

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE LOCAL E SISTÊMICA “EX-VIVO” APÓS APLICAÇÃO TÓPICA DE UM FOTOPROTETOR

**Nancy Gislaine Arruda Crespo<sup>1</sup>; Celso Vataru Nakamura<sup>2</sup>; Jackeline Tiemy Guinoza Siraichi<sup>3</sup>**

**RESUMO:** A utilização diária de um fotoprotetor é o modo empregado para a proteção efetiva contra os efeitos indesejado do sol, porém mesmo com a utilização deste produto, a incidência de câncer têm aumentado. Uma das explicações para isso poderia ser a presença de metais pesados na formulação, sua toxicidade no organismo, bem como a utilização inadequada do produto na pele. Visto isso a ANVISA recomenda que todos os produtos cosméticos antes de serem comercializados devem ser submetidos a testes de toxicidade para verificação da ausência de riscos tóxicos do produto para os usuários. Neste trabalho foi avaliada a toxicidade local e sistêmica da formulação de um protetor solar através de uma pesquisa experimental com a utilização de 28 coelhos brancos da raça Nova Zelândia, adultos, provenientes da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá com peso médio de 2,5 Kg. Estes animais foram divididos em dois grupos, grupo controle e grupo tratado que foram submetidos a tratamento por 90 dias com a aplicação tópica da formulação, diariamente, nas áreas côncavas das orelhas esquerda e aplicação de água destilada nas orelhas direita dos animais no grupo tratado. No grupo controle foi aplicado água destilada em ambas as orelhas. Após período experimental foram realizadas análises histológicas (potencial comedogênico, acantose e presença de infiltrados inflamatórios) e patológicas. Concluiu-se que o produto testado não apresentou toxicidade local nem sistêmicas significativas após a sua aplicação tópica, podendo esta formulação contribuir para o desenvolvimento de um fotoprotetor seguro e eficiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fotoprotetor; Toxicidade local; Toxicidade sistêmica.

### INTRODUÇÃO

Dentre todos os efeitos da radiação solar, a fotocarcinogênese é o mais estudado devido à diminuição da concentração relativa do ozônio e o conseqüente aparecimento de novos casos de carcinomas de pele. (NEVES, 2008).

Quando a radiação UV atinge a pele (UVA e UVB) estas promovem alterações que podem ser benéficas ou maléficas no ser humano. Quando benéficas podem ocasionar o espessamento da camada córnea, aumento da produção de suor, produção de melanina, e quando maléficas têm-se efeitos como o eritema solar, imunossupressão, fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese.(LAUTENSCHLAGER; 2007; GLOBAL SOLAR UV INDEX, 2002).

---

1 Discente do Curso de Tecnologia em Estética e Cosmética do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. Programa de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC). nancygislaine@hotmail.com

2 Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. cvnakamura@uem.br

3 Orientadora e docente do Curso de Tecnologia em Estética e Cosmética do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. jackeline.guinoza@cesumar.br

Com a diminuição da camada de ozônio têm-se os aumentos da incidência da radiação ultravioleta sobre a superfície da Terra, sendo necessário à proteção efetiva contra estas radiações disponível na forma de formulações para uso tópico, contendo filtros solares, conhecidos como fotoprotetores (SOUZA *et al.*, 2005).

O uso de extratos naturais padronizados e de atividade farmacológica/cosmética comprovada estão sendo amplamente estudados para a sua utilização em produtos cosméticos, inclusive para formulação de filtros solares e essa área tem ganhado mais importância econômica devido ao desenvolvimento de substâncias cada vez mais seguras e efetivas (SEHN *et al.*, 2003). Porém para que estas substâncias sejam seguras é necessário que estes produtos seja testados em relação a sua toxicidade.

