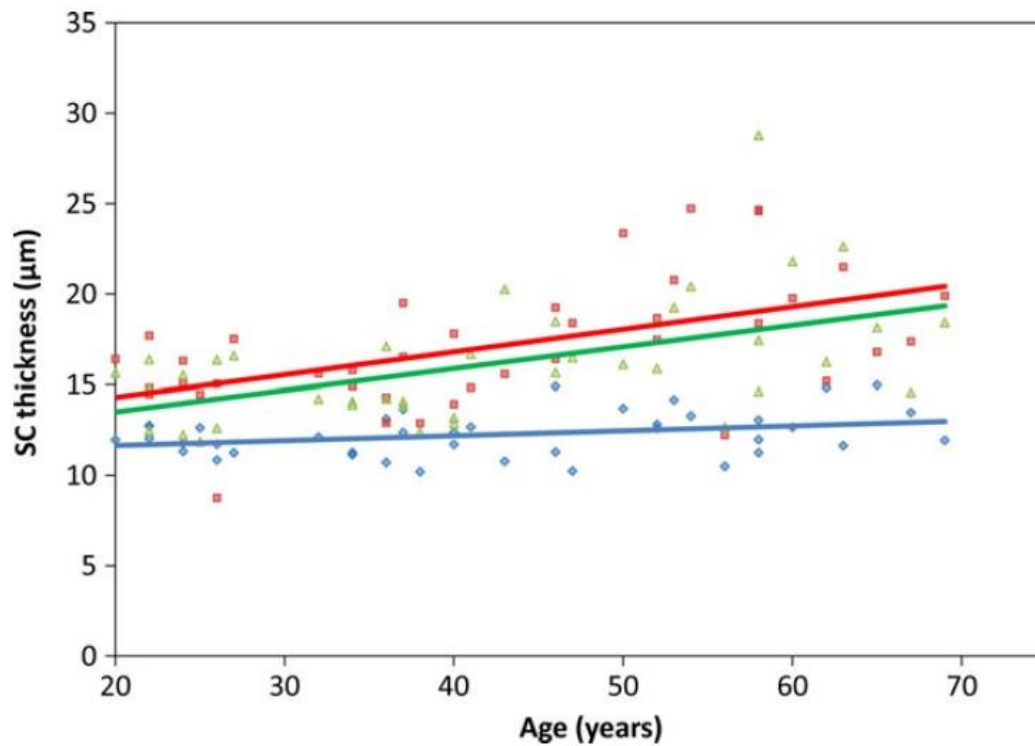
Com o aumento da idade, nossas atividades fisiológicas associadas com o funcionamento adequado do organismo tendem a diminuir. A pele não é uma exceção. Dentre as características visuais que o órgão adquire com o passar do tempo estão o aparecimento de rugas e desordens de pigmentação, favorecimento na ocorrência de lesões e flacidez (Gilchrest, 1982). Em termos fisiológicos, o fator influi na diminuição da renovação das células da epiderme, redução no número de queratinócitos, fibroblastos e da rede vascular, essa última associada aos bulbos capilares e glândulas (Cerimele, Celleno, Serri, 1990). Em relação aos melanócitos, também há interferência. A cada década, diminui-se de 10 a 20% no número dessas células enzimaticamente ativas por unidade de área (Gilchrest, 1982). Isso demonstra que há diminuição progressiva com o passar dos anos nas defesas orgânicas contra a radiação

(UV), fazendo desse fator importante para diferenciação da formação de produtos da peroxidação lipídica (Gilchrest, 1982).

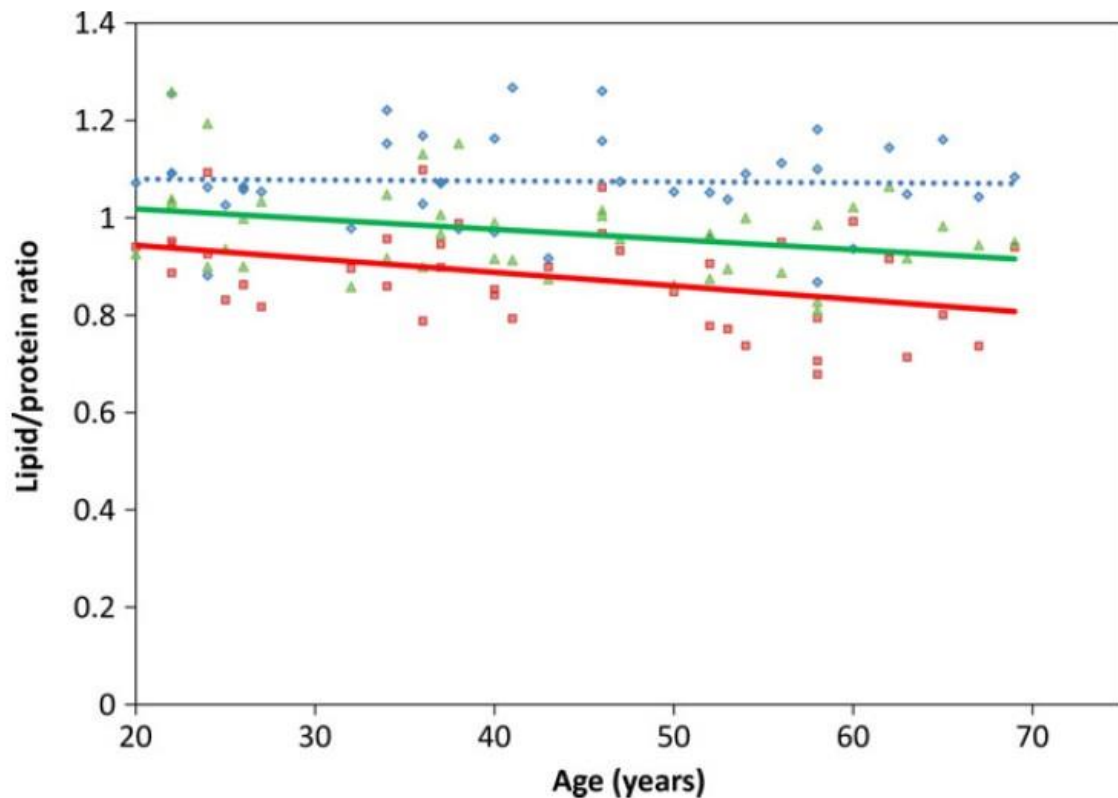
A idade também afeta o SC, como observado por Boireau-Adamezyk e colaboradores, 2014. Ao analisarem áreas de braço, protegido ou não, e rosto de pessoas pertencentes a diversos grupos etários, os pesquisadores verificaram o aumento da função barreira, associado à essa camada, a qual depende tanto do local analisado, assim como integridade (Fig. 2) e espessura (Fig. 3) dessa camada, sendo que o primeiro fator, investigado por meio da análise da perda de água transepidermica (TEWL), diminui conforme os anos progrediram e o segundo aumentou, indicando uma “maturação” dessa região. Também constataram que houve diferença entre a composição molecular nessa camada, com diminuição na proporção entre lipídios e proteínas existentes nela conforme a progressão da idade (Fig. 4), conjuntamente com diferentes formas de decréscimos em certas moléculas, como colesterol e ceramida, nas diferentes regiões analisadas. Deduziu-se que o aumento na espessura do SC compensou a mudança de quantidade e ordem dessas substâncias (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014).



**Fig. 2.** Evolução da perda de água transepidermal com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)



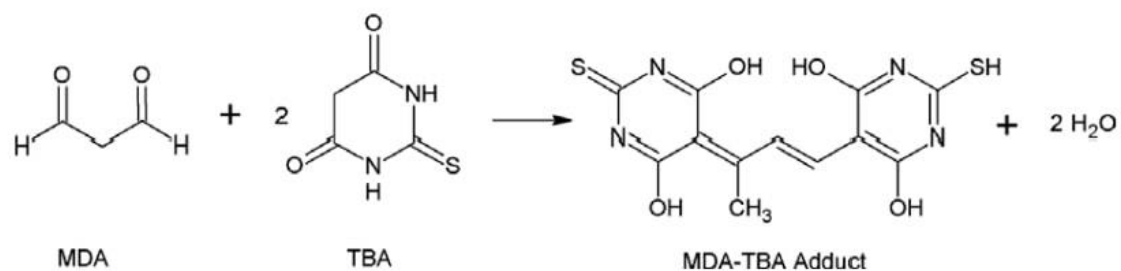
**Fig. 3.** Evolução da espessura de SC com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)



**Fig. 4.** Mudança na proporção de lipídios e proteínas no SC com o passar dos anos (região das bochechas, em azul, do antebraço dorsal, em vermelho, e do braço interno superior em verde) (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014)

A radiação pode aumentar o risco de dano foto-oxidativo por promover a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), como peróxido de oxigênio ( $H_2O_2$ ), ânion radical superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxil ( $-OH^\bullet$ ) e oxigênio singlete ( $O^\bullet$ ). Essas substâncias comumente oxidam proteínas e lipídios, sendo que esses últimos também podem sofrer peroxidação. Essa atividade pode ser mensurada por meio da perda de ácidos graxos insaturados e obtenção de produtos primários da peroxidação, como hidroperóxidos, e de produtos secundários ou finais, como aldeídos, etano e pentano (Alonso *et al.*, 2009).

Dentre os produtos dessa peroxidação lipídica está o malondialdeído (MDA), que é formado a partir da decomposição de alguns produtos primários e secundários dessa reação. Esse pode ser quantificado como um aldeído livre ou seu aduto formado da reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA), como ilustrado na Fig. 5 (Alonso *et al.*, 2009).



**Fig. 5.** Reação proposta para a detecção de MDA depois da peroxidação lipídica (Alonso *et al.*, 2009).

Alonso e colaboradores, 2009, empregaram essa técnica para analisar o SC depois de irradiado (radiação UV). A quantificação do aduto formado foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência que, sendo uma técnica sensível, foi capaz de gerar dados que correlacionassem a quantidade de aduto com a formação das espécies reativas no SC.

Desse modo, há conveniência do uso dessa técnica na Cosmetologia, já que permite a caracterização da peroxidação lipídica no SC.

## **OBJETIVO**

Avaliar a influência do fototipo e da idade dos participantes da pesquisa no perfil da peroxidação lipídica do estrato córneo *ex vivo* (*tape stripping*), empregando-se o método TBARS/CLAE.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Ensaio *ex vivo* (*tape-stripping*)

A presente proposta possui aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (CLAE 61716316.4.0000.0067).

Doze participantes da pesquisa foram selecionados em função do fototipo e intervalo de idade e excluídos da pesquisa caso tivessem problemas de pele. Estes foram mantidos em temperatura de  $21 \pm 2$  °C e umidade relativa de 40-60%. Foram utilizadas 20 fitas por área, tipo Scotch<sup>®</sup> 3M Transparente 750 polipropileno (5,0 x 2,0 cm), para a remoção do SC (Benefeldt *et al.*, 2007; Alonso *et al.*, 2009; Peres, 2015; De Oliveira *et al.*, 2015). As fitas foram irradiadas no simulador Atlas Suntest<sup>®</sup> CPS+ com lâmpada de xenônio (1500 W) e filtro responsável por simular a radiação solar, permitindo a passagem de comprimentos de onda acima de 290 nm. A extração do SC das fitas foi realizada pela adição de 10 mL de metanol e banho de ultrassom por 15 minutos (Peres, 2015). A quantificação do aduto foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), seguindo o método TBARS (Alonso *et al.*, 2009; Weigmann *et al.* 1999; Potard *et al.* 2000).

### 2. Procedimento

#### 1. Tape-stripping

Selecionou-se o antebraço mais confortável para cada indivíduo e analisou-se a região da face interna do respectivo local, a qual deveria estar previamente isenta de pelos ou produtos aplicados durante um dia. Foram estipuladas duas regiões de 5 cm de largura por 5 de comprimento, como ilustrado na Fig. 6, e, dentro de cada uma dessas, uma região de dimensões 2 cm de largura x 5 de comprimento na qual foi aplicada a fita adesiva do procedimento, como ilustrado na Fig.7.



