

Artigo Original

Autores:

Farida Tabri¹
Anis Irawan Anwar¹
Nasrum Massi²
Ilham Jaya Patellong³
Rahmawati Anwar¹

¹ Departamento de Dermatologia e Venereologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Hasanuddin - Macac ar, Indonésia.

² Departamento de Microbiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Hasanuddin - Macac ar, Indonésia.

³ Departamento de Fisiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade Hasanuddin - Macac ar, Indonésia.

Correspondência:

Farida Tabri
Department of Dermatology and Venereology
Faculty of Medicine, Hasanuddin University
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 11,
Tamalanrea Indah, Tamalanrea,
Kota Makassar, Sulawesi Selatan
90245, Indonesia
Email: farida.tabri.dv@gmail.com

Data de recebimento: 25/03/2018

Data de aprova o: 11/05/2018

Trabalho realizado no Departamento de Dermatologia e Venereologia e no Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Hasanuddin, e no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de Hasanuddin - Macac ar, Indonésia.

Suporte Financeiro: Nenhum.

Conflito de Interesses: Nenhum.



Perfil de ácidos graxos livres em pacientes com acne vulgar

Profile of free fatty acid in patients with acne vulgaris

DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20181021168>

RESUMO

Introdu o: A acne vulgar   um distúrbio inflamatório que afeta a unidade pilosebácea, apresentando alta prevalência entre adultos jovens. Estudos sugerem que os ácidos graxos livres (AGL) podem influenci la, contudo, sua patogênese ainda não   totalmente conhecida.

Objetivo: Analisar a correla o entre o nível de ácidos graxos livres e a gravidade da acne vulgar.

Métodos: Quarenta e três alunas de ensino médio portadoras de acne leve, moderada e grave foram incluídas neste estudo. O nível de ácidos graxos livres, representado pelo nível de ácido palmítico, foi medido por cromatografia gasosa enquanto a detec o do *Propionibacterium acnes* foi realizada através do PCR. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para analisar a mediana da diferença do nível de ácido palmítico entre os grupos com diferentes graus de severidade da acne vulgar. Os resultados foram considerados significativos para valores de $p < 0,05$.

Resultados: Catorze pacientes (32,6%) apresentaram acne vulgar leve, enquanto 14 e 15 pacientes apresentaram acne vulgar moderada e grave, respectivamente. Os grupos com acne grave e moderada apresentaram um nível de ácido palmítico significativamente maior quando comparado ao grupo com acne leve ($p < 0,05$). O nível de ácido palmítico não foi associado   presença de *P. acnes*.

Conclusões: O aumento do nível de ácido palmítico mostrou-se associado   gravidade da acne. Assim, os níveis de AGL podem ser usados como marcadores para determinar a gravidade da acne vulgar.

Palavras-Chave:  cidos graxos n o esterificados, Acne vulgar, *Propionibacterium acnes*, Rea o em cadeia da polimerase

ABSTRACT

Introduction: *Acne vulgaris* is an inflammatory disorder that affects the pilosebaceous gland with high prevalence among young adults. Studies have suggested that FFA may influence acne vulgaris. However, the pathogenesis of acne is not yet fully known.

Objective: To analyze the correlation between free fatty acid and acne vulgaris severity level.

Methods: Forty-three female high school students with mild, moderate, and severe acne were included in this study. Free fatty acid level, represented by palmitic acid level, was measured using gas chromatography and PCR examination was conducted to detect *Propionibacterium acnes*. Mann-Whitney test was used to analyze the median palmitic level difference between groups with different acne vulgaris severity. A p -value < 0.05 was considered as significant.

Results: Fourteen patients (32.6%) had mild acne vulgaris, while 14 and 15 patients had moderate and severe acne vulgaris, respectively. The severe and moderate acne group showed significantly higher palmitic acid level compared to the mild acne group ($p < 0.05$). The level of palmitic acid was not associated with the presence of *P. acnes*.