A utilização diária de um fotoprotetor é o modo empregado para a proteção contra os efeitos indesejado do sol, porém mesmo com a utilização deste produto, a incidência de câncer também tem aumentado. Uma das explicações para isso poderia ser a presença de metais pesados na formulação, sua toxicidade no organismo, bem como a utilização inadequada do produto na pele. Visto isso a ANVISA recomenda que todos os produtos cosméticos antes de serem comercializados devem ser submetidos a testes de toxicidade aguda e crônica para verificação da ausência de riscos tóxicos do produto para os usuários. Neste trabalho foi avaliada a presença ou não destes efeitos tóxicos no organismo, contribuindo no desenvolvimento de uma formulação de um novo fotoprotetor seguro e eficiente.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Todo o procedimento experimental foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura do Laboratório de Inovação Tecnológica para o Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos da Universidade Estadual de Maringá.

Para esta avaliação foram utilizados 28 coelhos brancos da raça Nova Zelândia provenientes da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, adultos, com peso médio de 2,5 Kg. Estes animais foram divididos em dois grupos, grupo controle e grupo tratado composto por 14 animais cada, sendo 7 coelhos fêmea e 7 coelhos macho.

Os animais foram tratados e mantidos durante 90 dias na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá em gaiolas individuais recebendo água filtrada e ração à vontade, sendo este procedimento experimental aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – UEM.

A formulação do fotoprotetor foi aplicada diariamente nas áreas côncavas das orelhas esquerda e nas orelhas direita dos animais foi aplicado água destilada nos coelhos do grupo tratado. No grupo controle foi aplicado água destilada em ambas as orelhas.

## **AValiação Histológica**

No 91<sup>o</sup> dia os animais foram anestesiados e mortos por dose letal do anestésico tiopental sódico, sendo retiradas 2 amostras de 3 cm de comprimento das orelhas direita e esquerda dos coelhos e fixadas em solução Bouin. Após 12 h as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol até o clareamento dos cortes das orelhas. Em seguida as amostras foram incluídas em parafina e realizada a microtomia com cortes de 7 µm de espessura e coloração por Hematoxilina-Eosina (HE).

Na análise histológica foi avaliados o potencial comedogênico (avaliação do grau que um produto tem em formar comedos), a acantose (aumento na espessura da epiderme) e presença de infiltrados inflamatórios.

## **AVALIAÇÃO PATOLÓGICA**

Ao final do período experimental foram realizadas a retirada e fixação em Bouin dos órgãos: fígado, baço e rim destes animais para avaliação histopatológica. Após 12 h de fixação, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol até o clareamento das amostras dos órgãos e em seguida incluídas em parafina e realizada a microtomia com cortes de 7 µm de espessura e coloração pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). Após a coloração foi realizada a análise da amostra e comparação da mesma com o grupo controle.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA PELE DE ORELHA DE COELHO APÓS USO TÓPICO DA FORMULAÇÃO DO FOTOPROTETOR**

Na análise histológica em todos os grupos, tanto controle como tratado foi observadas a presença de comedos pequenos, médios e grandes como mostra a Figura 01, porém conforme o tempo de utilização do produto estes apareceram em menor ou maior proporção. Quando analisado os dados segundo a metodologia do Laboratório Evic-Ceba, Laboratoire de Recherche Et D'Experimentation (TRUITE et al, 2007), observou-se que não houve alterações significativas na pele das orelhas dos coelhos tratados quando comparados com o controle que foi utilizado apenas água destilada. Em relação à avaliação do potencial comedogênico no grupo tratado houve a presença de comedos em um grau suave (11,84) quanto comparado com o controle (7,3), sendo não comedogênico quando este valor for menor ou igual a 10.

Em relação à presença de acantose e de infiltrado inflamatório, nenhum dos grupos tanto tratado como controle apresentaram alterações significativas como mostra a Tabela 01.

### **AVALIAÇÃO PATOLÓGICA APÓS USO TÓPICO DA FORMULAÇÃO DO FOTOPROTETOR**

A avaliação histológica das lâminas dos órgãos: baço, rim e fígado, mostraram que não houveram alterações significativas nestes órgãos quando comparados com o grupo controle (Figura 02).