**Fig. 6.** Regiões para a aplicação das fitas adesivas



**Fig. 7.** Fita adesiva sendo aplicada

Usou-se a fita da marca Magic Scotch 3M, de dimensões 1,9 cm x 33 m. Prepararam, para cada voluntário, 20 fitas de tamanho 2 cm de largura por 6 de extensão, sendo um para manuseio e descarte futuro, transferindo cada uma para uma superfície de vidro para facilitar o manuseio prévio. Aplicou-se cada fita na região pré-determinada do antebraço do voluntário, até obter-se 20, com uso de pressão constante.

Para as amostras que não foram irradiadas, as fitas retiradas foram imersas em 10 mL de metanol. Já as tratadas em câmara de fotoestabilidade, foram irradiadas previamente na superfície de vidro com uso de irradiância de

765 W/m<sup>2</sup>, por 1 hora, temperatura, dose total de 2753 kJ/m<sup>2</sup>, 35°C, temperatura ambiente. Para a finalização dos processos de extração do SC das fitas em metanol, tais soluções foram submetidas ao ultrassom por 15 minutos em temperatura ambiente (Peres, 2015).

## **2. Reações de MDA (Processo TBARS)**

Preparou-se solução-mãe de MDA obtida pela hidrólise ácida realizada em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Espera-se que a concentração final esteja em torno de 1,081 x 10<sup>-7</sup> M (mol/L) ou 108,1 µM. Determinou-se a concentração a concentração por meio de leitura em triplicata de absorbância no espectrofotômetro UV / Vis em 245 nm ( $\epsilon_{245\text{nm}} = 13700$ )

Realizaram-se as diluições para obter-se as concentrações a seguir: 0,001; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,6 µM, completando-se os balões de 10 mL com solução de PBS.

Com as soluções de calibração e a da amostra em análise, adicionou-se 1 mL de cada amostra em 144 µL de 0,2% BHT e 400 µL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0,44 M) em um tubo de vidro, com tampa e com o exterior protegido com papel alumínio para proteção perante a luz, a qual foi apagada nas etapas seguintes. Promoveu-se agitação no vórtice, seguido de repouso, num recipiente com tampa e guardou-se o obtido por 10 minutos a temperatura ambiente. Após, adicionaram-se 600 µL de 0,6% TBA nos tubos e promoveu-se agitação no vórtice novamente. Aqueceram-se os tubos em banho-maria por 45 minutos a 90°C. Esses foram resfriados até voltarem a temperatura ambiente. Adicionaram-se 600 µL de *n*-butanol e agitou-se cada tubo em por 1 min. Passaram-se as amostras para um tubo Falcon (plástico) e para serem centrifugadas por 10 minutos a 3000 G. Retirou-se o máximo de volume da camada de *n*-butanol, de cor rósea, transferindo-a num vial, usando insert nesses quando a quantidade era reduzida (Alonso, 2009).

## **3. Condições cromatográficas**

As análises foram realizadas em CLAE Shimadzu® Prominence, composto por detector espectrofotométrico de arranjo de diodos modelo SPD-M20A e forno de colunas modelo CTO-20A. A coluna foi a C18 (250 x 4.6 mm, 5 mm tamanho de partícula) (Shimadzu, Japan), precedida por pré-coluna (10

x 4.6 mm), modo isocrático, fase móvel composta por metanol, tampão potássio de fosfato (50 mM, pH 7,0) (65%:35%) filtrada através de uma membrana de filtro 0,22 µm (Millipore), com fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> à 30°C, com 40 µL de quantidade de injeção da amostra, com tempo de 10 minutos. A detecção do aduto MDA-TBA formado pela reação foi em 532 nm.

#### **4. Tratamento estatístico**

Planejou-se organizar as informações de cada indivíduo para melhor avaliar as possíveis correlações de acordo com idade e fototipo. Usaram-se o programa Minitab® 18.1 e transformação de Box-Cox para analisar tais informações.

## Resultados

Foram analisados 10 participantes que transitam normalmente pela região da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Em relação ao fototipo, que classifica os indivíduos em seis classes, de I a VI, observa-se que a quantidade de melanina na epiderme se eleva (Lu, *et al.*, 1996).

Em relação à idade, o aumento interfere na fisiologia da pele. Há mudanças tanto visíveis e fisiológicas, como alterações na quantidade e função das células presentes nela (Cerimele, Celleno, Serri, 1990). No SC propriamente dito, há mudanças estruturais como nas substâncias presentes, havendo, dessa maneira, diferenças na sua função barreira (Boireau-Adamezyk, Baillet-Guffroy, Stamatias, 2014).

Em relação ao aspecto de idade, decidiu-se agrupar as informações em dois grupos: A, para as idades entre 20 e 30 anos, e B, com mais de 30 anos. Já quanto ao fototipo, agrupou-se cada indivíduo perante a classificação de Thomas B. Fitzpatrick: I (indivíduos pele muito branca que se queima facilmente, mas que nunca se bronzeiam), II (indivíduos de pele branca que se queimam facilmente e que se bronzeiam com dificuldade e minimamente), III (indivíduos de pele branca que se queimam moderadamente e que se bronzeiam com moderação e uniformidade), IV (indivíduos de pele marrom ou levemente bronzeada e que se queimam facilmente, bronzeando-se com facilidade e moderação), V (indivíduos de pele marrom clara ou bronzeada e que bronzeiam com profusão, raramente se queimando) e VI (indivíduos de pele de cor marrom escura ou preta que se bronzeia com profusão sem nunca se queimar) (Sachedeva, 2009).

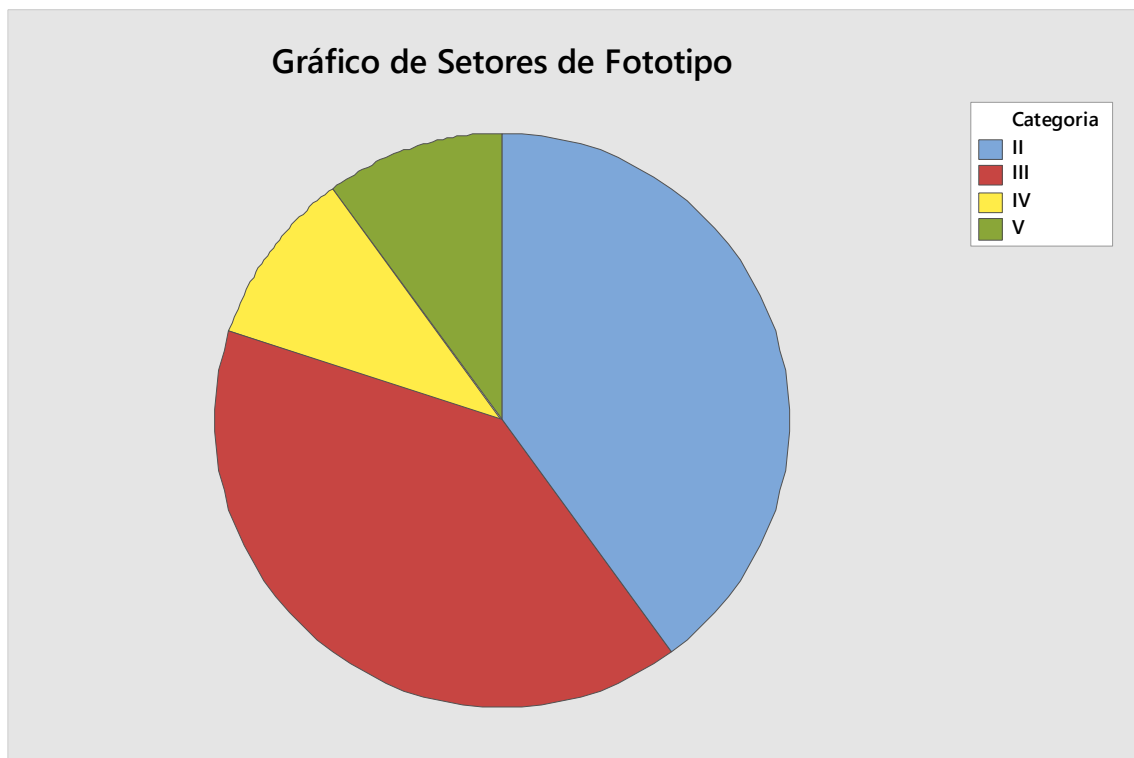
Cada grupo de amostras de SC aceitas foi então separado, com parte seguindo para ser irradiado de acordo com as condições estipuladas, e outro não. Ambos, em seguida, foram tratados e submetidos ao processo de TBARS. Com o uso da cromatografia líquida de alta eficiência associado, descobriu-se a quantidade do aduto tiobarbitúrico presente em cada tipo de amostra.

Tabela 1: Comparação das características dos voluntários

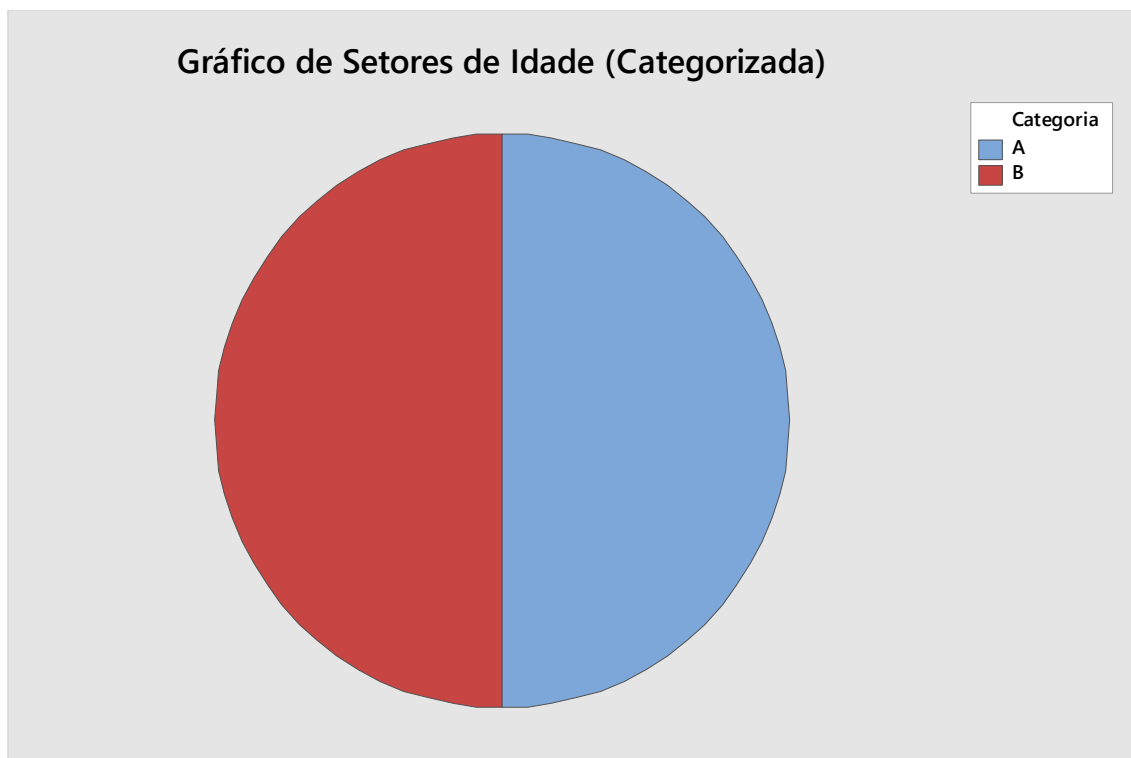
| <b>Voluntário</b> | <b>Idade</b> | <b>Gênero</b> | <b>Fototipo</b> | <b>SC Não-Irradiada</b> | <b>SC Irradiada</b> | <b>Aumento (em %) na [aduto]</b> |
|-------------------|--------------|---------------|-----------------|-------------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1                 | 48           | Fem           | III             | 24423                   | 111951              | 358                              |
| 2                 | 45           | Fem           | III             | 11625                   | 27939               | 140                              |
| 3                 | 23           | Fem           | II              | 5277                    | 13445               | 155                              |
| 4                 | 30           | Fem           | II              | 38432                   | 120949              | 215                              |
| 5                 | 30           | Fem           | III             | 4588                    | 7765                | 69                               |
| 6                 | 28           | Fem           | V               | 4476                    | 7914                | 77                               |
| 7                 | 25           | Mas           | II              | 8658                    | 36233               | 318                              |
| 8                 | 31           | Fem           | II              | 18265                   | 34187               | 87                               |
| 9                 | 31           | Fem           | IV              | 15841                   | 18566               | 17                               |
| 10                | 52           | Fem           | III             | 17496                   | 41605               | 138                              |

Analisando as características dos indivíduos, pode-se organizar o conjunto de dados obtidos (Tabela 1). Foi possível comparar a frequência de cada característica citada, permitindo a formulação de representações gráficas de cada uma (Fig. 8 e Fig. 9).