Conclusions: Increased palmitic acid level was found to be associated with acne severity. Thus, FFA levels may be used as a marker to determine acne vulgaris severity

Keywords: Acne vulgaris; Fatty acids, nonesterified; Polymerase chain reaction; *Propionibacterium acnes*

INTRODUÇÃO

A acne vulgar é uma doença inflamatória crônica das unidades pilosebáceas¹; as lesões podem ser não-inflamatórias (comedões abertos e fechados) ou inflamatórias (pápulas e pústulas).² A acne vulgar ocorre principalmente na adolescência e pode causar hiperpigmentação e formação de cicatrizes pós-inflamatórias.³ Um estudo realizado por Bhat e colaboradores mostrou que a acne pode ser encontrada em cerca de 20% dos adultos jovens. Além disso, a acne tem alta persistência, sendo que 43% das pessoas com mais de 30 anos de idade ainda apresentam acne. A acne também tem uma forte predisposição genética, sendo que 80% dos casos podem ter sido herdados de parentes próximos.³

A patogênese da acne ainda não é totalmente compreendida. No entanto, quatro mecanismos (hiperqueratinização folicular, colonização por *Propionibacterium acnes*, produção de sebo e complexos mecanismos inflamatórios envolvendo o sistema imune inato e adaptativo) têm sido amplamente aceitos como processos subjacentes à acne.⁴ Suspeita-se que o *P. acnes* possa ter um papel importante na patogênese da acne, pois causa dano tecidual através da liberação de várias enzimas, entre elas a lipase, que decompõe os triglicérides em glicerol e ácidos graxos livres (AGL), levando a um influxo de neutrófilos através da quimiotaxia.⁵ Um estudo mostrou que os AGLs induzem o crescimento de *P. acnes* e a queratinização folicular anormal.⁶ Acredita-se que os AGLs interfiram na dinâmica do cálcio intracelular nos queratinócitos foliculares e na bicamada lipídica intercelular epidérmica.⁷ Entre todos os tipos de AGLs, o ácido palmítico se mostra o mais abundante.⁸ Tem sido demonstrado que o ácido palmítico pode estimular a liberação de várias citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a hiperqueratinização do ducto pilosebáceo e para a inflamação na acne.⁹

Curiosamente, outro estudo realizado por Desboies et al., mostrou que os AGLs têm a capacidade de impedir a fixação bacteriana na pele. O mecanismo de ação desses ácidos graxos ocorre geralmente nas membranas celulares, através do sistema de transporte ativo de elétrons e da fosforilação oxidativa. Os AGLs também inibem a atividade enzimática, a entrada de nutrientes, a formação de peroxidases e a auto-oxidação. Os AGLs também têm o potencial de ajudar a reduzir a gravidade da acne vulgar.¹⁰

Esses dados conflitantes estimulam mais investigações acerca do papel dos AGLs na patogênese da acne. Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar a associação entre os AGLs na pele facial – tendo o ácido palmítico como componente aferido – com a gravidade da acne e a presença de *P. acnes*.

MÉTODOS

Este estudo transversal foi realizado em uma escola de ensino médio, em uma área urbana (cidade de Makassar, Indonésia), entre os meses de julho e agosto de 2017. Após receberem esclarecimentos sobre o estudo, foi solicitado que os indivíduos que concordaram, assinassem um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Ref. Number; 145 /H4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2017, Comitê de Ética da Universidade de

Hasanuddin). Os indivíduos que não haviam feito uso de retinóides, antibióticos ou anti-inflamatórios no mês anterior foram avaliados quanto à gravidade da acne segundo os Critérios de Lehman e classificados em acne vulgar *leve*, *moderada* ou *grave*.¹¹ Tais indivíduos também receberam questionários para descrever os antecedentes familiares de acne e os hábitos alimentares.

