

# Efeito de uma associação de nutrientes na papila dérmica folicular humana: estudo *in vitro*

*The effects of an association of nutrients on human follicular dermal papilla: an in vitro study*

DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201810311024>

## RESUMO

**Introdução:** O processo de envelhecimento cutâneo inclui um declínio funcional das estruturas do couro cabeludo, com atrofia progressiva da derme e das papilas dérmicas foliculares, essenciais à nutrição e metabolismo do folículo piloso. Esses fenômenos estão diretamente relacionados a pior qualidade da haste capilar.

**Objetivo:** Avaliar o impacto de uma associação de nutrientes na papila dérmica folicular influenciando a queratinogênese.

**Métodos:** Culturas celulares de papilas dérmicas humanas foram incubadas com uma associação de vitaminas A, C, D, E, as do complexo B, oligoelementos e aminoácidos constituintes da queratina durante 72 horas, em três concentrações distintas, contra uma cultura-controle, não tratada; foi então determinada a taxa da proliferação celular de fibroblastos da papila.

**Resultados:** As diferentes concentrações avaliadas promoveram aumento significativo da proliferação celular em relação ao grupo-controle, mas sem diferença significativa entre as concentrações estudadas.

**Conclusão:** A associação de nutrientes estudada foi capaz de atuar significativamente na proliferação das células da papila dérmica do folículo piloso humano, restabelecendo condições mais adequadas para a síntese da haste.

Esses achados demonstram um potencial relevante na estratégia de abordagem em alopecias de causas variadas, incluindo a alopecia relacionada ao envelhecimento (senescente).

**Palavras-Chave:** Alopecia; Derme; Envelhecimento; Nutrientes; Técnicas *in vitro*

## ABSTRACT

**Introduction:** The skin aging process includes a functional decline of the scalp's structures, with progressive atrophy of the dermis and follicular dermal papillae, which are crucial to the nutrition and metabolism of the hair follicle. These phenomena are directly related to a poor quality of the hair shaft.

**Objective:** To evaluate the influence of a combination of nutrients on the keratinogenesis in the follicular dermal papilla.

**Methods:** Cell cultures of human dermal papillae were incubated with a combination of A, C, D, E and B-complex vitamins, in addition to trace elements and keratin amino acids during 72 hours, in three different concentrations. These cultures were compared to an untreated control-culture. The papilla's fibroblasts cell proliferation rate was determined after 72 hours.

**Results:** The diverse concentrations evaluated promoted significant increase in cell proliferation as compared to the control group, however there was no significant difference between the concentrations studied.

**Conclusion:** The studied association of nutrients was capable to significantly act on the proliferation of cells in the human hair follicle's dermal papilla, restoring more favorable conditions for the synthesis of the hair shaft. These findings demonstrate the presence of a significant potential in the approach strategy various causes of alopecia, including alopecia related to aging (senescent).

**Keywords:** Alopecia; Aging; Dermis; In vitro techniques; Nutrients

## Artigo Original

### Autores:

Flávia Alvim Sant'Anna Addor<sup>1</sup>  
Camila Sirieiro Abreu Melo<sup>2</sup>  
Juliana Cotta Vieira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Medcin Pesquisa (Centro de Pesquisa Clínica - Grupo Medcin) - Osasco (SP), Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Pesquisa Clínica, Farmoquímica Melora (FQM Melora) - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

<sup>3</sup> Farmoquímica (FQM Melora) - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

### Correspondência:

Flávia Alvim Sant'Anna Addor  
Rua Atílio Delanina, 178  
06023-070, Campinas  
Osasco - SP, Brasil  
E-mail: [flavia@medcinonline.com.br](mailto:flavia@medcinonline.com.br)

Data de recebimento: 05/06/17

Data de aprovação: 02/09/2018

Trabalho realizado na MEDCIN Pesquisa - Osasco (SP), Brasil

**Suporte Financeiro:** O estudo recebeu amostras, teve sua execução custeada e monitoramento de qualidade pelo laboratório Farmoquímica Melora (FQM Melora).