Ao se comparar os fototipos de cada indivíduo, 40% eram do padrão II; 40 do padrão III; 10% eram do padrão IV e 10% eram do padrão V (Fig. 8). Já ao se comparar a idade, 50% dos indivíduos se eram do grupo A e 50% do grupo B (Fig. 9).



**Fig. 8.** Frequência de Fototipos (todos os indivíduos)



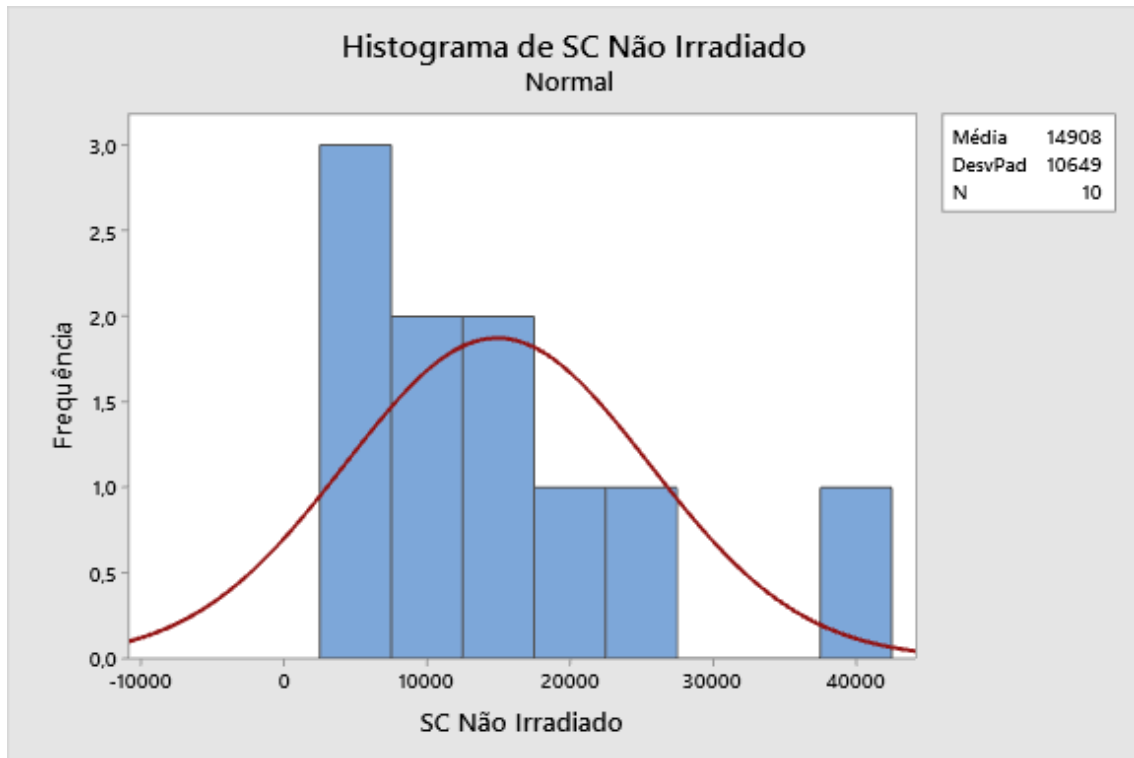
**Fig. 9.** Frequência dos grupos de idade (todos os indivíduos)

Como se objetivou analisar a ocorrência da peroxidação lipídica em cada indivíduo, buscou-se verificar a variação na quantidade do aduto tiobarbitúrico. Como apresentado na Tabela 1, após a irradiação das amostras de SC, houve aumento na concentração dessa substância no conjunto das amostras, significando a ocorrência do processo-alvo desse estudo.

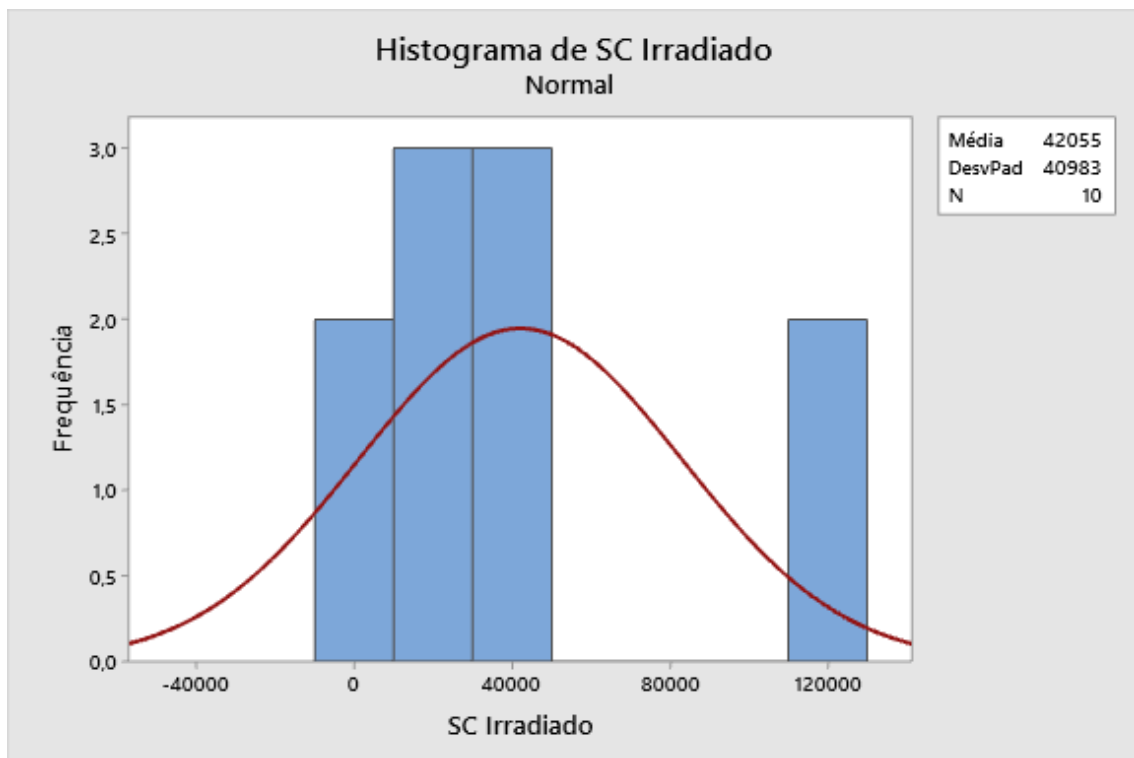
Entretanto, houve distinção entre o acréscimo entre os indivíduos, o qual foi de 17%, no indivíduo 9, até 358%, no indivíduo 1. Além disso, quando se buscou por um padrão que correlacionasse os aspectos do interesse desta pesquisa com o aumento na concentração do aduto, não se pode discerni-lo. Dessa forma, foi preciso verificar se essa existe, usando-se de ferramentas estatísticas, com o auxílio do software Minitab® 18.1.

Para que possamos usar os métodos paramétricos que permitem a análise estatística dos dados, precisamos verificar se esses seguem uma distribuição normal. Assim sendo, com o auxílio de histogramas, buscou-se analisar se a relação perante a concentração do aduto tiobarbitúrico pela sua frequência gera a curva característica em forma de sino e simetria em torno da média (Paes, 2009). Nisso, verificou-se que o histograma referente aos dados de pele não irradiada (Fig. 10) e o referente aos dados de pele irradiada (Fig. 11) segue a forma citada, sugerindo que, para ambos pacotes de informações,

existe a distribuição desejada. Dessa forma, os dados são normais, seguindo um padrão que permite sua análise, como desejado.



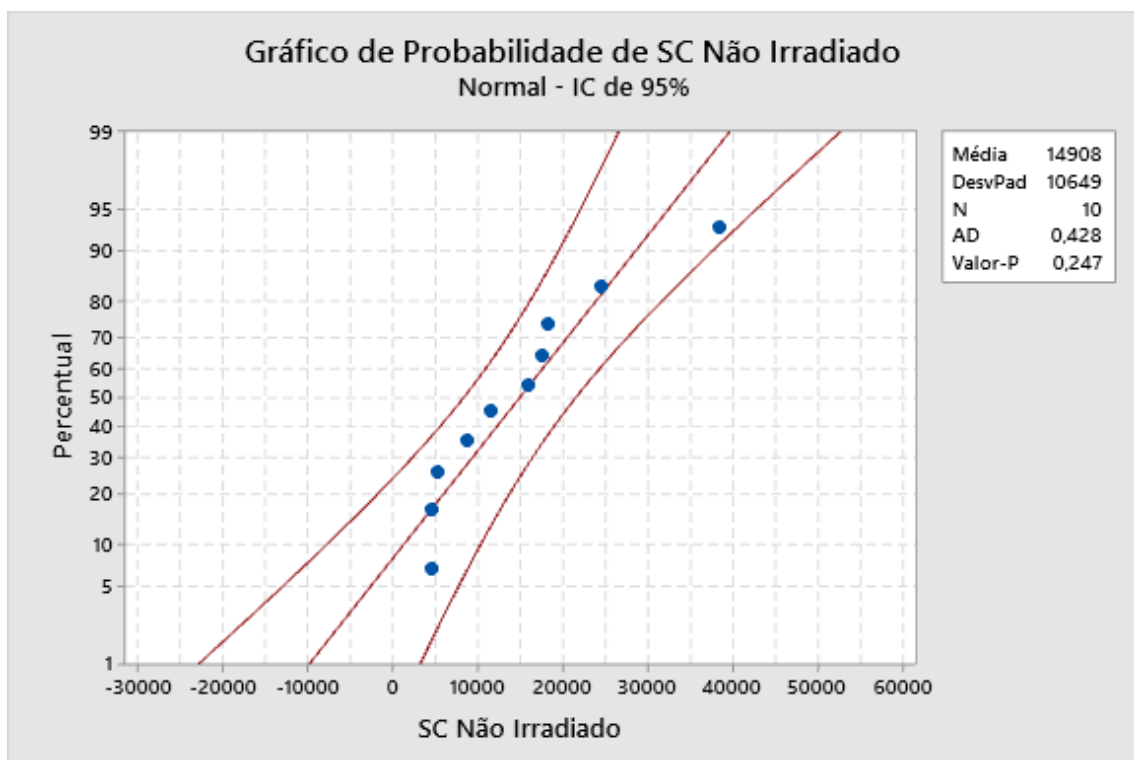
**Fig. 10.** Histograma da dispersão dos valores de concentração de aduto de SC Não Irradiado para todos os indivíduos:



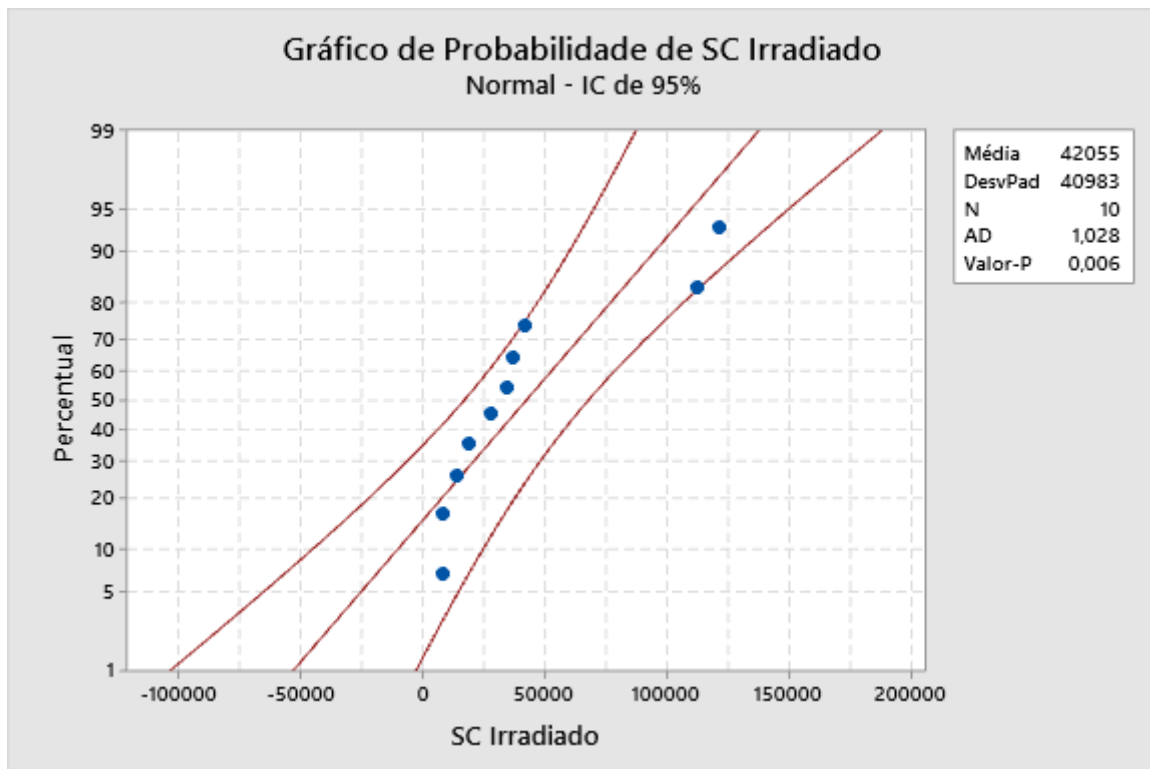
**Fig. 11.** Histograma da dispersão dos valores de concentração de aduto de SC Irradiado para todos os indivíduos

Entretanto, quando se verifica mais aprofundamente os dados acima, percebe-se que os histogramas não mostram precisamente a desejada normalidade das informações. Analisando o perfil de concentração de aduto para SC não irradiada e irradiada com o uso de gráficos de probabilidade, vê-se que vê-se que a normalidade não ocorre para ambos grupos de dados, ao se analisar o valor-p. Isso devido a alguns desses serem inferiores a 0,05 e, por causa disso, refuta-se a hipótese inicial, ou  $H_0$ , em que há normalidade entre esses dados.

Por um lado, o valor dele para os dados do SC não irradiado supera 0,05, indicando que há normalidade e, por consequência, um padrão entre suas variáveis (Fig. 12). Já para o SC irradiado tal valor é menor que 0,05, indicando o oposto (Fig. 13). Dessa forma, se ainda quisermos ver a se há a correlação entre esses dados, precisaremos transformar ambos conjuntos deles para só então verificar o que queremos.



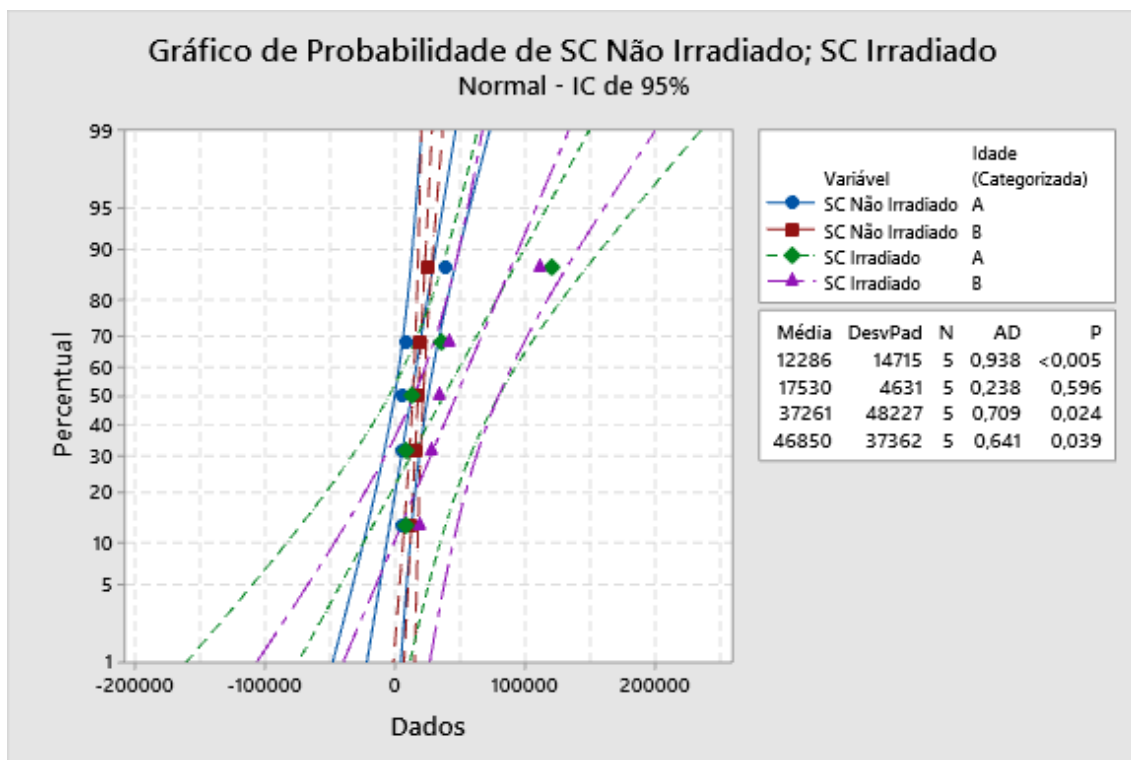
**Fig. 12.** SC Não-irradiado (Todos os indivíduos)



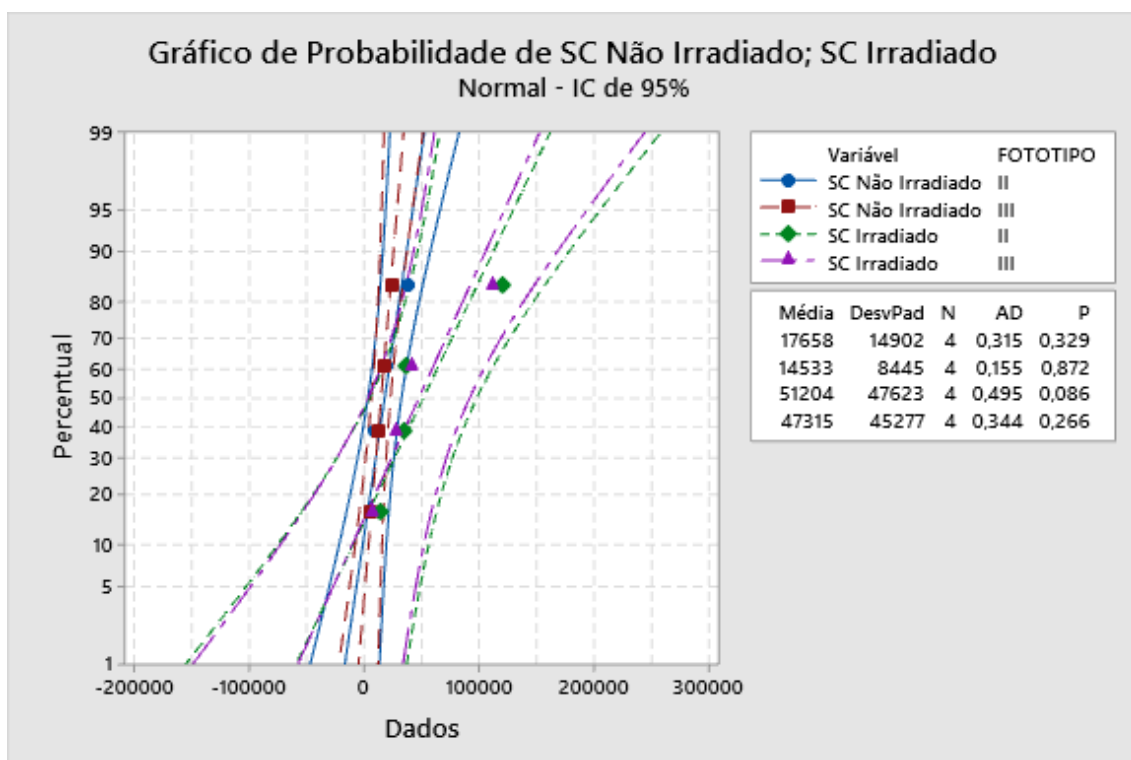
**Fig. 13.** SC Irradiado (Todos os indivíduos)

Isso reflete nas correlações que queremos verificar a existência. Quando se analisa os dados referentes ao SC não irradiado, o qual já verificamos que há um padrão entre seus dados (Fig. 12), nota-se que tanto para um dos grupos de idade (Fig. 14) quanto para os dois de fototipo (Fig. 15), o número do valor-p para cada relação supera 0,05. Isso indica que há o padrão esperado entre cada um dos aspectos e a característica fixada, permitindo que os correlacionemos e, conseqüentemente, interpretemos as retas decorrentes. Mesmo assim, a correlação entre tais dados e seus correspondentes no grupo de idade A, o valor-p é inferior ao necessário para podermos estabelecer uma relação entre os dois, necessitando-se trabalhar esses para que encontremos uma relação.

Já quando se faz o mesmo com os dados referentes ao SC irradiado (Fig. 13), ocorrem mais discrepâncias. Por um lado, a relação entre esses e os grupos de fototipos (Fig. 15) tem ambos números de valor-p superiores a 0,05, indicando o já comentado anteriormente. Mas quando ao se analisar os valor-p referentes aos grupos de idade (Fig. 14), percebe-se que os dois são inferiores a 0,05, também indicando o que já foi mencionado entre esse grupo de dados.



**Fig. 14.** Comparação entre os grupos de idade



**Fig. 15.** Comparação entre os fototipos

Dessa forma, para que possamos usar as informações simultânea e igualmente para obter o que procuramos, precisamos trabalhar nossos dados sem afetar suas informações intrínsecas. Optou-se, então, pela transformação

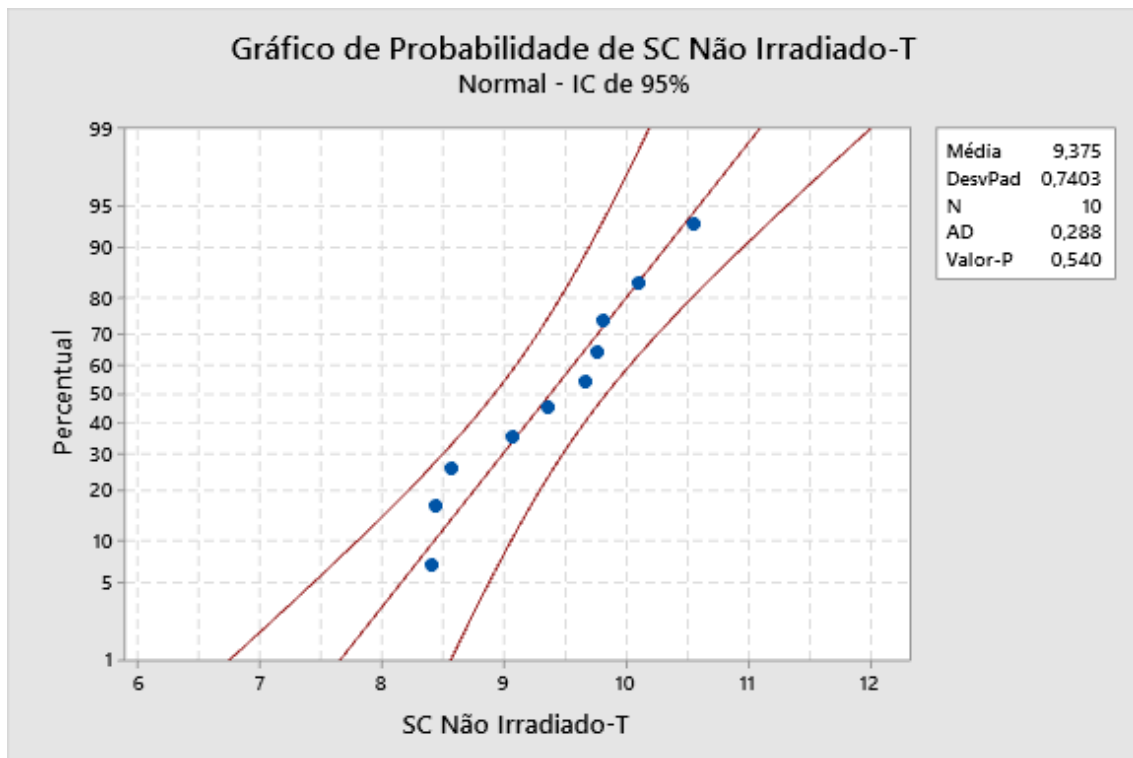
de Box-Cox, uma mudança na escala envolvida, para os dados de SC não irradiada e irradiada. Os dados obtidos, que podem ser vistos na tabela 2 ao lado daqueles que os originaram, serão usados a partir de agora nas análises.