O sebo foi extraído utilizando-se um papel absorvente humedecido em acetona e éter dietílico na proporção de 1:1 e, subsequentemente, metilado com solução de hidróxido de feniltrimetilamina a 0,2M em metanol. A cromatografia gasosa foi utilizada para examinar o produto. A referência-padrão utilizada foi o componente FAME Mix do Supelco® 37. A concentração-padrão utilizada para o ácido palmítico foi de 601ppm, injetados no cromatógrafo gasoso. A análise foi feita com auxílio de um *autosampler* (Ultra Shimadzu GC-MS QP 2010) com um injetor *splitless*. As separações foram realizadas usando a coluna capilar SH-Rxi-5Sil MS (30m x 0.25mm). O gás Hélio foi utilizado como gás de transporte a taxas de fluxo de 1,99 ml/min e um índice *splitless* de 1:10. A temperatura do injetor foi ajustada em 2.500°C. A temperatura do forno foi programada para 1.400°C e após 10 minutos aumentada para 2.500°C, com um fluxo de 70°C/min. Essa temperatura foi mantida por 10 minutos adicionais, resultando em um tempo total de análise de 35,71 minutos. A espectrometria de massas foi medida numa faixa correspondente a 40-500 m/z, ao passo que as temperaturas da fonte iônica e da interface, foram aferidas em 2.100°C e 2.550°C, respectivamente, com tempo de corte do solvente de 3 minutos. Uma amostra de lesões de comedões foi analisada quanto à presença de *P. acnes* através de PCR (Biorad®, Califórnia, EUA) de acordo com a seguinte sequência de *primers*: *forward* (PR 264): 5-GCA GGC AGA GTT TGA CAT CC-3, *reverse* (PPA.R): 5-ATG TTG AGG GCG GTG ACG TT-3 e *target ban* 344 pb.

A análise dos dados foi feita por meio do Pacote Estatístico para Ciências Sociais (*Statistical Package for the Social Sciences - SPSS*) 18.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, EUA). O teste de Mann-Whitney foi utilizado para analisar a diferença da mediana do ácido palmítico entre os grupos com diferentes graus de gravidade da acne vulgar. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

A tabela 1 mostra os dados demográficos e características básicas da população estudada. Foram incluídos 43 indivíduos, sendo que a maioria dos pacientes era do sexo masculino (76,7%) e adolescente ($15,77 \pm 0,84$ anos). Pode-se observar que 25 pacientes (58,1%) tinham história familiar positiva, enquanto 18 pacientes (41,9%) não tinham histórico da doença. Com relação aos hábitos alimentares, 7 pacientes (16,3%) consumiam leite, 3 pacientes (7,0%) consumiam chocolate, enquanto 31 pacientes (72,1%) consumiam alimentos gordurosos. Dois indivíduos (4,7%) consumiam alimentos ricos em açúcar. Quatorze (32,6%) indivíduos foram incluídos na categoria de *acne leve* e *moderada*, respectivamente, ao passo que 15 pacientes (34,9%) foram incluídos na categoria de *acne grave*. A mediana do nível de ácidos

TABELA 1: Características Básicas da População

Categoria	Frequência (n)	Porcentagem
Gênero		
Homens	33	76,7
Mulheres	10	23,3
Idade (média, DP)	15,77 ± 0,84 anos	
Histórico familiar		
Presente	25	58,1
Inexistente	18	41,9
Alimentação		
Leite	7	16,3
Chocolate	3	7,0
Alimentos gordurosos	31	72,1
Alimentos ricos em açúcar	2	4,7
Grau de Gravidade da Acne		
Leve	14	32,6
Médio	14	32,6
Grave	15	34,9
Nível de AGLs (ppm) (mediana, IIQ (Intervalo Interquartil))	24,358 (12,946-39,838)	
PCR para <i>P. acnes</i>		
Positivo (+)	5	11,6
Negativo (-)	38	88,4

graxos livres foi de 24.358 ppm e o resultado positivo do PCR para *P. acnes* foi obtido em 5 pacientes (11,6%), tendo sido negativo em 38 pacientes (88,4%).