No baço (Figuras 2A e B) houve a preservação da cápsula e das várias trabéculas ramificadas e incompletas que dividem este órgão em vários compartimentos ligados entre si. A maior parte do baço encontrou-se ocupada pela polpa vermelha, bem delimitada, com grande quantidade de eritrócitos, e em meio à polpa vermelha encontrou-se a polpa branca com a artéria central da polpa branca também preservada.

No fígado (Figuras 2C e D) pode-se observar a presença de cordões de hepatócitos aparentemente com a morfologia normal tanto no grupo tratado quanto controle assim como a tríade portal: ducto biliar, ramos da veia porta e artéria hepática preservadas.

No rim como mostram as Figuras 2E, F, G e H pode-se observar a região medular e região cortical com os corpúsculos renais bem como os túbulos preservados.

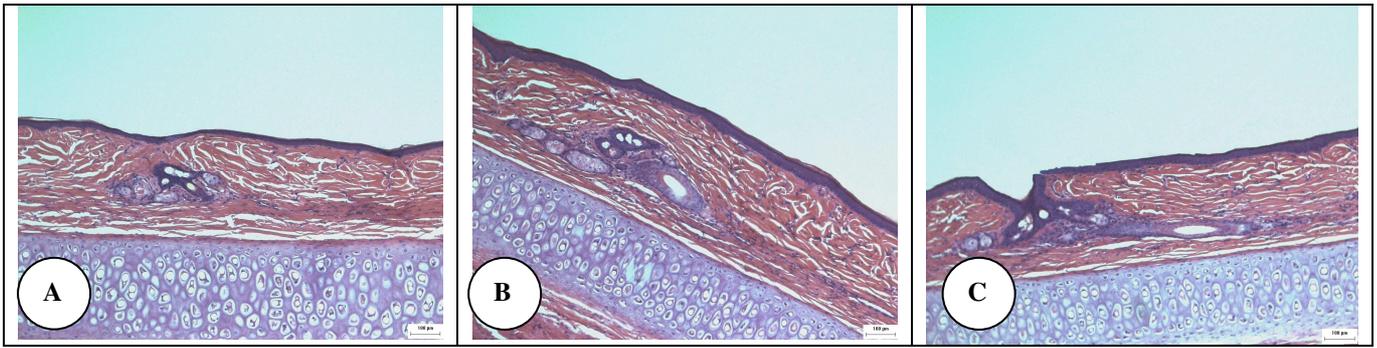


Figura 01: Cortes histológicos de orelhas de coelhos evidenciando diferentes tipos de comedos. Em A (comedo pequeno) em B (comedo médio) e em C (comedo grande). Barra = 100  $\mu$ m - Coloração pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE).