**Tabela 2:** Dados obtidos por meio da transformação Box-Cox

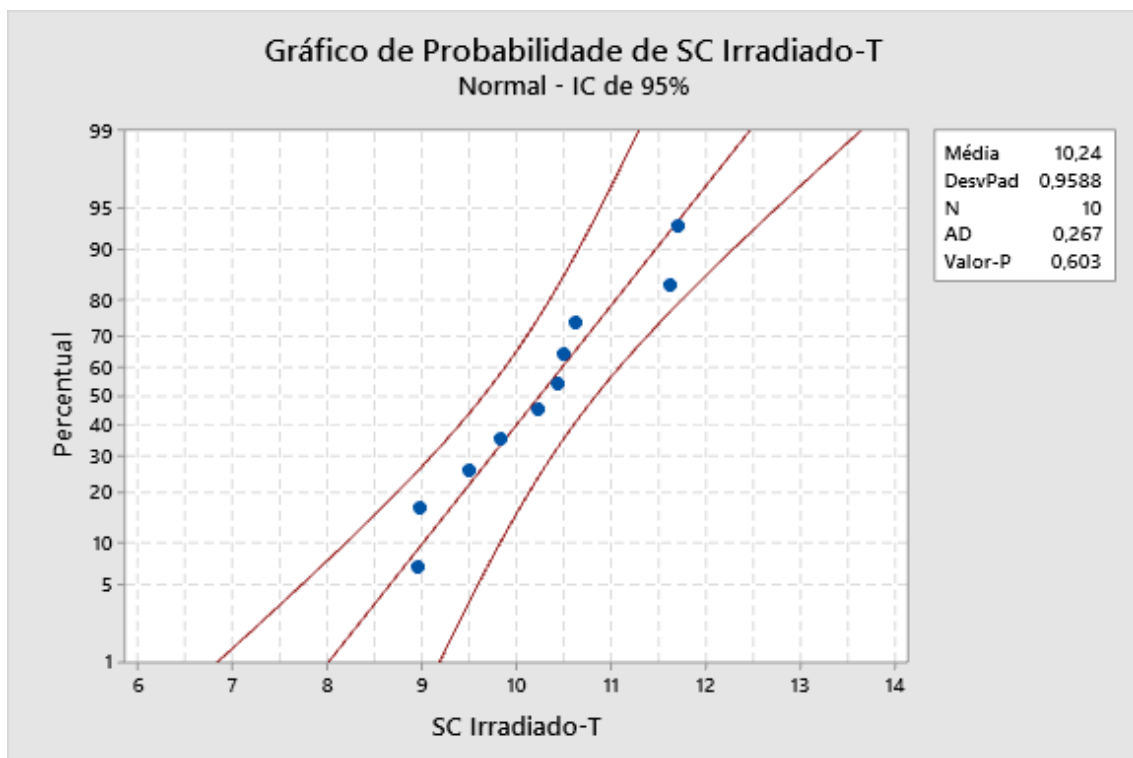
| <b>Voluntário</b> | <b>SC Não-Irradiada</b> | <b>SC Não-Irradiada T</b> | <b>SC Irradiada</b> | <b>SC Irradiada T</b> |
|-------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 1                 | 24423                   | 10,1033                   | 111951              | 11,6258               |
| 2                 | 11625                   | 9,3609                    | 27939               | 10,2378               |
| 3                 | 5277                    | 8,5711                    | 13445               | 9,5064                |
| 4                 | 38432                   | 10,5566                   | 120949              | 11,7031               |
| 5                 | 4588                    | 8,4312                    | 7765                | 8,9574                |
| 6                 | 4476                    | 8,4065                    | 7914                | 8,9764                |
| 7                 | 8658                    | 9,0662                    | 36233               | 10,4977               |
| 8                 | 18265                   | 9,8127                    | 34187               | 10,4396               |
| 9                 | 15841                   | 9,6704                    | 18566               | 9,8291                |
| 10                | 17496                   | 9,7697                    | 41605               | 10,6360               |

Nisso, com novos dados em mãos, podemos refazer nossas análises de normalidade perante seus grupos correspondentes. Ao se usar agora os gráficos de probabilidade para os dados transformados para SC não irradiada (Fig.16) e irradiada (Fig.17), verificamos que para ambas o número do valor-p associado supera 0,05. Dessa forma, nas duas há normalidade em cada conjunto e, por consequência, o padrão esperado entre tais pontos.

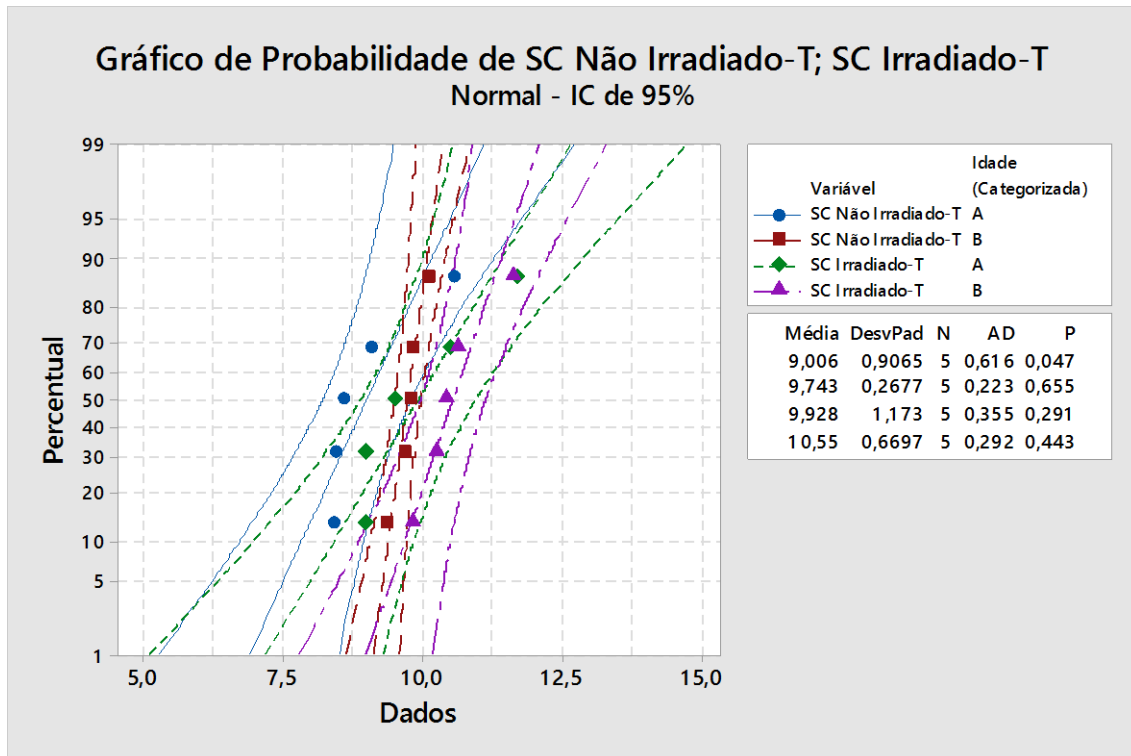
Por decorrência, quando analisamos os novos conjuntos de SC frente os aspectos pesquisados, verifica-se que para os grupos de idade (Fig. 18) e para os fototipos (Fig. 19) o mesmo acontece, já que, tanto para SC não irradiado transformado quanto para irradiado todos os números dos valor-p vindos dos gráficos de probabilidade são superiores a 0,05, indicando a normalidade em cada grupo menor descrito. O único ponto a se destacar aqui é referente a reta de SC não irradiado transformado associado ao grupo de idade A, cujo número de valor-p é ligeiramente inferior a 0,05, mas que foi arredondado para tal devido a sua proximidade a tal valor.



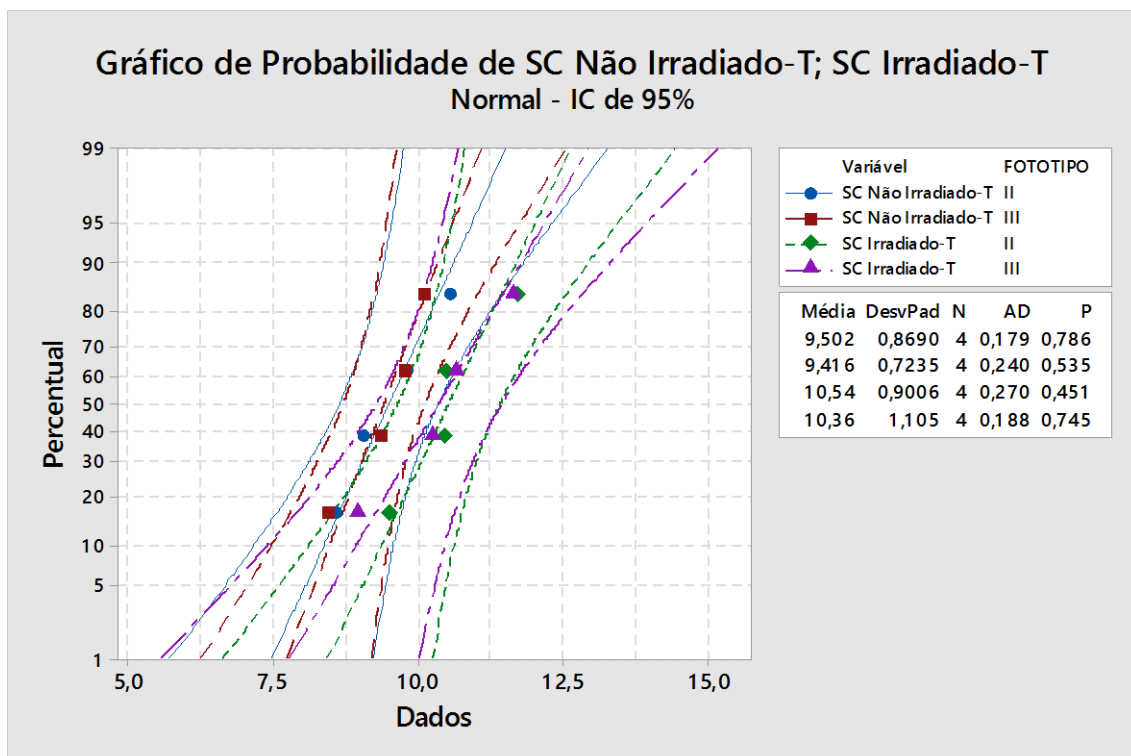
**Fig. 16.** SC Não-irradiada (Todos os indivíduos)-Dados transformados