A concentração de AGLs na acne *grave* (mediana = 30.400 ppm) foi significativamente maior do que no grau *leve* (mediana = 12.746 ppm) ($p < 0,05$). O nível verificado de ácidos graxos na acne *moderada* também se mostrou significativamente maior do que no grau *leve*. No entanto, não houve diferença significativa nos níveis de AGLs entre os pacientes com acne *moderada* e *grave* (Figura 1). Não houve diferença significativa entre o nível de AGLs em pacientes com PCR positivo e *P. acnes* negativo (Figura 2).

DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que o nível de AGLs influencia a gravidade da acne vulgar. Este resultado está em concordância com outro estudo que evidenciou o importante papel da *P. acnes* na patogênese da acne através da liberação da enzima lipase, que decompõe os triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos livres, os quais causam inflamação e dano tecidual.⁵ Adicionalmente, um artigo de revisão também mostrou que os produtos da peroxidação de ácidos graxos são capazes de induzir inflamação através da ativação de receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs), com PPAR α e PPAR γ atuando como as principais isoformas.¹²

Dados obtidos no presente estudo mostraram que quanto maiores os níveis de ácido palmítico na face, maior o grau de

gravidade da acne. Os níveis de ácido palmítico na pele facial de pacientes com acne *severa* e *moderada* mostraram-se significativamente maiores do que no grau *leve*. Katsuta et al. (2005) mostraram que a aplicação de AGLs em orelhas de coelhos e camundongos induz hiperqueratinização e hiperplasia epidérmica similares àquelas da formação de comedões.⁵ Além disso, suspeita-se que AGLs também afetem queratinócitos foliculares e estruturas da bicamada lipídica da epiderme, que podem por sua vez afetar a ocorrência de acne. Ainda que o estudo de Youn (2015) não tenha elaborado o conteúdo do sebo, foi demonstrado que uma maior quantidade de sebo foi encontrada na pele facial de pacientes com acne.¹³

Entretanto, um resultado interessante demonstrou em um recente ensaio clínico que a administração de limeciclina levou a um aumento nos níveis de AGLs.¹⁴ Contudo, a condição clínica antes e após o tratamento não foi estudada, não sendo possível concluir que houve correlação com uma melhora ou piora da doença. Uma possível explicação para essa diferença é a deficiência de ácido linoleico e de ácido α -linoleico em nossos pacientes, provocando compensação na forma de aumento dos níveis dos ácidos palmítico e oleico.¹⁵ Estudos sugeriram que a deficiência de ácido linoleico pode aumentar a PGE-2, um potente mediador inflamatório, comumente encontrado em pacientes com acne vulgar.¹⁶ Isso pode explicar o nível mais elevado de ácido palmítico em indivíduos com acne mais grave no presente estudo.