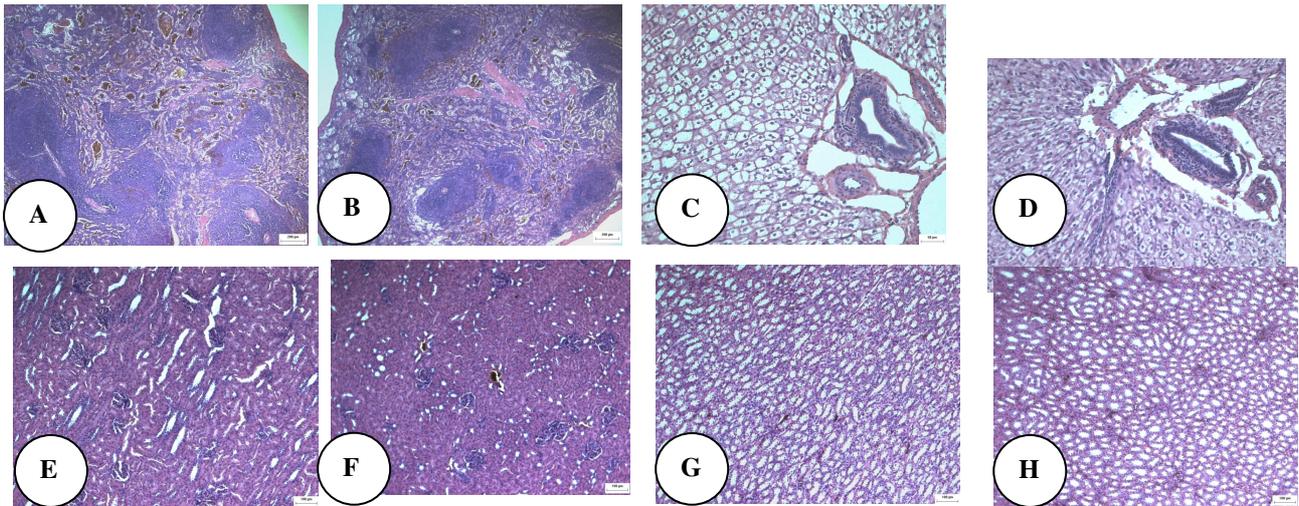


Figura 02: Cortes histológicos dos órgãos dos coelhos controle e tratado. Em (A) baço do grupo controle; (B) baço do grupo tratado; (C) fígado do grupo controle; (D) fígado do grupo tratado; (E) rim - região cortical do grupo controle; (F) rim - região cortical do grupo tratado; (G) rim - região medular do grupo controle e (H) rim - região medular do grupo tratado. Barra = 100  $\mu$ m - Coloração pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE).

Tabela 01: Avaliação histológica das orelhas dos grupos controle e tratado (n=14/grupo).

Grupo	Potencial Comedogênico	Acantose	Infiltrado Inflamatório
Controle	7,3 $\pm$ 3,33	0	0
Tratado	11,84 $\pm$ 5,04	0	0

Análise pelo método One Way ANOVA- com significância de (\*)  $p < 0,05$

## CONCLUSÃO

Com o aumento progressivo nas últimas décadas dos casos de câncer de pele, a fotoproteção ganhou destaque em toda mídia. O uso de protetor solar tornou-se imprescindível por todas as pessoas e em todas as épocas do ano nos dias atuais.

Com a diminuição da camada de ozônio, principal responsável pela absorção de radiação UV, estamos mais expostos as UVB, diretamente relacionadas ao câncer de pele e UVC potencialmente mais carcinogênica que a UVB, pois suas incidências têm aumentado progressivamente sobre a Terra.

Como os testes realizados no presente estudo, não foram identificadas alterações macroscópicas visíveis significativas na pele das orelhas de coelho, alterações histológicas significativas em relação à presença de comedos, eritema, descamação epitelial e reação inflamatória e nem alterações patológicas nos órgãos analisados, sendo

concluído que o produto não apresentou toxicidade local e sistêmica após a aplicação tópica do produto na pele de orelha de coelhos, podendo ser utilizada para a formulação de um fotoprotetor seguro e eficiente.

## REFERÊNCIAS

GLOBAL SOLAR UV INDEX: a practical guide; World Health Organization; 2002.  
Disponível em: <http://www.who.int/inf/en/pr-2002-60.html>. Acesso em 03 de março de 2008.

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H. C.; PITTELKOW, M. R. Photoprotection. **Lancet** v. 370, p. 528-537, 2007.

NEVES, K. Efeitos do sol sobre a pele. . **Cosmetics & Toiletries** (edição temática: fotoprotetor em português), p. 14-17, março/2008.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R. R. D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (*Asteraceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15 (1), p. 36-38, 2005.

SEHN, E.; SILVA K. C.; RETUCI, V. S.; MEDINA, A. N.; BENTO, A. C.; BAESSO, M. L.; STORCK, A.; GESZTESI, J. L. Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment. **Review of Scientific Instruments**, v. 74 (1), p. 1-3, 2003.

TRUIITE, C. V.; PHILIPPSEN, G. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; NATALI, M. R. M.; DIAS FILHO, B. P.; BENTO, A. C.; BAESSO, M. L.; NAKAMURA, C.V. Percutaneous Penetration, Melanin Activation and Toxicity Evaluation of a Phytotherapeutic Formulation for Vitiligo Therapeutic. **Photochemistry and Photobiology**, v. 83, p. 1-8, 2007.