**Conflito de Interesses:** Os autores afirmam não possuir interesses pessoais, comerciais, acadêmicos, políticos ou financeiros neste manuscrito.



## INTRODUÇÃO

Entre as causas mais comuns de perda capilar, os estudos do envelhecimento do folículo piloso vem-se ampliando, uma vez que, com a maior expectativa de vida, observa-se o aumento da incidência da chamada alopecia senescente, também citada como *aging hair*.<sup>1</sup>

Na alopecia senescente observa-se no couro cabeludo refeição difusa, agravada ou não pela alopecia androgenética; predominam fios afinados, alguns mais ásperos, espessos e de mais difícil penteabilidade; a canície é progressiva e agrava a sensibilidade dos fios.<sup>2,3</sup>

Há concomitante e progressiva atrofia da derme de suporte ao folículo piloso, com redução também progressiva dessa espessura, bem como prejuízo da microvasculatura adjacente, influenciando a papila dérmica folicular.<sup>4</sup>

Mais recentemente, a região da papila dérmica folicular tem recebido atenção na compreensão das diversas etiologias de perda de cabelo. As papilas dérmicas, que constituem uma projeção da derme superficial, são intensamente vascularizadas com o objetivo de ampliar a área de trocas com a epiderme. As papilas dérmicas foliculares, responsáveis pela nutrição do folículo piloso, são estruturas essenciais para suas integridade e função.

A porção dérmica do folículo piloso pode ser dividida em dois compartimentos: a papila dérmica e a bainha dérmica.<sup>5</sup>

A papila dérmica está localizada na base do folículo; a bainha dérmica, ou bainha do tecido conectivo, segue o epitélio do folículo do nível do bulbo; são separadas por uma membrana basal.

A papila dérmica folicular está, portanto, em estreito contato com o bulbo capilar, região de intensa atividade mitótica e metabólica, sendo assim responsável pela síntese da haste capilar.

Os fibroblastos da papila dérmica, localizados na base dos folículos pilosos, são conhecidos por induzir a regeneração do folículo piloso na fase anágena.<sup>6</sup>

Correlação entre tamanho do fio de cabelo e número de células da papila dérmica já foi constatada; esse fato é observável tanto na variação entre folículos de diferentes indivíduos, como em processos de declínio folicular, quando ocorre a telogenização progressiva em sucessivos ciclos do cabelo.<sup>7</sup>

A papila dérmica tem a capacidade de especificar a morfologia do cabelo e regular o reinício da fase de crescimento do ciclo capilar.<sup>8</sup>

Ao declínio da síntese dos elementos dérmicos, decorrente do envelhecimento do couro cabeludo, soma-se o declínio funcional folicular, com alterações da queratinogênese do fio de cabelo.

Com o avanço da idade, a ingestão e a absorção de nutrientes podem reduzir-se; nessas situações, que demandam economia energética e de nutrientes, eles serão priorizados para funções e órgãos vitais, piorando o processo degenerativo. Carências nutricionais de aminoácidos, vitaminas cofatores de processos metabólicos, como a C e a E, e oligoelementos, como ferro e zinco, portanto, pioram a clínica da alopecia senescente.<sup>9</sup>

A perda difusa de cabelos, conhecida como eflúvio telógeno, decorre de algum estímulo que altere o ciclo capilar,

provocando a aceleração da fase anágena para telógena (telogenização). Esse fenômeno modifica a proporção fisiológica de fios entre essas duas fases, levando a perdas significativas em intervalos de tempo relativamente curtos e causando grande aflição ao paciente.<sup>10</sup>

Entre as causas mais comuns do eflúvio telógeno, figuram as carências nutricionais, como a deficiência proteica, de ferro, zinco e biotina, que são elementos importantes na síntese da fibra capilar, assim como nas funções celulares dos queratinócitos.<sup>11,12</sup>

Na alopecia areata também há comprometimento da papila dérmica, ocorrendo aumento da expressão de Icam-1.<sup>13</sup>

Suplementos nutricionais que de alguma forma atuem na queratinogênese e nas células da papila dérmica podem ter efeito relevante na integridade do fio e sua síntese. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o impacto de uma nova associação de nutrientes na zona da papila dérmica.