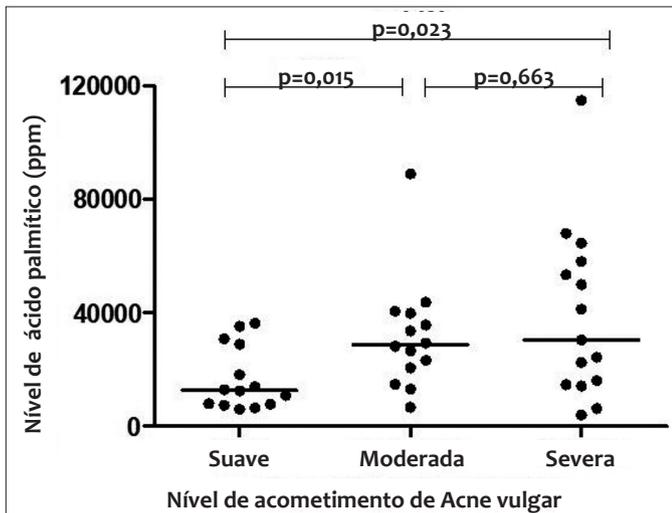


FIGURA 1: Comparação dos níveis de AGLs entre diferentes grupos de acne vulgar

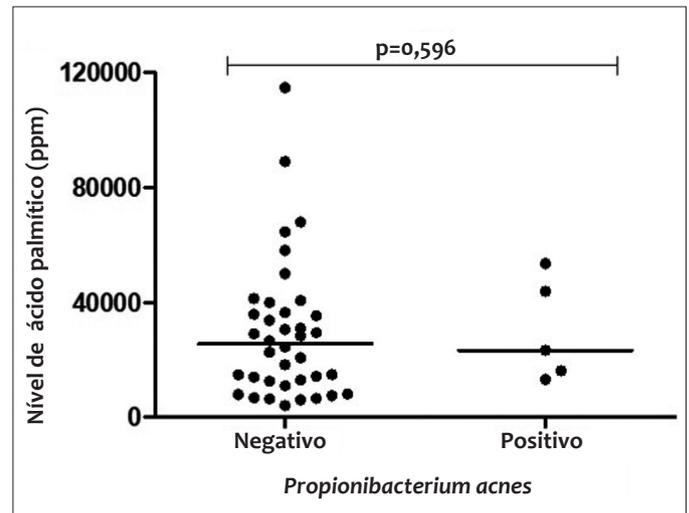


FIGURA 2: Associação entre os níveis de AGLs e *P. acnes*, identificados por PCR

Um resultado diferente também foi descrito por Pappas (2009), em que os níveis de AGLs em pacientes com acne foram baixos. Nesse estudo, o número de pacientes era limitado e os autores não explicaram quantos indivíduos e controles participaram da análise.⁷ Essa diferença pode ser causada pelo consumo nutricional, no qual a dieta com baixo índice glicêmico foi associada ao aumento dos níveis de AGLs e de incidência de acne.¹⁷

Dados do presente estudo mostraram que os níveis de AGLs em pacientes com resultados PCR-positivos para *P. acnes* não diferiram significativamente daqueles em pacientes com resultados PCR-negativos. Conclusões semelhantes foram obtidas por Akaza et al., onde, embora os níveis de AGLs tenham desempenhado algum papel na queratinização anormal e terem induzido à formação de comedões, as quantidades de pacientes portadores de *P. acnes* em pacientes com e sem acne não se mostrou significativamente diferente.¹⁸ Isto pode ser devido a outras bactérias comensais, como a *S. epidermidis*, que pode produzir lipase, que por sua vez causa a hidrólise do triglicerídeo do sebo e produz AGLs.⁶

Essas conclusões sugerem que há outros fatores, além dos níveis de AGLs, que podem afetar o crescimento da *P. acnes*.

O presente estudo corresponde a uma análise inicial, realizada para avaliar a prevalência da acne vulgar na população adolescente de uma área urbana e sua associação com o nível de AGL, dessa forma fornecendo uma base para futuros estudos nesse campo. Da mesma forma, os autores incluíram um número de participantes apenas suficiente para obter um resultado válido. No entanto, por ser um estudo preliminar, o presente estudo foi realizado em apenas uma população, implicando que a população estudada fosse homogênea.

CONCLUSÃO

O resultado do presente estudo mostra que os níveis de AGLs afetam o grau de acne vulgar e que o aumento do nível de AGLs pode ser associado à intensificação da gravidade da acne. Assim, os níveis de AGLs podem ser utilizados como um dos marcadores na determinação da gravidade da acne vulgar. ●