**Fig. 17.** Pele Irradiada (Todos os Indivíduos)-Dados transformados



**Fig. 18.** Comparação entre os grupos de idade com dados transformados



**Fig. 19.** Comparação entre os fototipos

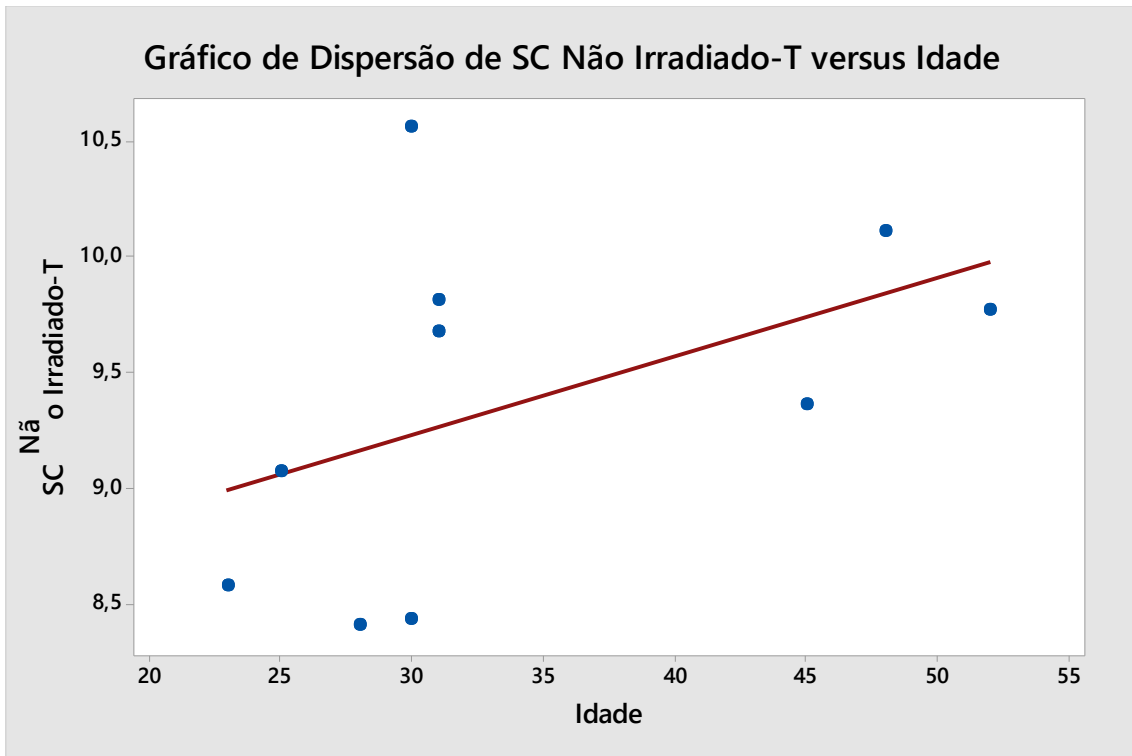
Estabelecida, então, a presença de normalidade entre todos os aspectos de interesse, buscaram-se as retas que explicitem a relação entre eles. Equações de regressão foram geradas a partir dessas, permitindo, a partir de

seus valores, identificar as diferenças entre cada elemento com seu correspondente irradiado, assim como o mesmo para os grupos de idade e de fototipo, também correlacionando esses dois ao mesmo tempo quando necessário. Para obtê-las, associou-se o valor transformado de SC ao valor da idade do participante correspondente. Todas seguiram o mesmo modelo  $y = ax + b$ , no qual  $y$  é o valor de aduto existente e  $x$  a idade do indivíduo.

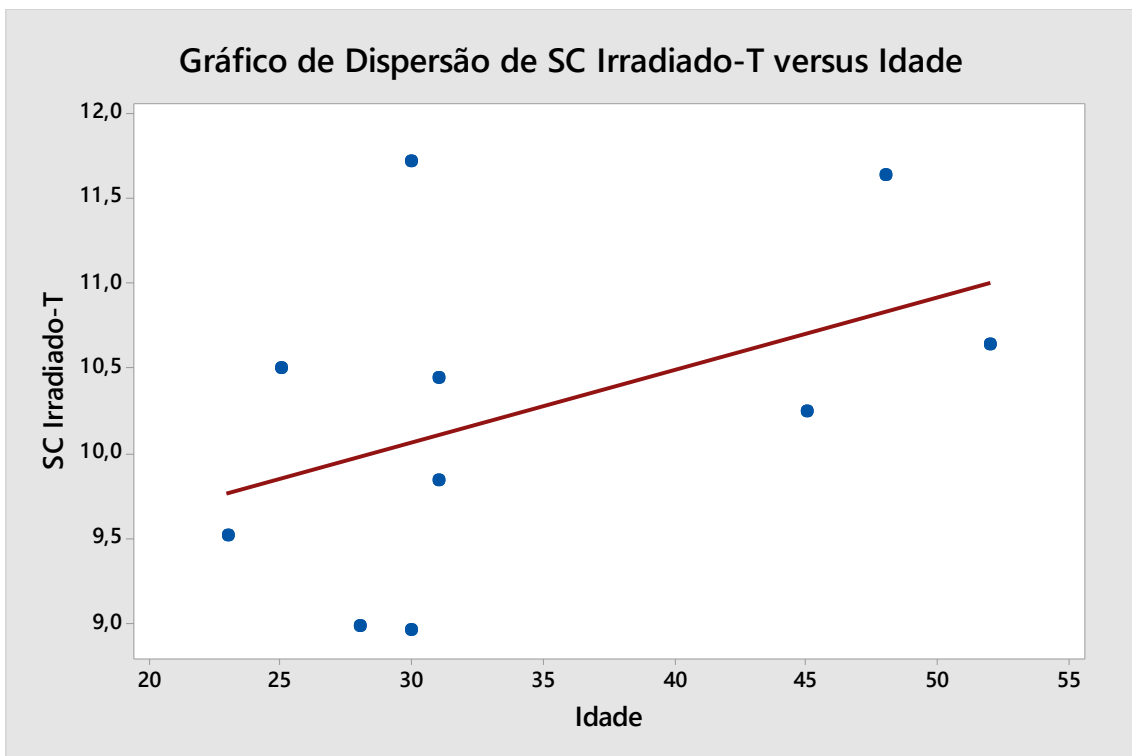
Analisou-se o coeficiente angular ( $a$ ) de cada equação, permitindo verificar a taxa associada de variação da substância de interesse pela idade em cada situação referente a um dos aspectos, isolado ou associado. Por fim, compararam-se tais variações, com base nos valores de  $a$ , em cada conjunto estipulado pela organização entre características semelhantes para identificar como as diferenças entre os aspectos em questão interferiram na variação dos mecanismos de defesa contra radiação UV.

Primeiramente, analisou-se como a progressão da idade interferiu na formação do aduto tiobarbitúrico. Gerou-se, então, as retas referentes ao conjunto não irradiado (Fig. 20) e irradiado (Fig. 21). As equações decorrentes foram, para o grupo não irradiado,  $y = 8,213 + 0,0339x$ , e para o grupo irradiado,  $y = 8,77 + 0,0428x$ .

Nessas, percebeu-se que os valores foram numericamente semelhantes, indicando comportamento similar do SC em geral, antes e depois dos efeitos da radiação UV. Entretanto, observou-se que o grupo irradiado teve variação maior.



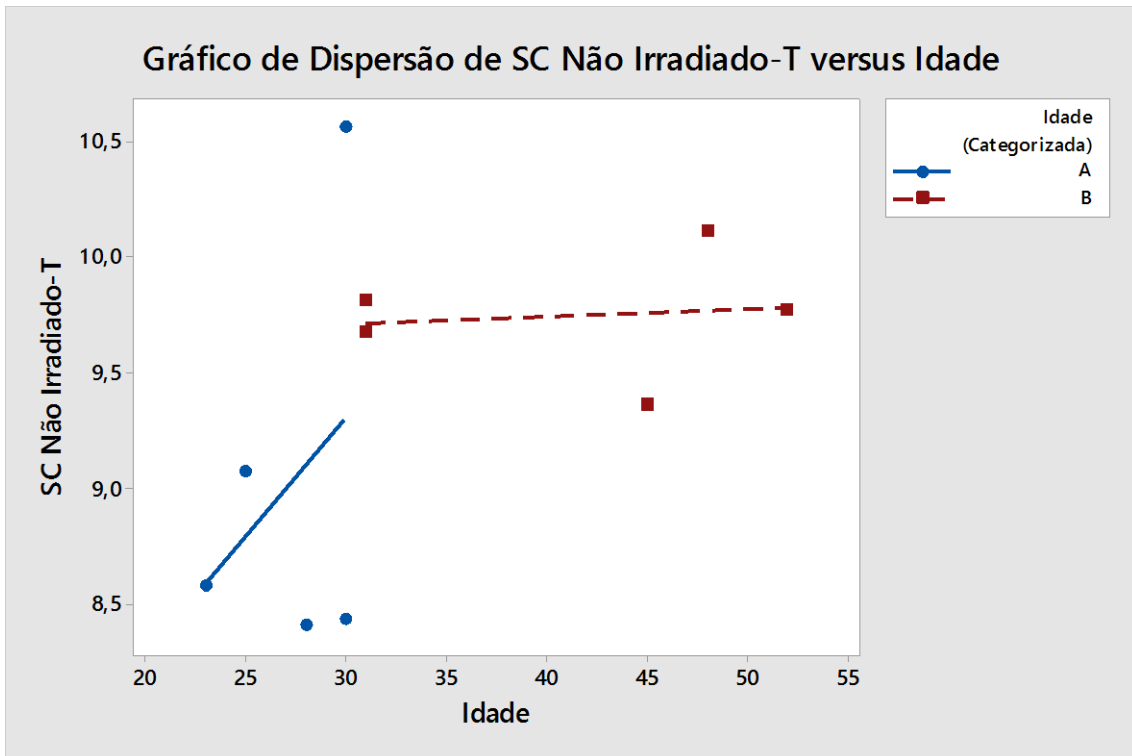
**Fig. 20.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade



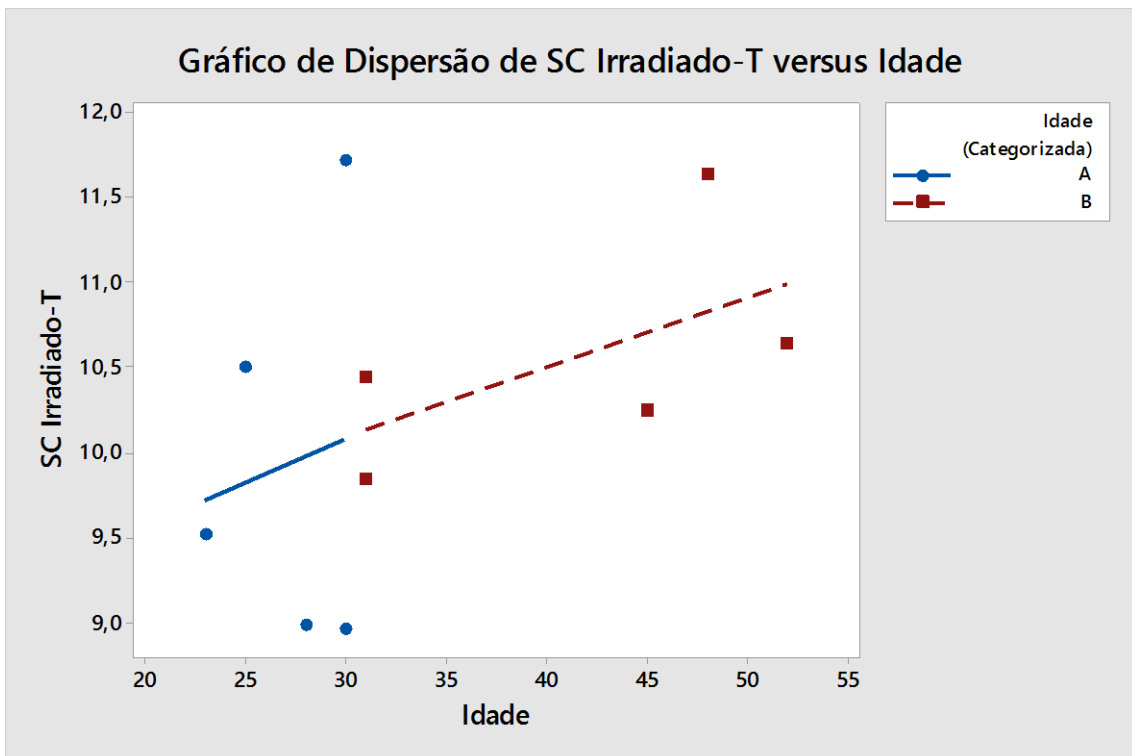
**Fig. 21.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade

Em seguida, analisou-se como a progressão da idade interferiu na formação do aduto tiobarbitúrico, separando cada indivíduo no grupo de idade em qual ele pertence (Fig. 22 e Fig. 23). Geraram-se, então, para os dados não irradiados, as equações  $y = 8,28 + 0,0313x$  para o grupo A, e  $y = 9,69 + 0,0017x$  para o grupo B. Já para os dados irradiados, obtiveram-se as equações  $y = 9,53 + 0,0230x$  para o grupo A, e  $y = 8,97 + 0,0435x$  para o grupo B.