## MATERIAL E MÉTODO

O produto de investigação é uma associação de micronutrientes e aminoácidos (Exímia Fortalize Kera D) composto das vitaminas A, C, D, E, as do complexo B (ácidos fólico e pantotênico, biotina, niacina, piridoxina e tiamina) e oligoelementos (ferro, magnésio e zinco), todos em concentrações compatíveis com a ingestão diária recomendada (IDR), além de um *pool* de aminoácidos essenciais: ácidos aspártico e glutâmico, serina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cistina, isoleucina, triptofano, leucina, fenilalanina, lisina e hidroxiprolina.

O produto foi previamente preparado para a avaliação em cultura de células de papila dérmica, em concentrações não citotóxicas.

As células de papila dérmica humanas (*ScienCell Research Laboratories, USA*) foram semeadas em garrafas de 75cm<sup>2</sup> (*Nunc<sup>®</sup>, Denmark*), cultivadas e expandidas em incubadora a 37°C em presença de 5% de CO<sub>2</sub>, utilizando-se meio de cultura específico. Ao atingir confluência, as células foram semeadas em placas de 96 poços (*Nunc<sup>®</sup>, Denmark*) para posterior avaliação da proliferação celular.

As culturas celulares de papila dérmica humanas foram incubadas durante 72 horas com as três concentrações não citotóxicas predeterminadas: 0,316mg/ml; 0,100mg/ml e 0,0316mg/ml. Em paralelo, uma cultura sem tratamento foi avaliada como controle. Após esse período foi determinada a taxa da proliferação celular, mensurada pelo ensaio de incorporação de BrDU no DNA da célula, utilizando *kit* adquirido comercialmente (*Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA, USA*).

O BrDU (bromodeoxiuridina) é nucleosídeo sintético análogo à timidina, usado para detecção de células em proliferação em tecidos vivos.<sup>14</sup>

A leitura da absorbância para avaliação das células em proliferação foi realizada por espectrofotometria (*Multiskan GO USA*).

### Avaliação estatística

Na avaliação estatística utilizou-se o teste Anova (GraphPad Prism v6) para comparar os dados entre os grupos. Em seguida foi aplicado o pós-teste Bonferroni, para confirmação do resultado apresentado no teste Anova. Foi utilizado o nível de significância de 5%.

### RESULTADOS

As diferentes concentrações avaliadas (0,316; 0,100 e 0,0361mg/ml) promoveram, respectivamente, aumentos de 39,7%, 30,9% e 36,3% na proliferação celular em relação ao grupo-controle. Não houve diferença significativa entre as concentrações estudadas para a taxa de proliferação celular, e todas foram superiores estatisticamente ao grupo-controle.

O gráfico 1 demonstra o efeito da associação de nutrientes do composto em estudo, na proliferação celular em cultura de células de papila dérmica folicular.

### DISCUSSÃO

A perda capilar figura entre as queixas mais frequentes no consultório dermatológico. Espera-se que cerca de 80% dos indivíduos do sexo masculino e 50% do sexo feminino tenham alguma queixa de perda de cabelos durante toda a vida.<sup>15</sup>