REFERÊNCIAS

1. Degitz K, Placzek M, Borelli C, Plewig G. Pathophysiology of acne. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007;5(4):316-23.
2. Mourelatos K, Eady EA, Cunliffe WJ, Clark SM, Cove JH. Temporal changes in sebum excretion and propionibacterial colonization in preadolescent children with and without acne. *Br J Dermatol.* 2007;156(1):22-31.
3. Bhate K, Williams HC. Epidemiology of acne vulgaris. *Br J Dermatol.* 2013;168(3):474-85.
4. Zaenglein AL, Pathy AL, Schlosser BJ, Alikhan A, Baldwin HE, Berson DS, et al. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(5):945-73.e33.
5. Katsuta Y, Iida T, Inomata S, Denda M. Unsaturated fatty acids induce calcium influx into keratinocytes and cause abnormal differentiation of epidermis. *J Invest Dermatol.* 2005;124(5):1008-13.
6. Nakatsuji T, Kao MC, Zhang L, Zouboulis CC, Gallo RL, Huang C-M. Sebum Free Fatty Acids Enhance the Innate Immune Defense of Human Sebocytes by Upregulating β -Defensin-2 Expression. *J Invest Dermatol.* 2010;130(4):985-94.
7. Pappas A. Epidermal surface lipids. *Dermatoendocrinol.* 2009;1(2):72-6.
8. Berg JM, JL T, L S. *Biochemistry New York: W H Freeman; 2002* [citado em 1 Jul 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22497/>.
9. Zhou BR, Zhang JA, Zhang Q, Permatasari F, Xu Y, Wu D, et al. Palmitic Acid Induces Production of Proinflammatory Cytokines Interleukin-6, Interleukin-1, and Tumor Necrosis Factor- via a NF-B-Dependent Mechanism in HaCaT Keratinocytes. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:530429.
10. Desbois AP. Potential applications of antimicrobial fatty acids in medicine, agriculture and other industries. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2012;7(2):111-22.
11. Lehmann HP, Robinson KA, Andrews JS, Holloway V, Goodman SN. Acne therapy: a methodologic review. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47(2):231-40.
12. Ottaviani M, Camera E, Picardo M. Lipid mediators in acne. *Mediators Inflamm.* 2010;2010.
13. Youn SW, Park ES, Lee DH, Huh CH, Park KC. Does facial sebum excretion really affect the development of acne? *Br J Dermatol.* 2005;153(5):919-24.
14. Costa A, Siqueira AT, Parra DCdO, Silva CP, de Souza ETW, Sabino de Matos L, et al. Evaluation of the Quantitative and Qualitative Alterations in the Fatty Acid Contents of the Sebum of Patients with Inflammatory Acne during Treatment with Systemic Lymecycline and/or Oral Fatty Acid Supplementation. *Dermatol Res Pract.* 2013;2013:120475.
15. Sardesai VM. The Essential Fatty Acids. *Nutr Clin Pract.* 1992;7(4):179-86.
16. Ziboh VA, Miller CC, Cho Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of antiinflammatory and antiproliferative metabolites. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1 Suppl):361s-6s.
17. Smith RN, Mann NJ, Braue A, Makelainen H, Varigos GA. A low-glycemic-load diet improves symptoms in acne vulgaris patients: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(1):107-15.
18. Akaza N, Akamatsu H, Numata S, Matsusue M, Mashima Y, Miyawaki M, et al. Fatty acid compositions of triglycerides and free fatty acids in sebum depend on amount of triglycerides, and do not differ in presence or absence of acne vulgaris. *J Dermatol.* 2014;41(12):1069-76

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Farida Tabri |  ORCID 0000-0003-4913-0909

Concepção e planejamento do estudo, aquisição de dados (laboratoriais ou clínicos), análise e/ou interpretação dos dados, elaboração e/ou revisão crítica do manuscrito, aprovação da versão final do manuscrito.

Anis Irawan Anwar |  ORCID 0000-0002-3124-4070

Concepção e planejamento do estudo, análise e/ou interpretação dos dados, elaboração e/ou revisão crítica do manuscrito, aprovação da versão final do manuscrito.

Nasrum Massi |  ORCID 0000-0002-3347-6529

Aquisição de dados (laboratoriais ou clínicos), análise e/ou interpretação dos dados, elaboração e/ou revisão crítica do manuscrito, aprovação da versão final do manuscrito.

Ilhamjaya Patellongi |  ORCID 0000-0003-0147-6345

Análise e/ou interpretação dos dados, elaboração e/ou revisão crítica do manuscrito, aprovação da versão final do manuscrito.

Rahmawati Anwar |  ORCID 0000-0002-3124-4070

Aquisição de dados (laboratoriais ou clínicos), aprovação da versão final do manuscrito.