Nessas, percebeu-se que, assim como antes de serem separados nos grupos etários, o padrão de variação das defesas contra a radiação seguiu aquele da análise anterior, pois os coeficientes angulares dos processos anteriores a irradiação são menores aos posteriores. Ainda, observou-se um padrão incomum de resposta quando grupos de idade foram separados. Considerando que, por meio dos dados antes da irradiação, a variação para o grupo A foi maior em relação ao do grupo B. Com os dados posteriores a irradiação, verificou-se uma semelhança entre os valores das variações, também identificando que no grupo de maior faixa etária essa teve tendência para maior valor. Tal resposta sugeriu que, com o avançar da idade, houve maior deficiência nas defesas do SC perante a radiação, sendo o grupo de maior faixa etária mais propenso para o desenvolvimento de lipoperóxidos (Gilchrest, 1982).



**Fig. 22.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação pelos grupos de idade



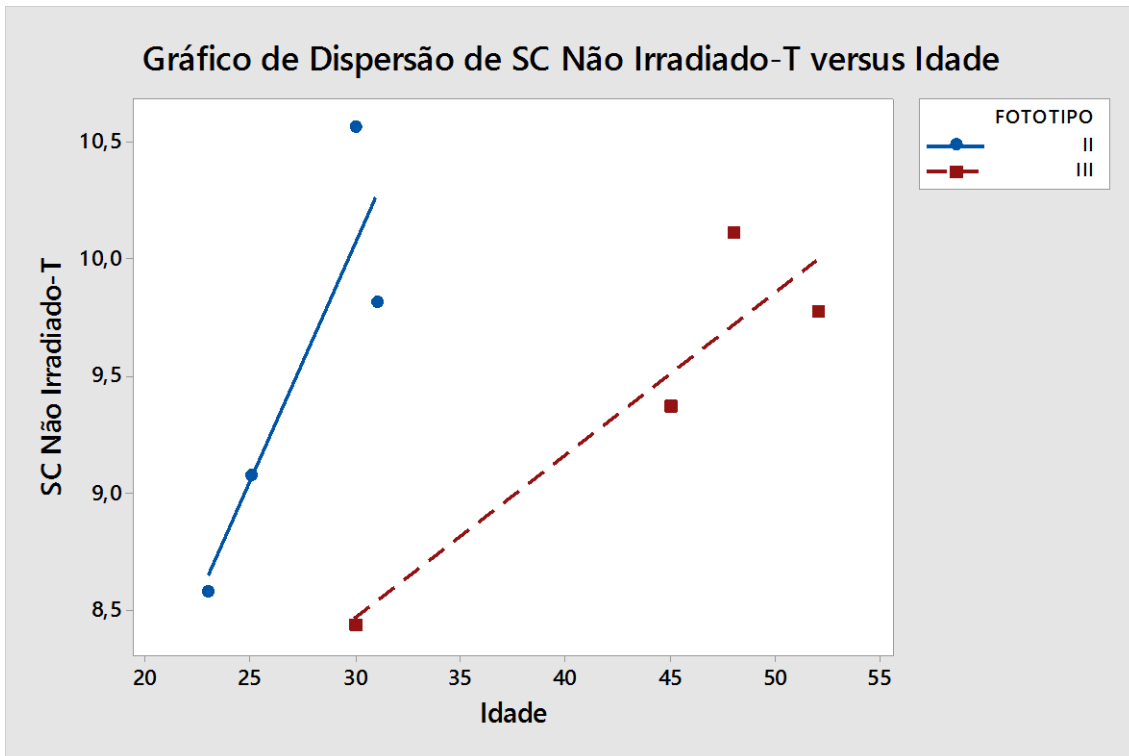
**Fig. 23.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação pelos grupos de idade

Após, analisou-se como a progressão da idade interferiu na formação do aduto tiobarbitúrico, separando cada participante no grupo de fototipo no qual

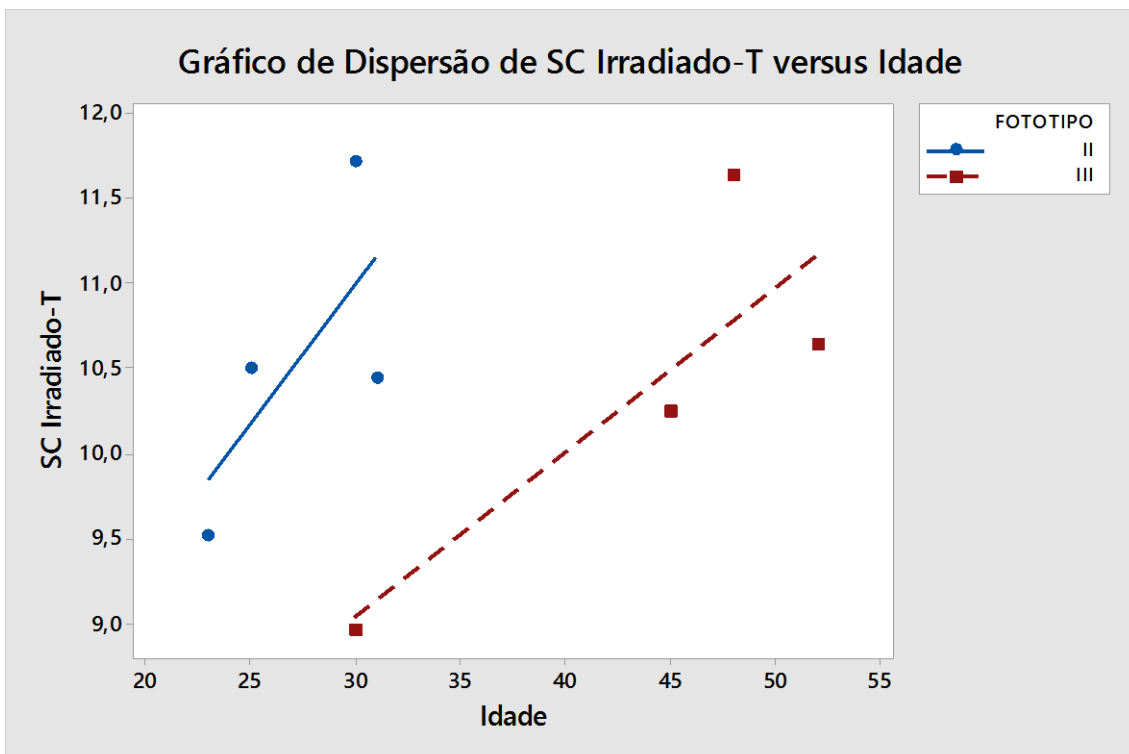
ele pertence (Fig. 24 e Fig. 25). Geraram-se, então, para os dados não irradiados, as equações  $y = 4,02 + 0,2012x$  para o fototipo II e  $y = 6,36 + 0,0698x$  para o fototipo III. Já para os dados irradiados, obtiveram-se as equações  $y = 6,09 + 0,163x$  para o fototipo II, e  $y = 6,13 + 0,0968x$  para o fototipo III.

Tanto antes quanto depois de irradiados, as variações pela idade do fototipo II foram inferiores que as respectivas observadas no fototipo III, pois em ambos momentos perante a irradiação, os valores associados à variação do primeiro grupo foram superiores ao do segundo. Tal resposta indicou que os indivíduos pertencentes ao primeiro grupo acumularam mais facilmente, com o passar dos anos, os produtos de defesa inadequada contra a radiação UV em relação ao outro grupo em questão. Igualmente, também possuíam uma defesa menos eficaz perante tal estresse do que o outro grupo, uma vez que a variação da defesa com a idade foi maior do que o segundo grupo (Lu, et al., 1996).

Tal resposta permite sugerir que, pertencentes aos grupos de fototipo mais baixo seriam mais propensos aos efeitos deletério da radiação em comparação aos indivíduos com maiores quantidades de melanina (Lu, et al., 1996).



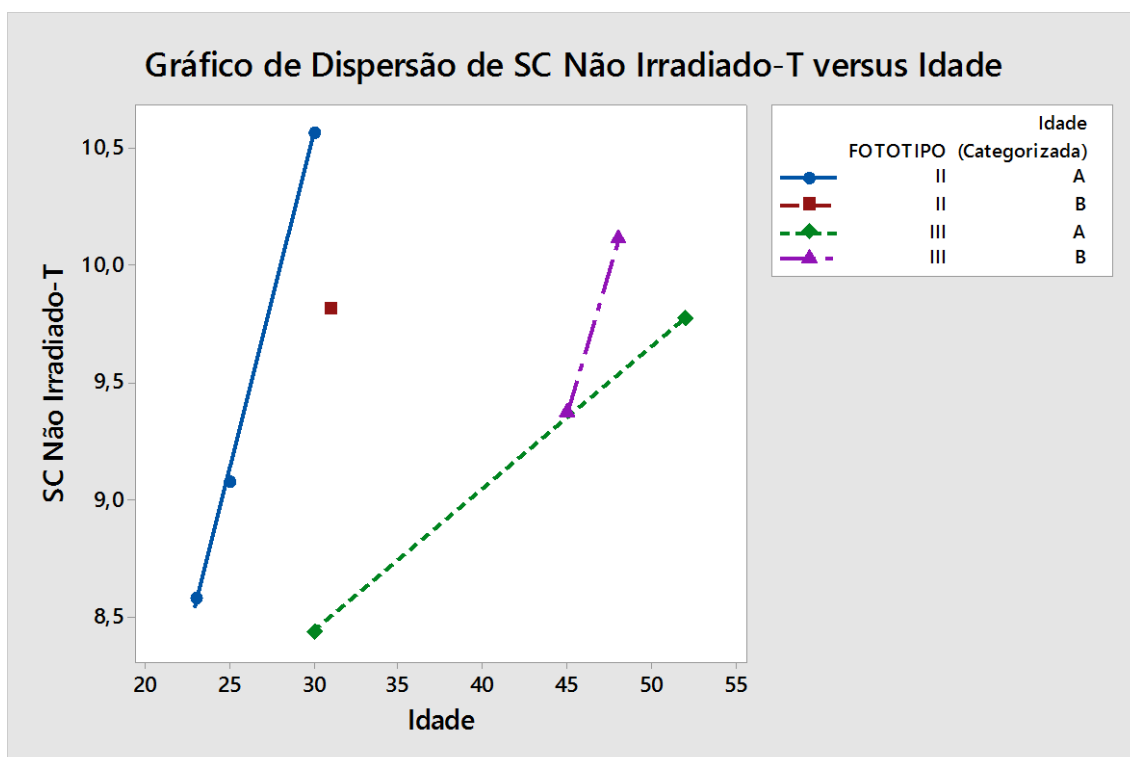
**Fig. 24.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação pelos grupos fototipo