No processo de envelhecimento há tendência de perda das papilas dérmicas pelo achatamento da junção dermoepidérmica em todo o tegumento. Nas papilas dérmicas capilares, estruturas diferenciadas e intimamente relacionadas ao folículo piloso, também ocorre uma série de fenômenos. Embora o papel das papilas dérmicas foliculares no envelhecimento do cabelo ainda não esteja totalmente esclarecido, um estudo *in vitro* demonstrou que papilas dérmicas de folículos pilosos, induzidas experimentalmente ao processo de senescência, perdem a capacidade de induzir a neogênese do folículo piloso e a diferenciação epidérmica, além de suprimir o crescimento de células-tronco. Produzem também maiores níveis de citocinas inflamatórias que, além de

inibir o crescimento celular (particularmente a IL-6), bloqueiam a transição da fase telógena para a anágena, *in vivo*.<sup>16</sup>

Embora as células dérmicas pareçam resistentes ao estresse oxidativo, foi observado na alopecia androgenética que as células da papila dérmica das áreas de rarefação capilar (frontoparietais) têm maiores níveis de catalase e glutatona total, mas parecem ter menos capacidade de lidar com o estresse oxidativo, quando comparadas às células da papila dérmica da região occipital. Esses achados demonstram um papel do estresse oxidativo na patogênese da alopecia androgenética, sugerindo que as células da área calva são mais sensíveis ao estresse oxidativo ambiental do que as células de áreas não calvas.<sup>17</sup>

A proliferação das células da papila dérmica de maneira significativa demonstra que a associação de nutrientes contida no composto em estudo é capaz de estimular positivamente a proliferação dos fibroblastos da papila dérmica. É por meio da papila dérmica que o bulbo capilar recebe e absorve os nutrientes essenciais para o desenvolvimento do cabelo. Evidências sugerem que a papila dérmica e seus fibroblastos influenciam o crescimento folicular, especialmente a proliferação e diferenciação celular da matriz do folículo piloso.<sup>18</sup>

Na alopecia androgenética, também o alvo primário da ação dos andrógenos no folículo piloso é provavelmente a papila dérmica, e sua ligação se dá por receptores específicos.<sup>19</sup>

Um estudo transversal investigando a correlação da carença de vitamina D e alopecia areata demonstrou que os níveis séricos de vitamina D foram significativamente menores quando comparados ao grupo-controle. Os menores valores foram encontrados nos casos de alopecia areata total/universal em relação aos casos em placas e em offase.<sup>19</sup>

Outro estudo envolvendo 80 mulheres com eflúvio telógeno demonstrou níveis significativamente menores de vitamina D em relação ao grupo-controle, embora o exato mecanismo de ação ainda não esteja estabelecido.<sup>20</sup>

Com relação ao estresse oxidativo, similarmente ao restante da pele, o cabelo também é exposto a fatores ambientais. Radiação ultravioleta, tabagismo e aspectos nutricionais, reconhecidos como grandes fatores para o envelhecimento cutâneo extrínseco, também levam a igual impacto na integridade e funcionalidade dérmica e na função do folículo piloso, interferindo na síntese e diferenciação da queratina, bem como no ciclo capilar, acelerando o fenômeno de telogenização e a progressiva miniaturização do fio. Evidências experimentais suportam a hipótese de que o estresse oxidativo desempenha um papel no envelhecimento do cabelo.<sup>21</sup>

Esses fatores geram um estado chamado de microinflamação, termo proposto em função de haver inflamação leve, indolente, que não é destrutiva como a inflamação observada nas alopecias cicatriciais, mas que leva a dano lento e progressivo no folículo.<sup>22</sup>

A síntese da fibra capilar também depende de um aporte proteico adequado: a  $\alpha$ -queratina, que recebe essa denominação porque sua estrutura possui forma de  $\alpha$ -hélice, é configurada por pontes de enxofre. Embora a queratina seja composta pratica-