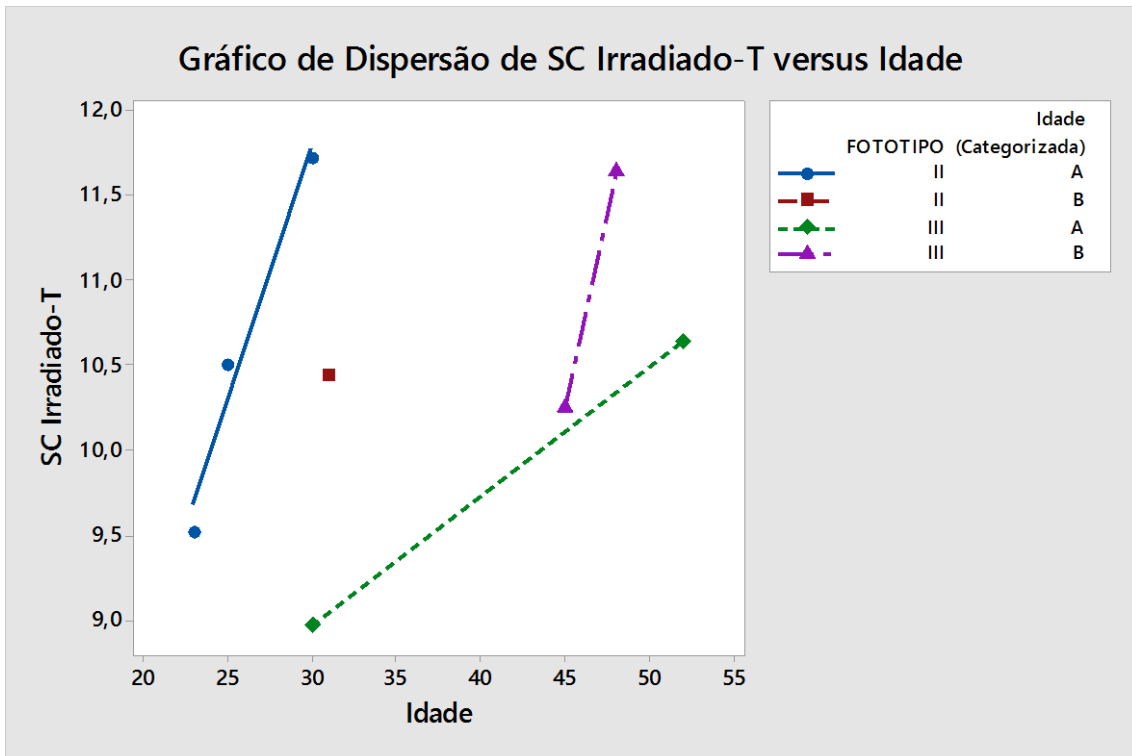
**Fig. 25.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação pelos grupos de fototipo

Na sequência, avaliou-se somente como a progressão da idade interferiu na formação do aduto tiobarbitúrico, agora separando cada indivíduo em grupo de idade e fototipo simultaneamente (Fig. 26 e Fig. 27). Obtiveram-se para os dados não irradiados, as equações  $y = 1,951 + 0,2864x$  para o grupo A e fototipo II, e  $y = -4,851 + 0,4730x$  para o grupo B e fototipo II,  $y = 6,606 + 0,06084x$  para o grupo A e fototipo III, e  $y = -1,77 + 0,2475x$  para o grupo B e fototipo III. Já para os irradiados, calcularam-se as equações  $y = 2,77 + 0,2998x$  para o grupo A e fototipo II, e  $y = -10,83 + 0,686x$  para o grupo B e fototipo II,  $y = 6,668 + 0,0763x$  para o grupo A e fototipo III, e  $y = -10,58 + 0,463x$  para o grupo B e fototipo III.

Quando as duas características foram analisadas juntamente, comparando cada associação em relação a sua posição temporal perante a irradiação, percebeu-se que, em todos os conjuntos, houve semelhança no valor relacionado a antes e depois da irradiação, com o primeiro sendo menor que o seguinte para todos. Deduziu-se que, conforme maior faixa etária, maior a acumulação dos produtos da peroxidação lipídica e, também, possuíram facilidade maior para formá-los depois de irradiado, indicando fragilidade perante a capacidade de proteção contra a radiação UV.



**Fig. 26.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC não irradiado pela idade, com separação em grupos de fototipo associados aos de idade



**Fig. 27.** Representação gráfica da evolução de quantidade de ácido tiobarbitúrico em SC irradiado pela idade, com separação em grupos de fototipo associados aos de idade

Comparando a diferença entre os valores do coeficiente angular pré e pós exposição à radiação de cada grupo, verificaram ser as disparidades existentes e quais eram mais suscetíveis a intempérie física. Nisso, obtiveram-se os dados presentes na Tabela 3:

**Tabela 3:** Valores de coeficiente angular das retas que associam fototipo e idade

| <b>Grupo</b> | <b>Valor Pré-Irradiação</b> | <b>Valor Pós-Irradiação</b> | <b>Diferença</b> |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------|
| A/II         | 0,2864                      | 0,2998                      | 0.0134           |
| B/II         | 0,4730                      | 0,686                       | 0.213            |
| A/III        | 0,06084                     | 0,0763                      | 0.0155           |
| B/III        | 0,2475                      | 0,463                       | 0.2155           |

Foi possível verificar que, para ambos fototipos, os grupos de menor faixa etária possuíram as menores diferenças entre as variações pela idade. Tal perfil demonstrou que, como observado antes, grupos de maior faixa etária tiveram uma facilidade para a formação dos produtos de peroxidação lipídica, indicando propensão maior para os danos provenientes da radiação UV no SC.

Em função das variações, foi permitido verificar quais os grupos com menor e maior tendência para os danos provocados pela exposição à radiação, por meio da formação do malonaldeído. Respectivamente, os mais e menos resistentes à radiação UV são foram aqueles de menor idade pertencentes ao fototipo II e os mais de maior idade pertencentes ao fototipo III.

## Discussão

O envelhecimento da pele é um dos desafios da indústria cosmética, que desenvolve produtos diversos para retardar tal processo natural. Ao conhecer um de seus causadores, a peroxidação lipídica, pode-se descobrir mais não apenas sobre a pele, mas também sobre a ação da radiação UV e sua dose que interfere nesse processo, e as moléculas que ela gera no organismo (Alonso, 2009). Com esse conhecimento, pode-se desenvolver substâncias e técnicas para aprimorar a proteção contra os radicais formados e até mesmo a causa de geração deles. Além disso, os resultados também apresentaram alternativas nos quais a pesquisa clínica possa identificar a peroxidação lipídica do SC dos grupos analisados (Benefeldt et al., 2007; Alonso et al., 2009; Peres, 2015; De Oliveira et al., 2015).

Por outro lado, o número de voluntários dificultou a análise, tendo a necessidade de transformação de dados sem perda de informação, justificando o tratamento matemático e estatístico adotados nesta pesquisa. Dessa forma, novas investigações são necessárias para expandir tal pesquisa, tanto para ampliar a análise explorada neste trabalho ou, também, para identificar novas frentes de pesquisa, como a análise na diferença fisiológica entre os gêneros.

## **Conclusões**

Constatou-se que a idade e fototipo determinaram diferenças em como o estrato córneo (SC) do indivíduo reage em relação à formação do ácido tiobarbitúrico em função da radiação ultravioleta (UV). Este estresse físico promoveu aumento proeminente na peroxidação lipídica do SC naqueles de faixa etária maior. Ainda, constatou-se que foi maior a formação do aduto naqueles indivíduos cuja quantidade de melanina é reduzida (fototipos mais baixos). Os mais e menos resistentes à formação da peroxidação lipídica do SC perante a radiação UV foram os de menor idade pertencentes ao fototipo III e os de maior idade de fototipo II, respectivamente.

## Referências

- ALONSO, C.; BARBA, C.; RUBIO, L.; SCOTT, S.; KILIMNIK, A.; CODERECH, L.; NOTARIO, J.; PARRA, J. L. An ex vivo methodology to assess the lipid peroxidation in stratum corneum. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 97, n. 2, p. 71-76, 2009. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113440900150X?via%3Dihub>>. Acesso em 6 de agosto de 2018.
- BOIREAU-ADAMEZYK, E.; BAILLET-GUFFROY, A.; STAMATAS, G. N. 'Age-dependent changes in stratum corneum barrier function'. **Skin Research and Technology**. v20, p.409-415, 2014. Disponível < <https://doi.org/10.1111/srt.12132>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2020.
- BENEFELDT, E.; HANSEN, S. H.; VØLUND, A.; MENNÉ, T.; Shah, V. P. 'Bioequivalence of topical formulations in humans: Evaluation by dermal microdialysis sampling and the dermatopharmacokinetic method'. **Journal of Investigative Dermatology**. v.127, n.1, p. 170-178, 2007. Disponível em <doi: 10.1038/sj.jid.5700495>. Acesso em 29 de agosto de 2018
- CERIMELE, D.; CELLENO, L.; SERRI, F. Physiological changes in ageing skin. **British Journal of Dermatology**. v 22, s. 35, p 13-20, 1990. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1990.tb16120.x>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2020.
- DE OLIVEIRA, C. A.; PERES, D. Á.; RUGNO, C. M.; KOJIMA, M.; PINTO, C. A. S. O.; CONSIGLIERI, V. O.; KANEKO, T. M.; ROSADO, C.; MOTA, J.; VELASCO, M. V. R.; BABY, A. R. 'Functional photostability and cutaneous compatibility of bioactive UVA sun care products'. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 148, p. 154-159, 2015. Disponível em <doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.04.007>. Acesso em 29 de agosto de 2018.
- FLOR J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. PROTETORES SOLARES. **Quim. Nova**. v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v30n1/26.pdf>>. Acesso em 7 de agosto de 2018.
- GILCHREST, B. A. Age-associated Changes in the Skin. **Journal of the American Geriatrics Society**. V 30, N. 2/ p. 139 a 143, 1982. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1982.tb01289.x>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2020.
- LU, H.; EDWARDS C.; GASKELL, S.; PEARSE, A.; MARKS, R. 'Melanin content and distribution in the surface corneocyte with skin phototypes'. **British Journal of Dermatology**. v 135: p. 263-267, 1996. Disponível em

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2133.1996.tb01157.x>> Acesso em 19 de fevereiro de 2020

OMA, N.A.; BUSTER, K.; SANCHEZ, M.; HERNANDEZ, C.; KURDU, R. V.; CHIU, M.; ROBERTS, W. E.; DRAELOS, Z. D.; BHUSHAN, R.; TAYLOR, S. C.; LIM, H. W. 'Skin cancer and photoprotection in people of color: A review and recommendations for physicians and the public'. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 70, n.4, p 748-762, 2014. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.11.038>> Acesso em 8 de junho de 2019.

PAES, A.T. 'Por dentro da estatística'. **einstein: Educação Continuada em Saúde**. v. 7(1 Pt 2): p. 3-4, 2009. Disponível em [http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/1173-ECv7n1\\_3-4.pdf](http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/1173-ECv7n1_3-4.pdf). Acesso em 11 de janeiro de 2020.

PERES, D. D'A. **Ácido ferúlico em protetores solares : desenvolvimento e eficácia multifuncional in vitro, ex vivo e in vivo**. 2015. 109f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em <[http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-03092015-075933/publico/Daniela\\_Dalmeida\\_Peres\\_DO\\_Original.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-03092015-075933/publico/Daniela_Dalmeida_Peres_DO_Original.pdf)>. Acesso em 29 de agosto de 2018

POTARD, G.; LAUGEL C.; SCHAEFER H.; MARTY J.-P. The Stripping Technique: In vitro Absorption and Penetration of Five UV Filters on Excised Fresh Human Skin'. **Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology**. v.13, p. 336–344, 2000. Disponível em <<https://www.karger.com/Article/Pdf/29941>>. Acesso em 6 de agosto de 2018

ROBBINS, S. L; KUMAR, V; ABBAS, A. K; FAUSTO, N; ASTER, J. C. **Robbins & Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças**, p. 1174, cap 25, 8ª edição, 2ª tiragem, Rio de Janeiro, Elsevier, 2010

SACHDEVA, SILONIE. 'Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology'. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**. v.75, p 93-96, 2009. Disponível em <<http://www.ijdv.com/article.asp?issn=0378-6323;year=2009;volume=75;issue=1;spage=93;epage=96;aulast=Sachdeva>>. Acesso em 30 de janeiro de 2020.

WEIGGMANN, H.-J.; LADEMANN, J.; MELFERT, H.; SCHAEFER, H.; STERRY, W. 'Determination of the Horny Layer Profile by Tape Stripping in Combination with Optical Spectroscopy in the Visible Range as a Prerequisite to Quantify Percutaneous Absorption'. **Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology**. v.12, p. 34-45, 1999. Disponível em <<https://www.karger.com/Article/Pdf/29844>>. Acesso em 6 de agosto de 2018.

São Paulo, 20 de junho 2020.

Handwritten signature of Victor Hugo Santos Mazza in blue ink.

Victor Hugo Santos Mazza  
Graduando

Handwritten signature of André Rolim Baby in blue ink.

André Rolim Baby  
Orientador