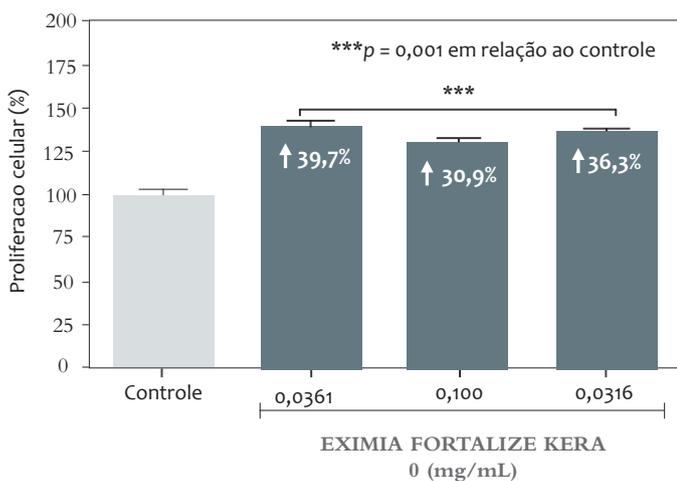


GRÁFICO 1: Aumento da taxa de proliferação celular: células da papila dérmica folicular humana

mente dos 21 aminoácidos que ocorrem na natureza, os aminoácidos sulfurados são os fundamentais à estrutura: a cistina, composta de duas moléculas de cisteína, e a metionina, aminoácidos com enxofre, são fundamentais na estrutura capilar; o equilíbrio da resistência e outras propriedades físicas do fio, como brilho, elasticidade, coloração estão relacionadas ao equilíbrio dos aminoácidos envolvidos.<sup>23</sup>

No presente estudo, a associação de nutrientes que estimulou a papila dérmica folicular foi capaz de:

- **estimular a queratinogênese**, a partir não somente da oferta de nutrientes, como os aminoácidos contidos na queratina (como a cistina e metionina), mas também a partir de elementos envolvidos no metabolismo do queratinócito (vitaminas do complexo B, incluindo a biotina, e oligoelementos como ferro, magnésio e zinco) e no estímulo provindo da proliferação das células da papila dérmica, essenciais à síntese da haste capilar, sugerindo, portanto, um múltiplo mecanismo.

- **regular a queratinogênese** (vitaminas A e D) e colagênese (vitamina C) com vitaminas que também auxiliam na inibição dos danos do estresse oxidativo.

Os receptores epidérmicos de vitamina D regulam a expressão de muitos genes relacionados ao ciclo capilar nos mamíferos.<sup>24</sup> Micronutrientes de ação antioxidante, como a vitamina C e E, e fatores que regulem a inflamação poderiam também atuar na prevenção e auxiliar a reduzir o dano degenerativo decorrente do processo inflamatório.<sup>24,25</sup>

## CONCLUSÃO

A associação de nutrientes encontrada na formulação em estudo foi capaz de atuar significativamente na proliferação da papila dérmica do folículo piloso humano, conferindo condições para a síntese da haste. O estímulo à papila dérmica observado, favorecendo a queratinogênese, possui potencial relevante na estratégia da abordagem em alopecias de causas variadas, como a alopecia androgenética, areata, senescente ou mesmo no eflúvio telógeno. ●

## REFERÊNCIAS

- Farage MA, Miller KW, Maibach HI. Textbook of aging skin. 1st ed. Springer: Berlin; 2010.
- Tobin DJ, Paus R. Graying: gerontobiology of the hair follicle pigmentary unit. *Exp Gerontol*. 2001;36(1):29-54.
- Trüeb RM. Aging of hair. *J Cosmet Dermatol*. 2005;4(2):60-72.
- Turner GA, Bhogal RK. Hair and Aging. *Skinmed*. 2016;14(5):338-343.
- Paus R, Cotsarelis G. The biology of hair follicles. *N Engl J Med*. 1999;341(7):491-7.
- Shen H, Cheng H, Chen H, Zhang J. Identification of key genes induced by platelet-rich plasma in human dermal papilla cells using bioinformatics methods. *Mol Med Rep*. 2017;15(1):81-88.
- Miranda BH, Tobin DJ, Sharpe DT, Randall VA. Intermediate hair follicles: a new more clinically relevant model for hair growth investigations. *Br J Dermatol*. 2010;163(2):287-295.
- Chi W, Eleanor Wu E, Morgan BA. Dermal papilla cell number specifies hair size, shape and cycling and its reduction causes follicular decline. *Development*. 2013;140(8):1676-83.
- Trueb RM, Ralph M. Age related general problems affecting conditions of hair. In Trueb RM, Tobin D, editors. *Aging Hair*. Berlin: Springer; 2010. p.141-166.
- Whiting DA. Disorders of hair. *ACP Medicine*. 2006;1-8.
- Pawlowski A, Wojciech P, Kostanecki W. [Effect of biotin on hair roots and sebum excretion in females with diffuse alopecia]. *Przegl Dermatol*. 1965;52(3):265-9.
- Grover C, Khurana A. Telogen effluvium. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013;79(5):591-603.
- Rivitti EA. Alopecia areata: a revision and update. *An Bras Dermatol*. 2005;80(1):57-68.
- Russo A, Gianni L, Kinsella TJ, Klecker RW, Jenkins J, Rowland J, et al. Pharmacological evaluation of intravenous delivery of 5-bromodeoxyuridine to patients with brain tumors. *Cancer Res*. 1984;44(4):1702-5.
- Piccardi N, Manissier P. Nutrition and nutritional Supplementation: Impact on skin health and beauty. *Dermatoendocrinol*. 2009;1(5):271-4.
- Huang WY, Huang YC, Huang KS, Chan CC, Chiu HY, Tsai RY, et al. Stress-induced premature senescence of dermal papilla cells compromises hair follicle epithelial-mesenchymal interaction. *J Dermatol Sci*. 2017;86(2):144-22.
- Upton JH, Hannen RF, Bahta, Farjo N, Farjo B, Philpott MP. Oxidative stress-associated senescence in dermal papilla cells of men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol*. 2015;135(5):1244-52.
- Mulinari-Brenner F, Seidel G, Hepp T. Understanding androgenetic alopecia. *Surg Cosmet Dermatol* 2011;3(4):329-37.
- Bakry OA, El Faragy SM, El Shafiee MK, Soliman A. Serum Vitamin D in patients with alopecia areata. *Indian Dermatology Online J*. 2016;7(5):371-7.
- Ramos PM, Miot HA. Female Pattern Hair Loss: a clinical and pathophysiological Review. *An Bras Dermatol*. 2015;90(4):529-43.
- Trüeb RM. Effect of ultraviolet radiation, smoking and nutrition on hair. *Curr Probl Dermatol*. 2015;47:107-20.
- Mahé YF, Michelet JF, Billoni N, Jarrousse F, Buan B, Commono S, et al. Androgenetic alopecia and microinflammation. *Int J Dermatol*. 2000;39(8):576-84.
- Goluch-Koniuszy ZS. Nutrition of women with hair loss problem during the period of menopause. *Prz Menopauzalny*. 2016;15(1):56-61.
- Haussler MR, Haussler CA, Whitfield GK, Hsieh JC, Thompson PD, Barthel TK, et al. The nuclear vitamin D receptor controls the expression of genes encoding factors which feed the "Fountain of Youth" to mediate healthful aging. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121(1-2):88-97.
- Addor FAS, Bombarda PCP, Bombarda Júnior MS, Abreu FF. Influence of nutritional supplementation in the treatment of telogen effluvium: clinical assessment and digital phototrichogram in 60 patients. *Surg Cosmet Dermatol*. 2014;6(2):131-6.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

**Flávia Alvim Sant'Anna Addor** |  ORCID 0000-0003-1851-7342

Execução do estudo, compilação e revisão dos dados, supervisão da avaliação estatística e confecção do relatório.

**Camila Sirieiro Abreu Melo** |  ORCID 0000-0002-8876-2389

Montagem do protocolo, validação estatística e confecção do relatório.

**Juliana Cotta Vieira** |  ORCID 0000-0002-6103-690X

Revisão e monitoramento das fichas, preparo das amostras e levantamento bibliográfico.